



**UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN
PEGAGAN (*Centella asiatica* (L.) Urb) TERHADAP
Porphyromonas gingivalis SECARA *IN VITRO***

**SKRIPSI
UNTUK MEMENUHI SYARAT MEMPEROLEH GELAR
SARJANA**

**OLEH :
KEZIA TIFANI DEPARI**

175160100111025

PROGRAM STUDI SARJANA KEDOKTERAN GIGI

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2021

HALAMAN PENGESAHAN

SKRIPSI

**UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN
PEGAGAN (*Centella asiatica (L.) Urb*) TERHADAP
Porphyromonas gingivalis SECARA *IN VITRO***

Oleh:

KEZIA TIFANI DEPARI

175160100111025

**TELAH DIUJI DI DEPAN MAJELIS PENGUJI SKRIPSI
PADA (TANGGAL, BULAN, TAHUN)**

**DAN DINYATAKAN MEMENUHI SYARAT MEMPEROLEH
GELAR SARJANA DALAM BIDANG KEDOKTERAN GIGI**

MENYETUJUI,

Pembimbing/Penguji III



drg. Malianawati Fauzia, Sp. Perio

NIK: 2016078807232001

Dosen Penguji I



drg. Viranda Sutanti, M.Si

NIP. 198408272018032001

Dosen Penguji II



drg. Khusnul Munika, Sp. Perio

NIP. 198303302018032001

Malang, Januari 2021

Mengetahui,

**Ketua Program Studi Pendidikan Sarjana Kedokteran Gigi
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya**

drg. Citra Insany Irgananda, M.Med.Ed

NIP.198606232015042001

HALAMAN PERSETUJUAN

SKRIPSI

UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN

PEGAGAN (*Centella asiatica* (L.) Urb) TERHADAP

***Porphyromonas gingivalis* SECARA IN VITRO**

Oleh:

KEZIA TIFANI DEPARI

175160100111025

Menyetujui untuk diuji :

Pembimbing I



drg. Malianawati Fauzia, Sp. Perio

NIK: 2016078807232001

iii



PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam naskah skripsi ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu perguruan tinggi, dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata di dalam naskah disertasi ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur plagiasi, saya bersedia skripsi ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh SARJANA dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku (UU No. 20 Tahun 2003, Pasal 25 ayat 2 dan Pasal 70).

Malang, 26 Januari 2021

Yang menyatakan,

Kezia Tifani Depari
175160100111025



ABSTRAK

Kezia Tifani Depari, 175160100111025, Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Brawijaya Malang, 26 Januari 2021, “Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) terhadap *Porphyromonas gingivalis* Secara *In Vitro*”, Pembimbing: drg. Malianawati Fauzia, Sp. Perio

Latar Belakang: *Porphyromonas gingivalis* merupakan salah satu bakteri gram-negatif anaerob yang berperan pada terjadinya periodontitis kronis dengan cara menghasilkan sejumlah faktor virulensi dan protease ekstraseluler yang dapat mengakibatkan penghancuran jaringan periodontal. Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) dipercaya dapat menyembuhkan berbagai jenis penyakit karena mempunyai komponen bioaktif yang berguna bagi tubuh yang salah satu fungsinya sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas antibakteri dari daun pegagan terhadap *Porphyromonas gingivalis*. **Metode :** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris *in vitro*. Ekstrak daun pegagan yang digunakan pada penelitian ini dilarutkan dengan *aquadest*. Beberapa konsentrasi larutan ekstrak daun pegagan yang digunakan pada penelitian ini adalah 25%, 22,5%, 20%, 17,5%, 15% dan 12,5%. Kontrol negatif pada penelitian ini merupakan *aquadest* steril dan kontrol positifnya adalah Metronidazole 10mg/ml. Setiap kelompok diberi perlakuan untuk diuji terhadap *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 dengan metode serial dilusi tabung dan *spreading* pada cawan petri. Data dianalisis dengan pendekatan statistik Uji Kruskal Wallis dan Korelasi Sperman. **Hasil penelitian :** Terdapat perbedaan yang signifikan ($p \leq 0.05$) pada pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* antar kelompok yang diberikan ekstrak daun pegagan, dengan kontrol negatif yaitu Peningkatan konsentrasi ekstrak daun pegagan diikuti penurunan pertumbuhan bakteri yang signifikan ($p \leq 0.05$) dan Kosentrasi Bunuh Minimal (KBM) ekstrak daun pegagan adalah 20%. **Kesimpulan :** Pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* menurun secara signifikan setelah pemberian ekstrak daun pegagan.

Keywords: Daun Pegagan, Antibakteri, *Porphyromonas gingivalis*



ABSTRACT

Kezia Tifani Depari, 175160100111025. Bachelor of Dentistry Study Program, Faculty of Dentistry, Brawijaya University, Malang, 26 January 2021, “Antibacterial Effectiveness Test of on Gotu kola leaf (*Centella asiatica* (L). Urb) *Porphyromonas gingivalis* in *In Vitro*”, Supervisor: drg. Malianawati Fauzia, Sp. Perio

Background : *Porphyromonas gingivalis* is a gram-negative anaerobic bacteria that plays a role in chronic periodontitis by producing a number of virulence factors and extracellular proteases that can cause periodontal tissue destruction. Gotu kola leaf (*Centella asiatica* (L). Urb) is believed to cure various types of diseases because they have bioactive components that are useful for the body, one of which functions as antibacterial. This research aims to know the antibacterial effectiveness of Gotu kola leaf against *Porphyromonas gingivalis*. **Methods:** This research was in vitro laboratory experimental research. Gotu kola leaf extract that used in this study was dissolved with aquadest. The concentrations of gotu kola leaf extract solution that used in this study were 25%, 22,5%, 20%, 17,5%, 15% dan 12,5%. The negative control in this study was sterile aquadest and the positive control was Metronidazole 10mg / ml. Each group was examined in *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 with the serial method of tube dilution and spreading on a petri dish. The data was analyzed using the statistical approach Kruskal Wallis Test and Sperman Correlation Test. **Results:** There was a significant difference ($p \leq 0.05$) in the growth of *Porphyromonas gingivalis* between groups given gotu kola leaf extract, with negative control, namely aquadest. The increase in the concentration of gotu kola leaf extract was followed by a significant decrease in bacterial growth ($p \leq 0.05$) and the minimum kill concentration (KBM) of gotu kola leaf extract was 20%. **Conclusion:** The growth of *Porphyromonas gingivalis* bacteria decreased significantly after administrated by gotu kola leaf extract.

Keywords: Gotu kola leaf, Antibacterial, *Porphyromonas gingivalis*

**DAFTAR ISI**

| | |
|--------------------------------------|------------|
| HALAMAN SAMBUTAN | i |
| HALAMAN PERSETUJUAN | ii |
| HALAMAN PENGESAHAN | iii |
| PERNYATAAN ORISINALITAS | iv |
| ABSTRAK | v |
| ABSTRACT | vi |
| KATA PENGANTAR | vii |
| DAFTAR ISI | ix |
| DAFTAR GAMBAR | xiv |
| DAFTAR TABEL | xv |
| DAFTAR SINGKATAN | xvi |
| BAB 1 PENDAHULUAN | |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 3 |
| 1.3 Tujuan Penelitian..... | 3 |
| 1.3.1 Tujuan Umum..... | 4 |
| 1.3.2 Tujuan Khusus..... | 4 |
| 1.4 Manfaat Penelitian..... | 4 |
| 1.4.1Manfaat Akademis..... | 4 |
| 1.4.2Manfaat Praktis..... | 4 |
| BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA | |
| 2.1 Porphyromonas gingivalis | 5 |



| | |
|---|----|
| 2.1.1 Taksonomi Bakteri..... | 5 |
| 2.1.2 Morfologi dan Sifat pertumbuhan..... | 6 |
| 2.1.3 Faktor Virulensi Porphyromonas gingivalis..... | 6 |
| 2.1.4 Korelasi Porphyromonas gingivalis dengan Periodontitis Kronis..... | 8 |
| 2.2 Periodontitis Kronis..... | 9 |
| 2.2.1 Definisi..... | 9 |
| 2.2.2 Etiologi..... | 10 |
| 2.2.3 Patogenesis..... | 10 |
| 2.2.3 Penatalaksanaan..... | 12 |
| 2.3 Daun Pegagan..... | 12 |
| 2.3.1 Taksonomi Daun Pegagan (Centella asiatica (L.) Urb)..... | 12 |
| 2.3.2 Morfologi dan Karakteristik..... | 13 |
| 2.3.3 Kandungan Daun Pegagan..... | 14 |
| 2.3.4 Komponen Antibakteri Daun Pegagan..... | 16 |
| 2.3.4.1 Flavonoid..... | 17 |
| 2.3.4.2 Tanin..... | 18 |
| 2.3.4.3 Saponin..... | 19 |
| 2.4 Uji Kepekaan Antibakteri..... | 19 |
| 2.4.1 Metode Difusi..... | 19 |
| 2.4.2 Metode Dilusi..... | 20 |
| 2.5 Ekstraksi..... | 21 |
| 2.5.1 Definisi Ekstraksi..... | 21 |



| | |
|---|----|
| 2.5.2 Macam-macam Metode Ekstraksi..... | 22 |
| 2.6 Metronidazole..... | 23 |

BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

| | |
|-------------------------------------|----|
| 3.1 Kerangka Konsep Penelitian..... | 25 |
| 3.2 Hipotesis Penelitian..... | 26 |

BAB 4 METODE PENELITIAN

| | |
|--|----|
| 4.1 Rancangan Penelitian..... | 27 |
| 4.2 Populasi dan Sampel Penelitian..... | 27 |
| 4.3 Variabel Penelitian..... | 28 |
| 4.3.1 Variabel Bebas..... | 28 |
| 4.3.2 Variabel Terikat..... | 28 |
| 4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian..... | 28 |
| 4.4.1 Lokasi Penelitian..... | 28 |
| 4.4.2 Waktu Penelitian..... | 28 |
| 4.5 Alat dan Bahan Penelitian..... | 28 |
| 4.5.1 Alat dan Bahan Pembuatan Ekstrak Daun Pegagan..... | 28 |
| 4.5.2 Alat dan Bahan untuk Larutan Kontrol Positif..... | 28 |
| 4.5.3 Alat dan Bahan untuk Pembuatan Biakan Bakteri..... | 28 |
| 4.5.4 Alat dan Bahan Tes Oksidase..... | 29 |
| 4.5.5 Alat dan Bahan Identifikasi Bakteri dengan Pewarnaan Gram..... | 29 |
| 4.5.6 Alat dan Bahan untuk Tes Katalase..... | 29 |
| 4.5.7 Alat dan Bahan untuk Tes Agar Mac Conkey..... | 29 |



4.5.8 Alat dan Bahan untuk Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pegagan terhadap *Porphyromonas gingivalis* dengan Metode Dilusi Tabung 29

4.6 Definisi Operasional..... 30

4.7 Prosedur Penelitian..... 30

4.7.1 Pembuatan Ekstrak Daun Pegagan..... 30

4.7.1.1 Pembuatan Simplisia Daun Pegagan..... 30

4.7.1.2 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Pegagan Menggunakan Teknik Maserasi..... 31

4.7.1.3 Pengenceran Ekstrak Daun Pegagan 31

4.7.2 Pembuatan Larutan Kontrol Positif..... 32

4.7.3 Identifikasi Bakteri..... 32

4.7.3.1 Pewarnaan Gram..... 32

4.7.3.2 Tes Oksidase..... 33

4.7.3.3 Tes Katalase..... 33

4.7.3.4 Uji Agar Mac Conkey 34

4.7.4 Pembiakan Bakteri 34

4.7.4.1 Pembuatan Nutrient Agar 34

4.7.4.2 Pembuatan Nutrient Broth 35

4.7.4.3 Kultur Bakteri 35

4.7.5 Pembuatan Suspensi *Porphyromonas gingivalis* 36

4.7.6 Pembagian Kelompok Perlakuan untuk Penelitian Pendahuluan..... 37

4.7.7 Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* secara in vitro 38



4.8 Alur Penelitian..... 39

4.8 Analisis Data 40

BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil Ekstrak Daun Pegagan 41

5.2 Hasil Uji Pendahuluan..... 41

5.3 Hasil Penelitian..... 42

5.4 Analisis Data 43

5.4.1 Hasil Uji Normalitas Data dan Homogenitas

Varian 43

5.4.2 Hasil Uji Kruskal Wallis 45

5.4.3 Hasil Uji Post Hoc (Mann Whitney) 46

5.4.4 Hasil Uji Korelasi Spearman 47

5.5 Pembahasan 47

BAB 6 PENUTUP

6.1 Kesimpulan 50

6.2 Saran 50

DAFTAR PUSTAKA 51

LAMPIRAN..... 63

Lampiran 1. Surat Keterangan Analisis Kualitatif 63

Lampiran 2. Surat Keterangan Analisis Kuantitatif 65

Lampiran 3. Surat Keterangan Determinasi Tanaman 68

Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian 70

Lampiran 5. Hasil Analisis Data 75



DAFTAR GAMBAR

| | |
|---|----|
| Gambar 2.1 <i>Porphyromonas gingivalis</i> dalam media blood agar | 5 |
| Gambar 2.2 Periodontitis Kronis | 9 |
| Gambar 2.3 Daun pegagan (<i>Centella asiatica</i> (L.) Urb) | 13 |
| Gambar 3.1 Kerangka Konsep | 25 |
| Gambar 4.1 Skema alur penelitian | 39 |
| Gambar 5.1 Ekstrak Daun Pegagan | 41 |
| Gambar 5.2 Hasil Uji Pendahuluan | 42 |
| Gambar 5.3 Hasil Streaking Media TSA | 42 |



DAFTAR TABEL

| | |
|--|----|
| Tabel 2.1 Faktor virulensi dan efektor inang diproduksi oleh <i>Porphyromonas gingivalis</i> | 7 |
| Tabel 2.2 Persentase Makronutrien Daun Pegagan (<i>Centella asiatica</i> (L). Urb) | 16 |
| Tabel 2.3 Kadar Vitamin Daun Pegagan (<i>Centella asiatica</i> (L). Urb) (mg/100g) | 16 |
| Tabel 5.1 Hasil Perhitungan Menggunakan Colony Counter | 43 |
| Tabel 5.1 Hasil Normalitas Shapiro-Wilk | 44 |
| Tabel 5.3 Hasil Homogenitas Levene | 44 |
| Tabel 5.4 Hasil Uji Kruskal Wallis | 45 |
| Tabel 5.5 Hasil Uji Post Hoc (Mann Whitney) | 46 |
| Tabel 5.6 Hasil Uji Korelasi Spearman | 47 |

DAFTAR SINGKATAN DAN ISTILAH

BHI-B : *Brain Heart Infusion Broth*

C. asiatica : (*Centella asiatica* (L.) Urb)

DNA : *Deoxyribonucleic Acid*

KBM : *Konsentrasi Bunuh Minimum*

LPS : *Lipopolysaccharide*

NA : *Nutrient Agar*

NB : *Nutrient Broth*

OI : *Original inoculum*

PMN : *Polimorfonuclear*

SRP : *Scaling and root planing*

TLRs : *Toll-like Reseptor*

TSA : *Trypticase Soy Agar*



BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Penyakit periodontal lazim terjadi di negara maju dan berkembang serta mempengaruhi sekitar 20-50% populasi global serta terdapat prevalensi tinggi penyakit periodontal pada remaja, dewasa, dan lansia menjadikannya sebagai masalah kesehatan masyarakat (Nazir, 2017). Di Indonesia, penyakit periodontal mempunyai prevalensi cukup tinggi. Dari hasil laporan Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT), prevalensi penyakit periodontal mencapai 60% pada masyarakat di Indonesia (Pratiwi, *et al.*,2015). Penyakit periodontal yang sering dijumpai adalah gingivitis dan periodontitis. Prevalensi untuk jaringan periodontal sehat sebesar 4,79% atau 34.614 orang sedangkan jaringan tidak sehat sebesar 95,21% atau 687.715 orang (Mawaddah dan Arbianti, 2017)

Penyakit periodontal tergolong dalam jenis penyakit inflamasi kronis yang disebabkan oleh bakteri yang menyerang jaringan penyangga gigi (Mawaddah dan Arbianti, 2017). Jaringan penyangga gigi terdiri dari gingiva,ligamen periodontal, sementum dan tulang alveolar (Pratiwi, *et al.*,2015).

Periodontitis adalah peradangan pada jaringan pendukung gigi yang disebabkan oleh mikroorganisme dan dapat menyebabkan kerusakan yang progresif pada ligamen periodontal, tulang alveolar dan disertai dengan pembentukan poket (Quamilla,2016). Periodontitis kronis adalah penyakit periodontal yang paling umum terjadi dan banyak dialami oleh orang dewasa, tetapi bisa juga terjadi pada anak-anak. Oleh karena itu, rentang usia lebih dari 35 tahun yang sebelumnya telah ditunjuk untuk klasifikasi penyakit ini telah dihilangkan (Carranza *et al.*,2015).

Penyebab utama periodontitis kronis adalah kolonisasi bakteri pada plak. Bakteri yang berperan pada periodontitis kronis adalah bakteri gram-negatif anaerob



seperti *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens*, *Prevotella intermedia*, dan *Prevotella nigrescens* yang terdapat pada plak subgingiva (Alibasyah *et al.*, 2016). Banyak penelitian telah menunjukkan bahwa *Porphyromonas gingivalis* adalah agen etiologi utama yang berkontribusi terhadap terjadinya periodontitis kronis (How, *et al.*, 2016).

Porphyromonas gingivalis adalah bakteri oportunistik patogen yang dapat berkolonisasi dengan baik sehingga memiliki kemampuan untuk menginvasi sel epitel gingiva, fibroblas ligamen periodontal, osteoblas dan sel kekebalan (Andrade *et al.*, 2019). *Porphyromonas gingivalis* adalah bakteri anaerob gram-negatif yang menghasilkan sejumlah faktor virulensi dan protease ekstraseluler, seperti *lipopolysaccharide*, *fimbria* dan *gingipain* yang memungkinkannya melekat pada jaringan dan menahan sistem imun inang lalu mengakibatkan penghancuran jaringan periodontal (Xu *et al.*, 2017).

Perawatan periodontitis kronis bertujuan untuk menghilangkan plak sebagai tempat akumulasi bakteri yang dapat dilakukan dengan terapi mekanis, terapi penunjang serta bedah. Terapi inisial yang dilakukan berupa terapi mekanis yaitu *scaling and root planing* (SRP), serta diikuti dengan pemeliharaan *oral hygiene*. Selanjutnya akan dilakukan terapi penunjang berupa pemberian obat kumur dan antibiotik. Terapi bedah dilakukan apabila kedalaman poket masih tidak berkurang setelah dilakukannya *scaling and root planing* (SRP) (Alibasyah *et al.*, 2016).

Antibiotik yang umum digunakan untuk perawatan penyakit periodontal salah satunya adalah metronidazole (Paliling *et al.*, 2016). Metronidazole efektif terhadap bakteri anaerob dan bersifat bakterisidal (Tani *et al.*, 2017). Selain itu, metronidazole dapat mengurangi kedalaman poket, menginduksi peningkatan perlekatan, mengurangi perdarahan saat probing, dan menekan spirochetes dalam biofilm subgingiva (Walters dan Chuang Lai, 2015).



Namun, metronidazole memiliki efek samping , seperti mual, sakit kepala serta keram perut, muntah, diare dan pusing. Efek samping yang paling serius dapat mengganggu sistem saraf (Hari *et al.*,2013).

Alternatif bahan antibakteri yang dapat digunakan sebagai terapi periodontitis adalah bahan herbal. Salah satu tanaman yang dapat digunakan adalah Daun Pegagan (*Centella asiatica (L. Urb)*). Tanaman ini sering ditemui di tempat-tempat terbuka dan lembab seperti tegalan, area persawahan, bahkan tepi tembok atau pagar. Daun Pegagan (*Centella asiatica (L. Urb)*) dipercaya dapat menyembuhkan berbagai jenis penyakit karena mempunyai komponen bioaktif yang berguna bagi tubuh. Komponen bioaktif yang terdapat dalam pegagan mempunyai fungsi bagi kesehatan salah satunya sebagai antibakteri. Komponen bioaktif pegagan yang memiliki sifat antibakteri adalah flavonoid, tanin dan saponin (Agfadila *et al.*,2017) .

Penelitian terdahulu yang telah dilakukan oleh Dash *et al* (2011) menunjukkan bahwa ekstrak pegagan dapat menghambat bakteri *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* (Agfadila *et al.*,2017). Ekstrak daun dan akar *Centella asiatica (L. Urb)* terbukti efektif sebagai agen antibakteri dan antijamur terhadap patogen. Akar ekstrak etanol *Centella asiatica (L. Urb)* lebih efektif sebagai antijamur daripada ekstrak etanol daun *Centella asiatica (L. Urb)*. Khasiat ekstrak daun *Centella asiatica (L. Urb)* sebagai anti bakteri jauh lebih baik daripada akar ekstrak etanol *Centella asiatica (L. Urb)* dan telah terbukti pada bakteri *Staphylococcus aureus* (Nasution *et al.*,2018). Sampai saat ini penelitian mengenai uji efektivitas antibakteri ekstrak daun pegagan *Centella asiatica (L. Urb)* sebagai antibakteri terhadap *Porphyromonas gingivalis* secara *in vitro* belum pernah diteliti, sehingga perlu adanya penelitian eksperimental ini.

1.2. Rumusan Masalah



Apakah ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) efektif sebagai antibakteri terhadap *Porphyromonas gingivalis* secara *in vitro* ?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Mengetahui efektivitas antibakteri ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) terhadap *Porphyromonas gingivalis* secara *in vitro*.

1.3.2. Tujuan Khusus

- a. Menentukan nilai Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) terhadap *Porphyromonas gingivalis*
- b. Mengetahui hubungan antara ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*

1.4. Manfaat

1.4.1. Manfaat Akademis

- a. Memperkaya pengetahuan dalam bidang kedokteran gigi terkait potensi ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) sebagai antibakteri untuk tindakan kuratif terhadap manifestasi penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Porphyromonas gingivalis*.
- b. Hasil penelitian ini diharapkan dapat dimanfaatkan sebagai dasar bagi penelitian selanjutnya dalam pengembangan obat antibakteri yang efektif, alaminya dan ekonomis dari bahan daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb).

1.4.2. Manfaat Praktis

Memberikan informasi kepada masyarakat tentang manfaat daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) sebagai antibakteri khususnya *Porphyromonas gingivalis*.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

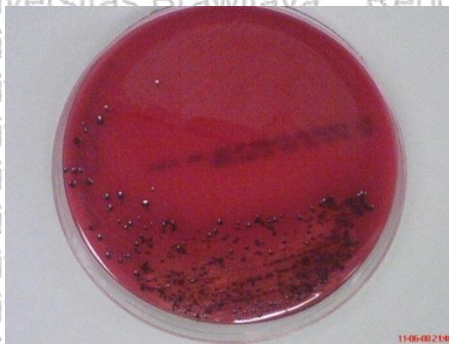
2.1. *Porphyromonas gingivalis*

Porphyromonas gingivalis menjadi salah satu agen etiologi utama dalam patogenesis dan perkembangan peradangan pada penyakit periodontal. Pada 85,75% sampel plak subgingiva dari pasien dengan periodontitis kronis ditemukan bakteri periodontopatik ini (How *et al.*, 2016).

2.1.1. Taksonomi Bakteri

Kingdom : Bacteria
Phylum : Bacteroidetes
Class : Bacteroidetes
Order : Bacteroidales
Family : Porphyromonadaceae
Genus : *Porphyromonas*
Species : *Porphyromonas gingivalis*
(Rodriguez, 2017)

Gambar 2.1. *Porphyromonas gingivalis* dalam media blood agar



Sumber: How *et al.*,2016

2.1.2.Morfologi dan Sifat Pertumbuhan

Porphyromonas gingivalis adalah bakteri gram negatif, non-motil, anaerob dan berbentuk *coccobacilli* yang terlibat sebagai patogen utama pada penyakit periodontal khususnya periodontitis kronis. *Porphyromonas gingivalis* tumbuh sebagai koloni berpigmen hitam pada agar darah (Nakayama,2015). Dalam media kultur *Porphyromonas gingivalis* akan tumbuh membentuk koloni berdiameter 1-2 mm, konveks, halus dan mengkilat yang bagian tengahnya menunjukkan gambaran lebih gelap karena produksi protoheme, yaitu suatu substansi yang bertanggung jawab terhadap warna khas koloni ini (Kusumawardani *et al.*,2010).

Selain membutuhkan kondisi anaerob untuk pertumbuhannya, *Porphyromonas gingivalis* juga memerlukan adanya heme atau hemin serta vitamin K dalam lingkungan untuk memenuhi nutrisinya. Bakteri ini memperoleh energi metaboliknya dengan memfermentasi asam-asam amino, sehingga *Porphyromonas gingivalis* dapat menjaga kelangsungan hidupnya di dalam soket periodontal yang dalam, di mana gula sangat langka. Ketika *Porphyromonas gingivalis* tumbuh dalam media yang jumlah hemenya terbatas maka kapasitasnya untuk



bertindak sebagai patogen oportunistik menjadi kurang kuat (Bostanci dan Belibasakis, 2012).

2.1.3. Faktor Virulensi *Porphyromonas gingivalis*

Faktor virulensi dapat didefinisikan sebagai konstituen atau metabolit dari suatu organisme yang penting dalam berbagai tahap siklus hidup dan menyebabkan kerusakan pada host (How *et al.*, 2016). Induksi dan perkembangan kerusakan jaringan periodontal adalah proses kompleks yang melibatkan akumulasi plak, pelepasan zat bakteri dan respons inflamasi pejamu. *Porphyromonas gingivalis* diketahui menghasilkan kumpulan faktor virulensi yang dapat menembus gingiva dan menyebabkan kerusakan jaringan secara langsung atau tidak langsung dengan induksi peradangan (Hajishengallis *et al.*, 2012).

Porphyromonas gingivalis dapat menghasilkan berbagai faktor virulensi, seperti *lipopolysaccharide* (LPS), *gingipain*, *fimbriae* / pili, *collagenase*, lektin (*erythrocyte*), kapsul, protease dan *superoxide dismutase* untuk menghindari sistem pertahanan kekebalan inang dan menghancurkan jaringan pertahanan host. Studi terbaru telah mengkonfirmasi bahwa LPS, *gingipain* dan *fimbriae* / pili adalah zat patogen paling penting dari *Porphyromonas gingivalis* yang paling banyak dipelajari pada kasus periodontitis dan masing-masing faktor ini memainkan peran penting dalam perkembangan periodontitis (Mysak *et al.*, 2014).

Tabel 2.1. Faktor virulensi dan efektor inang diproduksi oleh *Porphyromonas gingivalis*

| Faktor virulensi | Efek pada penghindaran host |
|---|--|
| Enzim (<i>hyaluronidase</i> , <i>chondroitin sulfatase</i>), kapsul | Mengurangi fagositosis untuk invasi, penghambat kemotaksis |



| | |
|---|---|
| <i>Lipopolysaccharide (LPS)</i> | Resorpsi tulang, protease imunoglobulin |
| <i>Fimbriae, exopolysaccharide,</i> protein membran luar | Adhesi atau perlekatan ke membran luar <i>host</i> |
| <i>Collagenase, trypsin,</i> <i>gelatinase</i> | Degradasi <i>plasma protease inhibitors</i> , penghancuran jaringan periodontal |
| <i>Aminopeptidase</i> | Degradasi protein pengangkut zat besi |

Sumber : How *et al.*,2016

Eksresi faktor virulensi sering diatur sebagai respons terhadap perubahan lingkungan eksternal periodontopatogen. Jika aktif dalam inang yang rentan, faktor virulensi ini dapat mengakibatkan penghancuran jaringan periodontal yang cepat dan signifikan, resorpsi tulang, induksi respons inang oleh produksi sitokin, serta penghambatan mekanisme pelindung inang (How *et al.*,2016).

2.1.4. Korelasi *Porphyromonas gingivalis* dengan Periodontitis Kronis

Periodontitis mengacu pada kerusakan patologis inflamasi pada gusi dan jaringan pendukung periodontal, termasuk gusi, tulang alveolar, ligamen periodontal, dan sementum. Periodontitis yang tidak diobati dapat menyebabkan pembentukan poket periodontal yang dalam, yang pada akhirnya menyebabkan kegoyangan gigi (Jia *et al.*, 2019). Faktor yang memprakarsai periodontitis adalah plak biofilm, di mana *Porphyromonas gingivalis* yang merupakan komponen "kompleks merah" (dikategorikan bersama dengan *Tannerella forsythia*

dan *Treponema denticola* sangat berhubungan dengan periodontitis) tidak dapat disangkal lagi terbukti menjadi patogen utama yang mendasari patogenesis periodontitis kronis (Parahitiyawa *et al.*, 2010).

Lebih lanjut, respon inflamasi dan imun pejamu terhadap komunitas mikroba mengubah lingkungan subgingiva, menyebabkan patogen oportunistik utama yang berlimpah seperti *Porphyromonas gingivalis* menjadi bakteri dominan dalam biofilm, sehingga memecah homeostasis antara mikroorganisme simbiotik dan inang serta mendorong perkembangan periodontitis bahkan memicu penyakit sistemik (Abdi *et al.*, 2017). Sebagai contoh, percobaan hewan telah digunakan untuk menunjukkan bahwa *Porphyromonas gingivalis* juga dapat menjajah beberapa organ yang jauh, seperti arteri koroner, plasenta, hati dan bahkan di otak yang menyebabkan infeksi spesifik yang terkait dengan aktivasi Toll-like Reseptor (TLRs) yang berperan dalam sistem imun (Olsen dan Yilmaz, 2016 ; Huck *et al.*, 2018).

2.2. Periodontitis Kronis

2.2.1. Definisi

Periodontitis kronis adalah suatu peradangan pada jaringan pendukung disekitar gigi yang disebabkan oleh faktor lokal seperti plak dan kalkulus serta disebabkan oleh mikroorganisme yang nantinya menghasilkan kerusakan yang progresif pada ligamen periodontal dan tulang alveolar. Jika periodontitis tidak segera dilakukan perawatan dapat menyebabkan resesi gingiva, kehilangan perlekatan gingiva, kerusakan tulang yang parah dan mengarah pada kehilangan gigi (Newman *et al.*, 2015).

Gambar 2.2. Periodontitis Kronis



Sumber : Reddy, 2011

2.2.2. Etiologi

Periodontitis kronis berkaitan dengan faktor risiko biologis yang umum, seperti tekanan darah tinggi, kolesterol darah tinggi, diabetes, faktor genetik dan obesitas dan faktor risiko perilaku misalnya, pola makan yang tidak sehat, aktivitas fisik dan rokok. Selain faktor tersebut interaksi kompleks antara bakteri dan mekanisme pertahanan inang secara signifikan mempengaruhi keseimbangan antara agresi bakteri dan perlindungan inang (Hajishengallis *et al.*, 2012).

Sejumlah bukti eksperimental telah menunjukkan bahwa agen etiologi primer penyakit periodontal umumnya bakteri berbentuk batang Gram-negatif yang meliputi *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia* (sebelumnya disebut *Bacteroides forsythus*), *Prevotella*, *Fusobacterium*, dan *Porphyromonas gingivalis* (How *et al.*, 2016). Di antara patogen periodontal utama, *Porphyromonas gingivalis* tampaknya menjadi salah satu agen etiologi utama dalam patogenesis dan perkembangan peristiwa inflamasi penyakit periodontal (Hajishengallis *et al.*, 2012).



2.2.3. Patogenesis

Terbentuknya plak dan kalkulus biasanya menjadi awal terjadinya periodontitis kronis, dimana bakteri hidup dan saling berinteraksi. Dari bakteri yang diyakini bersifat patogen pada penyakit periodontal, *Porphyromonas gingivalis* telah dipelajari secara luas karena kemampuannya yang unik untuk menghindari respon imun. *P. gingivalis* dianggap sebagai faktor etiologi utama pada penyakit periodontal dengan menghasilkan sejumlah faktor virulensi dan protease sehingga mengakibatkan penghancuran jaringan periodontal. Berbagai komponen permukaan *Porphyromonas gingivalis* memungkinkan bakteri untuk berinteraksi dengan media eksternal dan menyederhanakan pertumbuhan, perolehan nutrisi, kolonisasi, dan pembentukan biofilm yang melindunginya terhadap pertahanan inang (Rafiei *et al.*, 2017).

Produk yang dihasilkan bakteri plak tersebut menginfeksi jaringan melalui sulkus gingiva dan menyebabkan terjadinya kontak antar bakteri dengan berbagai sel hospes seperti makrofag dan monosit. Kemudian kondisi tersebut berkembang menjadi periodontitis dengan gejala seperti terbentuknya poket periodontal, rusaknya serabut periodontal yang menyebabkan hilangnya perlekatan antara gigi dengan jaringan periodontal, serta dalam kondisi yang parah dapat menyebabkan kehilangan tulang (Newman *et al.*, 2015).

Secara histologispatologis perkembangan gingivitis dan periodontitis dapat dibagi menjadi serangkaian tahapan: *Initial*, *early*, *established* dan *advanced*. Tahap *Initial* dimulai 2-4 hari setelah akumulasi plak mikroba. Selama lesi awal, vaskulitis eksudatif akut di pleksus venula lateral ke epitel junctional, migrasi sel polimorfonuklear (PMN)



melalui epitel junctional ke sulkus gingiva, co-eksudasi cairan dari sulkus dan hilangnya kolagen perivaskular diamati. Tahap *early* berkembang dalam 4-10 hari. Lesi ini ditandai oleh infiltrat padat limfosit T dan sel mononuklear lainnya, serta oleh perubahan patologis dari fibroblas (Carrillo et al.,2019).

Selanjutnya, lesi *established* yang terbentuk berkembang dalam 2-3 minggu. Lesi ini didominasi oleh sel B teraktivasi (sel plasma) dan disertai dengan hilangnya lebih lanjut dari matriks jaringan ikat gingiva marginal, tetapi belum ada kehilangan tulang yang terdeteksi. Beberapa PMN terus bermigrasi melalui *junctional epithelium* dan poket gingiva secara bertahap dibentuk (Carrillo et al.,2019).

Akhirnya, pada lesi *advanced* sel plasma terus mendominasi karena susunan jaringan gingiva terganggu, bersama dengan kerusakan tulang alveolar dan ligamen periodontal. Hal ini ditandai dengan konversi *junctional epithelium* ke *pocket epithelium*, pembentukan infiltrat inflamasi yang lebih padat yang terdiri dari sel plasma dan makrofag, hilangnya perlekatan kolagen ke permukaan akar, dan resorpsi tulang alveolar (Carrillo et al.,2019).

2.2.4. Penatalaksanaan

Perawatan periodontitis kronis bertujuan untuk menghilangkan plak sebagai tempat akumulasi bakteri yang dapat dilakukan dengan terapi mekanis, terapi penunjang serta bedah. Terapi inisial yang dilakukan berupa terapi mekanis yaitu *scaling and root planing*, serta diikuti dengan pemeliharaan *oral hygiene*. Selanjutnya akan dilakukan terapi penunjang berupa pemberian obat kumur dan antibiotik. Terapi bedah dilakukan apabila

kedalaman poket masih tidak berkurang setelah dilakukannya *scaling and root planing* (Alibasyah, *et al.*,2016).

2.3. Daun Pegagan

2.3.1. Taksonomi Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb)

Tanaman pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) memiliki nama lain *Hydrocotyle asiatica* L. Pes. Berdasarkan klasifikasi taksonomi, pegagan termasuk ke dalam :

| | |
|-------------|---|
| Kingdom | : Plantae |
| Division | : Spermatophyta |
| Subdivision | : Angiospermae |
| Class | : Dicotyledonae |
| Order | : Umbellales |
| Family | : Umbelliferae (Apiaceae) |
| Genus | : <i>Centella</i> |
| Species | : (<i>Centella asiatica</i> (L.) Urb) atau <i>Hydrocotyle asiatica</i> Linn (Sutardi , 2015) |

Gambar 2.3. Daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb)





(Sumber: Sutardi , 2015)

2.3.2.Morfologi dan Karakteristik

Daun pegagan (*Centella asiatica (L.) Urb*) merupakan tanaman kosmopolit, memiliki penyebaran yang luas, terutama didaerah tropis atau subtropis. Pegagan termasuk tanaman liar yang tumbuh menjalar diatas tanah. Tumbuhan yang memiliki nama lain (*Centella asiatica (L.) Urb*) sering dijumpai ditempat terbuka, tanah yang lembab dan subur seperti di pematang sawah, di padang rumput, di pinggir parit dan dipinggir jalan (Azzahra dan Hayati,2018). Tanaman pegagan dapat tumbuh mulai dari dataran rendah sampai dataran tinggi dengan ketinggian 2500 m dpl. Penanaman pegagan di dataran tinggi memberikan kandungan bioaktif (asiatikosida) yang lebih tinggi dibanding di dataran rendah (Hartoyo,2016)

Pegagan berbentuk herba tahunan yang aromatik. Batangnya sangat pendek dari batang tumbuh geragih atau stolon yang melata di permukaan tanah dengan panjang 10-50 cm. Daun tunggal, tersusun dalam bentuk roset yang terdiri dari 2-10 lembaran daun, kadang-kadang agak berambut. Tangkai daun panjangnya sampai 40 cm. Selain daun berbentuk ginjal, lebar dan bundar dengan garis tengah sampai 10 cm, pinggir daun beringgit dan bergerigi. Pangkal dari tangkai daun melekok ke dalam dan melebar seperti pelepah. Tulang daun menjari dan akar bercabang Bunga berbentuk payung tunggal. biasanya tersusun dari 3 bunga Tangkai bunga panjangnya 5-50 mm, lebih pendek dari tangkai daun. Daun pelindung berjumlah 2 dan panjangnya 3-4 mm berbentuk telur (Mora dan Fernando, 2012).

Pegagan memiliki nama berbeda-beda, bergantung pada daerahnya. Di Jakarta dan Aceh namanya pegagan, di Jawa Barat disebut antanan,



masyarakat Sumatera menyebutnya kaki kuda, dan masyarakat Madura menamainya tikusan dan masyarakat Bali menyebutnya taiduh. Masih banyak lagi nama lokal pegagan, seperti kori-kori (Halmahera), gagan-gagan atau panigowang (Jawa), pegago (Minangkabau), dogauke atau sandanan atau gogauke (Papua), kalotidi manora (Maluku), dan bebile (Lombok) (Sutardi, 2016).

2.3.3. Kandungan Daun Pegagan

Daun pegagan dipercaya dapat menyembuhkan berbagai jenis penyakit karena mempunyai komponen bioaktif yang berguna bagi tubuh. Komponen bioaktif yang terdapat dalam pegagan mempunyai fungsi bagi kesehatan salah satunya sebagai antibakteri. Komponen bioaktif daun pegagan yang memiliki sifat antibakteri adalah flavonoid, tanin dan saponin. Penghambatan ekstrak pegagan terhadap bakteri telah dilakukan oleh Dash *et al* (2011) yang menunjukkan bahwa ekstrak daun pegagan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* (Agfadila *et al.*, 2017).

Daun pegagan juga mengandung minyak atsiri (1%), pektin (17.25%), asam amino, kalsium, magnesium, fosfor, seng, tembaga, betakaroten, serta vitamin B1, B2, B3, dan C. Kandungan kimiawi lainnya ialah tankunisida, isotankunisida, madekasosida, asam brahmik, asam madasiatik, meso-inositol, sentelosa, karotenoid, garam-garam mineral seperti kalium, natrium, magnesium, kalsium dan besi, vellarine dan zat samak yang bermanfaat untuk menjaga kesehatan tubuh. Tanaman pegagan juga mengandung asiaticosida berupa glikosida dan banyak digunakan dalam ramuan obat tradisional atau jamu (Sutardi, 2016).

Makronutrien yang ditemukan dalam *C. asiatica* terutama adalah protein, karbohidrat, dan



serat. Menurut tiga penelitian yang dilakukan pada dekade sebelumnya, kandungan nutrisi menunjukkan nilai yang relatif dekat tetapi dalam beberapa kasus, variasi besar juga terlihat (Das, 2011; Hashim, 2011; Joshi & Chaturvedi, 2013). Isi makronutrien dari *C. asiatica* dirangkum dalam tabel dibawah. Secara umum, tumbuhan ini rendah protein (2,4%), karbohidrat (6,7%), dan lemak (0,2%). Selain itu, telah dilaporkan juga mengandung sekitar 87,7 % *moisture*, serat makanan tidak larut 5,4% dan serat makanan larut 0,49%, dan 17,0 mg / 100 g fosfor, 14,9 mg / 100 g besi, dan 107,8 mg natrium mg / 100 g sodium. Nilai-nilai ini sangat bervariasi tergantung pada metode analitik dan faktor biotik dan abiotik (Chandrika dan Kumara, 2015).

Tabel 2.2. Persentase Makronutrien Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L). Urb)

| Protein | Karbohidrat | Serat | Moisture | Fat | Study |
|---------|-------------|-------|----------|-----|-----------------------------|
| - | 6,7 | 1,6 | 87,7 | 0,2 | Hashim (2011) |
| 2,4 | - | 5,92 | 84,6 | - | Joshi and Chaturvedi (2013) |
| 9,94 | 51,92 | 18,33 | 84,37 | - | Das (2011) |

Sumber: Chandrika dan Kumara, 2015

Tabel 2.3. Kadar Vitamin Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L). Urb) (mg/100g)

| Vitamin A | Vitamin B1 | Vitamin B2 | Vitamin B3 | Vitamin C | Beta-Carotene | Study |
|-----------|------------|------------|------------|-----------|---------------|---------------|
| 0,44 | 0,09 | 0,19 | 0,1 | 48,5 | - | Hashim (2011) |



| | | | | | | |
|---|------|---|---|------|-----|-----------------------------------|
| - | 0,04 | - | - | 11 | 3,9 | Joshi and Chaturvedi (2013) |
| - | - | - | - | 9,73 | 1 | Das (2011) |

Sumber: Chandrika dan Kumara, 2015

2.3.4. Komponen Antibakteri Daun Pegagan

Menurut James (2009) komponen ekstrak pegagan yang memiliki sifat antibakteri adalah flavonoid, tanin dan saponin (Agfadila *et al.*, 2017). Hal ini juga terbukti oleh hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak pegagan mempunyai aktivitas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil penetapan kandungan kimia dapat terlihat bahwa alkaloid dan kuinon baik simplisia maupun ekstrak tidak terdeteksi sedangkan untuk flavonoid, saponin dan tanin terdeteksi (Sutrisno *et al.*, 2014).

2.3.4.1. Flavonoid

Flavonoid adalah metabolit sekunder dari polifenol, ditemukan secara luas pada tanaman serta makanan dan memiliki berbagai efek bioaktif termasuk anti virus, anti-inflamasi (Qinghu Wang dkk, 2016), kardioprotektif, anti-diabetes, anti kanker, (M.M. Marzouk, 2016) anti penuaan, antioksidan dan lain-lain (Vanessa dkk, 2014). Hal ini dikarenakan kemampuan dalam metilasi flavonoid yang dapat meningkatkan peranan flavonoid dalam bidang obat-obatan. Metilasi dari flavonoid melalui kelompok hidroksil bebasnya atau



atom C yang dapat meningkatkan stabilitas metaboliknya dan meningkatkan transportasi membran yang terjadi dalam tubuh (Arifin dan Ibrahim, 2018)

Mekanisme flavonoid sebagai antibakteri yaitu dengan cara menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel, dan menghambat metabolisme energi (Pendit *et al.*, 2016). Mekanisme kerja flavonoid dalam menghambat sintesis asam nukleat dilakukan melalui cincin B pada flavonoid yang mempunyai peranan penting dalam proses interkalasi atau ikatan hidrogen dengan menumpuk basa asam nukleat yang menghambat sintesis DNA dan RNA.

Flavonoid menghambat fungsi membran sel bakteri melalui ikatan kompleks dengan protein ekstraseluler yang bersifat larut sehingga dapat mengganggu integritas membran sel bakteri. Selain itu, penghambatan metabolisme energi bakteri oleh flavonoid dilakukan dengan cara menghambat proses respirasi bakteri sehingga adanya energi yang dihambat akan berpengaruh terhadap aktivitas penyerapan metabolit dan biosintesis makromolekul bakteri (Rahman *et al.*, 2017).

2.3.4.2. Tanin

Tanin dapat didefinisikan sebagai senyawa polifenol dengan berat molekul yang sangat besar yaitu lebih dari 1000 g/mol serta dapat membentuk senyawa kompleks dengan protein. Struktur senyawa tanin terdiri dari cincin benzena (C₆) yang berikatan dengan gugus hidroksil (-OH).



Tanin memiliki peranan biologis yang besar karena fungsinya sebagai pengendap protein dan penghelat logam. Tanin merupakan golongan senyawa aktif tumbuhan yang bersifat fenol, mempunyai rasa sepat dan memiliki aktivitas antibakteri (Noer *et al.*, 2018).

Mekanisme senyawa tanin sebagai antibakteri yaitu dengan mengerutkan dinding sel atau membran sel, sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri (Pendit *et al.*, 2016). Selain itu, senyawa ini memiliki kemampuan untuk membentuk senyawa kompleks dengan protein melalui ikatan hidrogen yang nantinya jika terbentuk akan menyebabkan denaturasi sehingga terganggunya metabolisme bakteri (Turnip *et al.*, 2015).

2.3.4.1. Saponin

Saponin merupakan metabolit sekunder dan merupakan kelompok glikosida triterpenoid atau steroid aglikon, terdiri dari satu atau lebih gugus gula yang berikatan dengan aglikon atau sapogenin, dapat membentuk kristal berwarna kuning dan amorf, serta berbau menyengat (Illing *et al.*, 2017)

Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar. Menurut Cavalieri *et al.* (2005), senyawa ini berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan, lalu mengikat membran sitoplasma dan mengganggu dan



mengurangi kestabilan itu. Hal ini menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel. Agen antimikroba yang mengganggu membran sitoplasma bersifat bakterisida (Ngajow *et al.*,2013).

2.4. Uji Kepekaan Antibakteri

2.4.1. Metode Difusi

Uji sensitivitas dengan metode difusi *agar plate* dapat dilakukan dengan cara menggunakan teknik sumuran atau bisa juga Kirby Bauer dengan teknik *disc diffusion* (*cakram disk*). Jika dibandingkan dengan teknik sumuran, teknik kerja dari metode Kirby Bauer cukup sederhana dimana teknik *disc diffusion* akan lebih mudah dikerjakan, akan tetapi uji sensitivitas menggunakan teknik *disc diffusion* memiliki harga disk antibiotik yang relatif mahal, sehingga teknik sumuran menjadi lebih efisien untuk digunakan.

Metode difusi *agar* (*disc diffusion*) atau (tes Kirby-Bauer) merupakan cara pengujian kepekaan antibiotik dengan meletakkan agen antimikroba pada media yang telah ditanami oleh mikroorganisme. Agen antimikroba tersebut akan berdifusi pada media yang ditumbuhi oleh bakteri (Perdana dan Setyawati,2016). Sedangkan uji sensitivitas dengan teknik sumuran dilakukan dengan cara membuat suatu lubang atau sumuran pada media *agar plate* sehingga antibiotik dapat dimasukkan (Khusuma *et al.*,2019).

Nantinya akan terbentuk zona jernih pada lapisan *agar* yang diakibatkan oleh karena senyawa antimikroba berdifusi ke dalam lapisan *agar* dan menghambat pertumbuhan mikroorganisme (bakteri) dan disebut sebagai zona hambat, sedangkan lapisan *agar* yang ditumbuhi mikroorganisme akan tampak

keruh. Senyawa antimikroba bekerja dengan cara berinteraksi dengan dinding sel bakteri sehingga mengakibatkan gangguan permeabilitas pada dinding sel bakteri dan memudahkan komponen antimikroba untuk bisa berdifusi ke dalam sel bakteri (Perdana dan Setyawati,2016).

2.4.2. Metode Dilusi

Metode dilusi terdiri dari dua teknik pengerjaan, yaitu teknik dilusi perbenihan cair dan teknik dilusi agar yang bertujuan untuk penentuan aktivitas antimikroba secara kuantitatif, antimikroba dilarutkan kedalam media agar atau kaldu, yang kemudian dia ditanami bakteri yang akan dites. Setelah diinkubasi semalam, konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri disebut dengan MIC (*minimal inhibitory concentration*).

Dilusi perbenihan cair terdiri dari makrodilusi dan mikrodilusi. Pada prinsipnya pengerjaannya sama hanya berbeda dalam volume. Untuk makrodilusi volume yang digunakan lebih dari 1 ml sedangkan mikrodilusi 0,1 ml. Antimikroba yang digunakan disediakan pada berbagai macam pengenceran biasanya dalam satuan Hg/ml, konsentrasi bervariasi tergantung jenis dan sifat antibiotik. Sedangkan pada teknik dilusi agar, antibiotik sesuai dengan pengenceran akan ditambahkan ke dalam agar, sehingga akan memerlukan perbenihan agar sesuai jumlah pengenceran ditambah satu perbenihan agar untuk kontrol tanpa penambahan antibiotik, konsentrasi terendah antibiotik yang mampu menghambat pertumbuhan antibiotik yang diuji (Soleha, 2015).

2.5. Ekstraksi



2.5.1. Definisi Ekstraksi

Ekstraksi secara umum merupakan suatu proses pemisahan zat aktif dari suatu padatan maupun cairan dengan menggunakan bantuan pelarut. Pemilihan pelarut diperlukan dalam proses ekstraksi, karena pelarut yang digunakan harus dapat memisahkan atau mengekstrak substansi yang diinginkan tanpa melarutkan zat-zat lainnya yang tidak diinginkan. Proses yang terjadi didalam ekstraksi padat-cair (*leaching*) ini biasanya disebut dengan difusi (Prayudo *et al.*, 2015).

Prinsip ekstraksi padat-cair adalah adanya kemampuan senyawa dalam suatu matriks yang kompleks dari suatu padatan, yang dapat larut oleh suatu pelarut tertentu. Beberapa hal yang harus diperhatikan untuk tercapainya kondisi optimum ekstraksi antara lain: senyawa dapat terlarut dalam pelarut dengan waktu yang singkat, pelarut harus selektif melarutkan senyawa yang dikehendaki, senyawa analit memiliki konsentrasi yang tinggi untuk memudahkan ekstraksi, serta tersedia metode memisahkan kembali senyawa analit dari pelarut pengekstraksi (Masúd dan Puspitasari., 2017).

2.5.2. Macam-macam Metode Ekstraksi

Ekstraksi padat cair secara umum terdiri dari maserasi, refluktasi, sokhletasi, dan perkolasi. Metode yang digunakan tergantung dengan jenis senyawa yang ingin kita cari. Jika senyawa yang ingin dicari rentan terhadap pemanasan maka metode maserasi dan perkolasi yang kita pilih, jika tahan terhadap pemanasan maka metoda refluktasi dan sokhletasi yang digunakan (Febrina *et al.*, 2015). Jenis-jenis metode ekstraksi yang dapat digunakan adalah sebagai berikut (Tetty, 2014) :

1. Maserasi



Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industri. Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman.

2. Perkolasi

Pada metode perkolasi, serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya). Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah. Kelebihan dari metode ini adalah sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru.

3. Reflux dan Destilasi Uap

Pada metode reflux, sampel dimasukkan bersama pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap terkondensasi dan kembali ke dalam labu. Destilasi uap memiliki proses yang sama dan biasanya digunakan untuk mengekstraksi minyak esensial (campuran berbagai senyawa menguap). Selama pemanasan, uap terkondensasi dan destilat (terpisah sebagai 2 bagian yang tidak saling bercampur) ditampung dalam wadah yang terhubung dengan kondensor.

4. Soxhletasi

Metode ini dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel dalam sarung

selulosa (dapat digunakan kertas saring) dalam klonsong yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam labu dan suhu penangas diatur di bawah suhu reflux.

2.6. Metronidazole

Metronidazole adalah salah satu antibiotik yang sering digunakan dalam perawatan penyakit periodontitis kronis dengan sifatnya yang efektif terhadap bakteri anaerob dan bersifat antibakterisid. Mekanisme metronidazole dalam membunuh bakteri dengan cara masuk ke dalam mikroorganisme tersebut dan bereduksi menjadi produk polar yang menghasilkan 2-hydroxymethyl metronidazole yang akan berikatan dengan DNA bakteri serta mengganggu struktur heliksnya, kemudian menghambat sintesis asam nukleatnya dan mengakibatkan kematian sel bakteri (Tani *et al.*, 2017).

Metronidazol adalah senyawa dengan berat molekul rendah yang berdifusi melintasi membran sel mikroorganisme anaerob sebagai *prodrug* dan diaktifkan dalam sitoplasma bakteri atau organel-organel tertentu dalam protozoa. Metronidazole berpenetrasi dengan baik ke dalam berbagai jaringan dan cairan tubuh, cairan semen, air liur, dan air susu ibu. Konsentrasi terapeutik juga tercapai di dalam cairan serebrospinal. Metronidazole didistribusikan secara luas di seluruh tubuh dan setelah dosis oral, dapat dideteksi dalam saliva dan cairan sulkus gingiva (Regina, 2016).

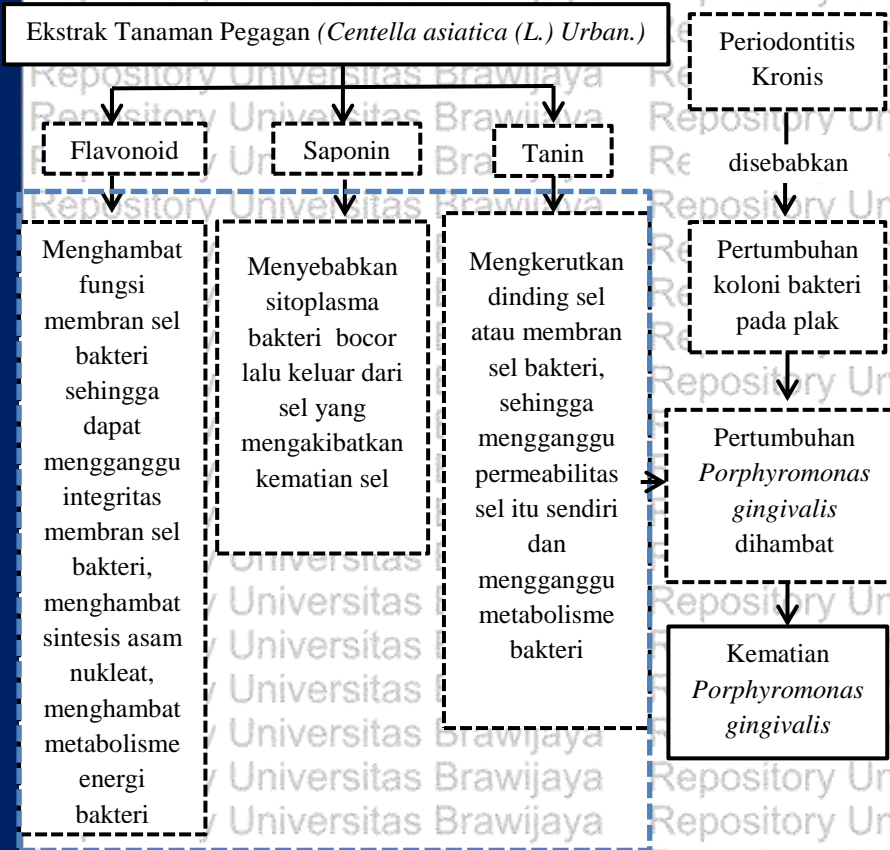
Pada terapi periodontitis kronis, metronidazole dapat mengurangi kedalaman poket, menginduksi peningkatan perlekatan, mengurangi perdarahan saat probing dan menekan spirochetes dalam biofilm subgingiva. Efek toksik langsung dari metronidazole jarang terjadi, tetapi berpotensi menyebabkan mual, muntah, diare, dan nyeri perut pada sebagian kecil pasien (Walters dan Chuang Lai, 2015).



BAB III

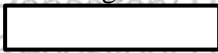
KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

Keterangan :



Penelitian yang dilakukan



Penelitian yang tidak dilakukan

Periodontitis kronis disebabkan karena pertumbuhan bakteri pada plak yang mengakibatkan destruksi pada jaringan periodontal. Ekstrak daun pegagan mempunyai komponen bioaktif yang berfungsi bagi kesehatan salah satunya sebagai antibakteri. Komponen bioaktif daun pegagan yang memiliki sifat antibakteri adalah flavonoid, tanin dan saponin.

Peran flavonoid sebagai antibakteri yaitu dengan cara menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel, dan menghambat metabolisme energi. Selain itu, senyawa ini akan menghambat fungsi membran sel bakteri melalui ikatan kompleks dengan protein ekstraseluler yang bersifat larut sehingga dapat mengganggu integritas membran sel bakteri. Saponin akan berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan, lalu mengikat membran sitoplasma sehingga mengganggu dan mengurangi kestabilan membran tersebut lalu sitoplasma bocor dan keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel. Mekanisme senyawa tanin sebagai antibakteri yaitu dengan mengkerutkan dinding sel atau membran sel, sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri dan senyawa ini memiliki kemampuan untuk membentuk senyawa kompleks yang akan menyebabkan denaturasi sehingga terganggunya metabolisme bakteri.

Melalui penjelasan diatas, maka ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica (L). Urb*) memungkinkan dapat menghambat pertumbuhan kemudian menyebabkan kematian *Porphyromonas gingivalis* sehingga berpotensi sebagai antibakteri.

3.2 Hipotesis Penelitian

Ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica (L). Urb*) efektif sebagai antibakteri terhadap *Porphyromonas gingivalis* secara in vitro.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik *in vitro* dengan desain penelitian *true experimental post control design only* yaitu penelitian dengan memberikan perlakuan pada suatu kelompok dan menggunakan kelompok pembanding yang tidak diberikan perlakuan kemudian dilakukan post-test pada kedua kelompok. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode dilusi tabung untuk mengetahui efektivitas ekstrak daun pegagan sebagai antibakteri terhadap *Porphyromonas gingivalis* dengan menentukan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).

4.2. Populasi dan Sampel Penelitian

Sampel ekstrak daun pegagan yang digunakan pada penelitian ini didapatkan dari Materia medika kota Batu. Sampel bakteri *Porphyromonas gingivalis* yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi *Research Center* Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga. Jumlah pengulangan sampel dihitung berdasarkan rumus *Federer* (1977) (Wahyuningrum dan Probosari, 2012), yaitu :

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

t : jumlah perlakuan yang dilakukan

n : jumlah pengulangan tiap perlakuan

karena jumlah perlakuan (t) adalah 7, maka :

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

$$(n-1)(7-1) \geq 15$$

$$(n-1)(6) \geq 15$$

$$6n-6 \geq 15$$

$$6n \geq 21$$

$$n \geq 3,5$$

Maka, penelitian ini dibutuhkan 4 kali jumlah pengulangan sampel.



4.3. Variabel Penelitian

4.3.1. Variabel Bebas

Ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica (L). Urb*)

4.3.2. Variabel Terikat

Bakteri *Porphyromonas gingivalis*.

4.4. Lokasi dan Waktu Penelitian

4.4.1. Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi
Research Center FKG UNAIR

4.4.2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober-November

4.5. Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1. Alat dan Bahan untuk Pembuatan Ekstrak Daun Pegagan

Ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica (L). Urb*) akan dibuat dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% karena dapat menarik senyawa organik dan tidak toksik.

Alat : Timbangan analitik, blender, gelas ukur, botol gelap, tabung *Ernmeyer*, inkubator, *rotavapor*, kertas saring *Wathman*, kipas angin.

Bahan : Daun pegagan sebanyak 5000 gram, etanol 70% sebanyak 7 liter.

4.5.2. Alat dan Bahan untuk Larutan Kontrol Positif

Alat : Timbangan, mortal, alu, gelas ukur

Bahan : Tablet metronidazole 500 mg, aquades 50 ml

4.5.3. Alat dan Bahan untuk Pembuatan Biakan Bakteri

Alat : *Ose*, pipet, tabung reaksi, *anaerobic jar*, rak dan inkubator



Bahan : Isolat bakteri *Porphyromonas gingivalis*, aquades dan Brain Heart Infusion Broth (BHI-B)

4.5.4. Alat dan Bahan untuk Tes Oksidase

Alat : *Ose* dan *Oksidase Test Strip*.

Bahan : Isolat bakteri *Porphyromonas gingivalis*

4.5.5. Alat dan Bahan untuk Identifikasi Bakteri dengan Pewarnaan Gram

Alat : Gelas objek, *Ose*, Bunsen, Kertas penghisap, Mikroskop, Tabung reaksi

Bahan : Isolat bakteri *Porphyromonas gingivalis*, Pewarnaan gram (Kristal violet, lugol, alkohol 70%, safranin) dan *aquadest* steril

4.5.6. Alat dan Bahan untuk Tes Katalase

Alat : *Ose*, objek glass

Bahan : Isolat bakteri *Porphyromonas gingivalis*, H₂O₂ 3%

4.5.7. Alat dan Bahan untuk Tes Agar Mac Conkey

Alat : Inkubator, Media *Mac Conkey agar*, *Anaerobic jar*, *Ose*

Bahan : Isolat bakteri *Porphyromonas gingivalis*

4.5.8. Alat dan Bahan untuk Uji Efektivitas Antibakteri

Ekstrak Daun Pegagan terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* dengan Metode Dilusi

Tabung

Alat : *Ose*, rak tabung reaksi, inkubator, mikropipet, tabung reaksi, spidol, kertas label, bunsen, vorteks, *colony counter*, BHI-A, BHI-B, spektrofotometer, *handscoon* dan masker



Bahan : Isolat bakteri *Porphyromonas gingivalis*,
Metronidazole 500 mg , aquades, ekstrak daun pegagan

4.6. Definisi Operasional

1. Ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica (L.) Urb*) adalah hasil ekstraksi daun pegagan yang diperoleh dari Materi Medika kota Batu, Malang yang menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% . Metode ekstraksi tersebut dilakukan dengan cara memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Konsentrasi ekstrak yang akan digunakan yaitu 100%, 50%, 25%, 12,5% dan 6,25%. Skala data ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica (L.) Urb*) adalah ratio..
2. Pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* adalah bakteri gram negatif yang dilihat pada pewarnaan gram dan tergolong bakteri fakultatif anaerob. Terdapat 7 tabung reaksi pada metode dilusi tabung, kemudian memperhatikan pertumbuhan bakteri pada 4 medium agar untuk menentukan KBM. Skala data Pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* adalah ordinal.

4.7. Prosedur Penelitian

4.7.1. Pembuatan Ekstrak Daun Pegagan

4.7.1.1. Pembuatan Simplisia Daun Pegagan

(Azzahra dan Hayati, 2018)

1. Daun pegagan ditimbang sebanyak 5 kg dicuci bersih dengan air untuk menghilangkan kotoran yang menempel
2. Selanjutnya, daun pegagan dikering anginkan di ruangan yang terkena sinar matahari lebih kurang selama 4 hari



3. Kemudian, daun pegagan yang sudah dikeringkan dihaluskan dengan blender sampai halus hingga menjadi serbuk dan diayak.

4.7.1.2. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Pegagan Menggunakan Teknik Maserasi

1. Daun pegagan yang telah menjadi simplisia ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik seberat 400 gram
2. Simplisia yang telah ditimbang sebanyak 400 gram dimasukkan kedalam tabung gelap dan dimaserasi menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 2400 mL
3. Selanjutnya larutan tersebut dидiamkan selama 3 hari, dibiarkan pada suhu ruangan
4. Filtrat yang didapat diuapkan dengan *rotary evaporator* selama 1 jam
5. Ekstrak dipekatkan dengan menggunakan water bath sampai ekstrak didapatkan menjadi cair sehingga didapatkan ekstrak sebanyak 88 ml
6. Ekstrak daun pegagan ditempatkan pada botol / tabung.

4.7.1.3. Pengenceran Ekstrak Daun Pegagan

1. Ekstrak daun Pegagan dengan konsentrasi 100% = 1 ml ekstrak
2. Ekstrak daun Pegagan dengan konsentrasi 50% = 0,5 ml ekstrak + 0,5 ml aquades
3. Ekstrak daun Pegagan dengan konsentrasi 25% = 0,25 ml ekstrak + 0,75 ml aquades
4. Ekstrak daun Pegagan dengan konsentrasi 12,5% = 0,125 ml ekstrak + 0,875 ml aquades



5. Ekstrak daun Pegagan dengan konsentrasi 6,25% = 0,0625 ml ekstrak + 0,9375 ml aquades

4.7.2. Pembuatan Larutan Kontrol Positif (Fitrianarni *et al.*, 2014)

1. Haluskan sediaan tablet metronidazole 500 mg dengan mortal
2. Sediakan aquades sebanyak 50 ml sebagai pelarut
3. Campurkan kedua bahan hingga homogen, sehingga didapatkan larutan metronidazole 10mg/mL.

4.7.3. Identifikasi Bakteri

4.7.3.1. Pewarnaan Gram (Nurhidayati *et al.*, 2015)

1. 1–2 tetes aquades steril diletakkan di atas kaca objek, bakteri di ambil satu ose dari media diletakkan di atas aquades steril dan sebarakan hingga merata, biarkan olesan tersebut kering karena udara.
2. Setelah olesan kering kemudian gerakan kaca objek tersebut beberapa kali di atas nyala api sampai kaca objek terasa agak panas bila ditempelkan pada punggung tangan.
3. Kemudian ditetesi dengan larutan kristal ungu (Gram A) dan didiamkan selama satu menit, kemudian cuci menggunakan aquades pada botol semprot dan dikeringkan.
4. Selanjutnya ditetesi dengan larutan iodium dan dibiarkan selama 2 menit, dicuci menggunakan aquades pada botol semprot dan dikeringkan.



5. Kemudian ditetesi dengan larutan etanol 95% selama 30 detik, dicuci menggunakan aquades pada botol semprot dan dikeringkan.
6. Setelah itu ditetesi dengan larutan safranin dan didiamkan selama 30 detik, kemudian dicuci menggunakan aquades pada botol semprot dan dikeringkan.
7. Selanjutnya diamati dengan menggunakan mikroskop pada pembesaran kuat. Indikasi pewarnaannya yaitu bakteri gram positif akan berwarna violet dan bakteri gram negatif akan berwarna merah. *Porphyromonas gingivalis* akan menunjukkan warna merah yaitu gram negatif.

4.7.3.2. Tes Oksidase (Ginting *et al.*, 2018)

1. Uji oksidase dilakukan dengan mengoleskan koloni tunggal pada *Oxidase Test Strip* dengan menggunakan ose
2. Lalu dilihat perubahan yang terjadi
3. Apabila daerah tempat *Oxidase Test Strip* yang terkena bakteri berwarna biru tua keunguan maka oksidase positif, jika berwarna putih (tetap) maka bersifat negatif. Bakteri *Porphyromonas gingivalis* akan menunjukkan warna putih (tetap).

4.7.3.3. Tes Katalase (Ginting *et al.*, 2018)

1. Isolat bakteri diambil sebanyak 1 ose (ose bulat) dari masing-masing stok kultur
2. kemudian dicelupkan ke dalam reagen H₂O₂ yang telah ditetaskan pada *object glass*

3. Hasil positif apabila terbentuk gelembung gas pada ose, dan hasil negatif apabila tidak terbentuk gelembung gas. Bakteri *Porphyromonas gingivalis* akan menunjukkan tidak terbentuknya gelembung udara.

4.7.3.4. Uji Agar Mac Conkey (Wasita dan Hendrayana, 2016)

1. Siapkan agar *Mac Conkey* pada petridish steril
2. Bakteri *Porphyromonas gingivalis* dioleskan dengan menggunakan ose pada media agar *mac conkey* dengan metode *streaking* (gores)
3. Selanjutnya, bakteri *Porphyromonas gingivalis* diinkubasi pada suhu 37°C selama kurang lebih 24 jam dengan posisi cawan yang terbalik
4. Bakteri *Porphyromonas gingivalis* menunjukkan hasil negatif maka, akan tampak tidak berwarna atau jernih.

4.7.4. Pemiakan Bakteri

4.7.4.1. Pembuatan *Nutrient Agar* (Mahmuda dan Atun, 2017)

1. *Nutrient agar* (NA) ditimbang sebanyak 2,8 g lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer 200 ml kemudian ditambahkan 100 ml aquades.
2. Media agar dipanaskan menggunakan *hot plate* sampai mendidih agar media larut sempurna
3. Selanjutnya, menuangkan 5 ml NA ke dalam tabung reaksi steril
4. Kemudian, media agar disterilkan dalam *autoclave* selama 15 menit dengan suhu 121°C

5. Media agar steril diletakkan dengan kemiringan yang diinginkan lalu tunggu hingga mengeras.

4.7.4.2. Pembuatan *Nutrient Broth* (Mahmuda dan Atun, 2017)

1. *Nutrient Broth* (NB) ditimbang sebanyak 3,25 g lalu dimasukkan kedalam erlenmeyer 500 ml kemudian ditambahkan 250 ml aquades.
2. Media NB dipanaskan menggunakan hot plate serta diaduk hingga mendidih dan homogen
3. Media yang telah homogen kemudian dituangkan kedalam erlenmeyer 50 ml sebanyak 30 ml NB.
4. Kemudian media disterilkan dengan cara diautoclave selama 15 menit dengan suhu 121oC.
5. Selanjutnya media didiamkan selama 24 jam.

4.7.4.3. Kultur Bakteri (Mahmuda dan Atun, 2017)

1. Pembuatan media agar (*nutrient agar*) miring yang digunakan untuk penanaman bakteri.
2. Kemudian, lakukan penanaman bakteri uji pada *nutrient agar* dengan mengambil kultur bakteri menggunakan ose bundar, kemudian bakteri digoreskan rapat pada *nutrient agar* miring secara zig-zag dari bawah sampai atas.
3. Selanjutnya biakan bakteri diinkubasi pada suhu kamar (37°C) selama 24 jam.
4. Melakukan pembuatan media cair *nutrient broth*.
5. Kemudian, lakukan penanaman bakteri uji pada *nutrient broth*, dengan mengambil satu koloni bakteri *Porphyromonas gingivalis* dari *nutrient agar* menggunakan jarum ose steril.



6. Lalu masing-masing digores 1 ose dan ditumbuhkan dalam erlenmeyer berisi 10 ml media nutrient broth.

7. Kultur bakteri dalam media *nutrient broth* selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar dengan cara digoyang-goyang menggunakan shaker kecepatan putaran 120 rpm selama 24 jam.

8. Kultur bakteri yang semula jernih akan berubah menjadi keruh, yang menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri setelah masa inkubasi.

4.7.5. Pembuatan Suspensi *Porphyromonas gingivalis*

(Amalia *et al.*, 2016)

1. Bakteri *Porphyromonas gingivalis* disimpan pada media Brain Heart Infusion Broth (BHI-B) kemudian dimasukkan ke dalam wadah steril yang berada dalam suasana tertutup, sehingga sterilisasi tetap terjaga.

2. Jika sudah mendekati waktu untuk digunakan, bakteri diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam hingga mencapai kekentalan dengan standar 0,5 McFarland (sekitar 10⁸ CFU/ml).

3. Melakukan pengenceran dengan mengambil 1 ml dari suspensi standar (10 CFU/ml) dengan NaCl 0,9% sebanyak 9 mL sehingga didapatkan konsentrasi 10⁷ CFU/ml).

4. Pengenceran dilakukan lagi hingga mencapai inokulum akhir 10⁶ CFU/ml sesuai rumus :

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

Keterangan :

V₁ = volume awal

V₂ = volume akhir.

N₁ = konsentrasi awal

N₂ = konsentrasi akhir

5. Dari hasil pengenceran, bakteri diambil dengan menggunakan mikropipet sebanyak 1 cc dan ditetaskan kedalam petridish yang telah berisi BHI-A dan diratakan dengan ose untuk persiapan pada

persiapan uji efektivitas antibakteri ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* secara *in vitro*.

4.7.6. Pembagian Kelompok Perlakuan untuk Penelitian Pendahuluan

Kelompok pembanding terdiri dari kontrol negatif dan kontrol positif.

1. Kontrol negatif : bakteri *Porphyromonas gingivalis* dan diberi perlakuan aquades steril
2. Kontrol positif : bakteri *Porphyromonas gingivalis* dan diberi perlakuan Metronidazole 10mg/mL

Kemudian terdapat 5 kelompok perlakuan di antaranya:

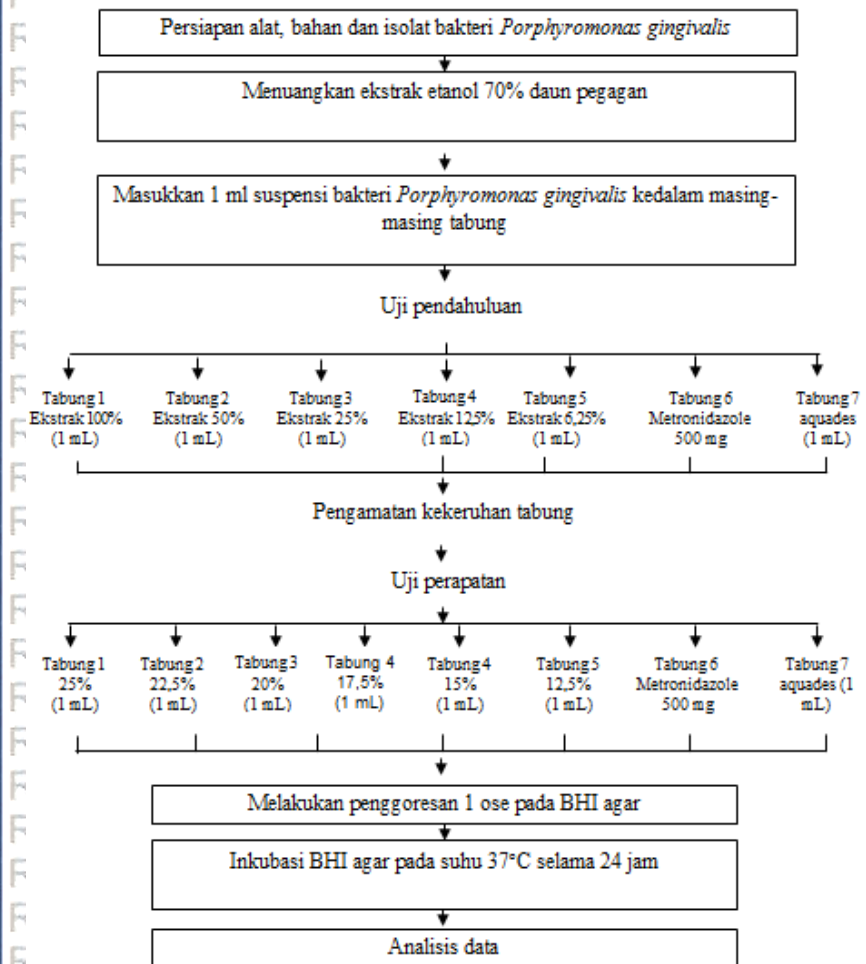
1. Tabung 1: bakteri *Porphyromonas gingivalis* dan diberi perlakuan ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) dengan konsentrasi 100%.
2. Tabung 2: bakteri *Porphyromonas gingivalis* dan diberi perlakuan ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) dengan konsentrasi 50%.
3. Tabung 3: bakteri *Porphyromonas gingivalis* dan diberi perlakuan ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) dengan konsentrasi 25%.
4. Tabung 4: bakteri *Porphyromonas gingivalis* dan diberi perlakuan ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) dengan konsentrasi 12,5%.
5. Tabung 5: bakteri *Porphyromonas gingivalis* dan diberi perlakuan ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) dengan konsentrasi 6,25%



4.7.7. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* secara *in vitro*

1. Sediakan 7 tabung reaksi steril yang masing-masing diberi label 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, Metronidazole 10mg/mL sebagai kontrol positif (+). dan aquades sebagai kontrol negatif (-). Masing-masing konsentrasi dilakukan sebanyak 4 kali pengulangan.
2. Isi masing-masing tabung reaksi steril dengan konsentrasi ekstrak serta kontrol sebanyak 1mL.
3. Menambahkan suspensi bakteri yang telah diencerkan ke dalam masing-masing tabung sebanyak 1 mL
4. Semua tabung diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37-37,5°C
5. Membuat *original inoculum* (OI) dengan cara *spreading* larutan kontrol negatif. OI dibuat untuk menentukan KBM.
6. Untuk mengetahui Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM), bakteri dalam tabung yang jernih diletakkan pada 4 medium *Trypticase Soy Agar* (TSA) sebanyak 1 ose. Kemudian, diinkubasi dalam suasana anaerob menggunakan *anaerobic jar* lalu dimasukkan dalam inkubator selama 18-24 jam selama 37-37,5°C
7. KBM diketahui dengan cara menghitung jumlah koloni bakteri dengan *colony counter*. Penentuan KBM diketahui dengan jumlah koloni kurang dari 0,1 % dari jumlah koloni yang terdapat di *original inoculum* atau tidak ada koloni bakteri yang tumbuh.

4.8. Alur Penelitian



Gambar 4.1 Skema Alur Penelitian

4.9. Analisis Data



1. Analisis deskriptif adalah analisis untuk memberikan gambaran tentang data penelitian yang diuraikan secara deskriptif kualitatif dan disajikan dalam bentuk tabel.
2. Uji Normalitas dan Homogenitas
 - 1) Uji Normalitas dengan *Saphiro-Wilk* oleh karena besar sampel penelitian < 30
 - 2) Uji Homogenitas dengan *Levene's Test*

Uji statistik Non Parametrik dilakukan karena distribusi data tidak normal

3. Uji Kruskal Wallis untuk mengetahui adanya perbedaan antara ekstrak daun pegagan pada masing-masing konsentrasi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*
4. Uji Post Hoc (Mann whitney) untuk menentukan perbedaan pada masing-masing konsentrasi ekstrak daun pegagan
5. Uji korelasi Spearman untuk menunjukkan apakah ada hubungan konsentrasi ekstrak daun pegagan dengan pertumbuhan koloni *Porphyromonas gingivalis*

BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil Ekstrak Daun Pegagan

Daun pegagan yang digunakan dalam penelitian ini diekstraksi dengan pelarut etanol 70%. Pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium Herbal Materia Medica Batu. Hasil ekstraksi berupa larutan berwarna coklat.



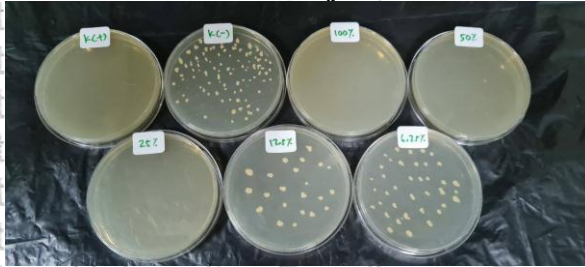
Gambar 5.1 Ekstrak Daun Pegagan

5.2 Hasil Uji Pendahuluan

Uji Pendahuluan dilakukan untuk mengetahui rentang konsentrasi ekstrak daun pegagan yang efektif untuk membunuh bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Uji pendahuluan pada penelitian ini menggunakan metode dilusi tabung dengan konsentrasi ekstrak 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%; *aquadest* sebagai kontrol negatif dan *Metronidazole* sebagai kontrol positif.

Hasil dari uji pendahuluan didapatkan konsentrasi 6,25% dan 12,5% masih terdapat pertumbuhan koloni bakteri dan pada konsentrasi 25% tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri. Sehingga, perlu dilakukan uji lanjutan pada konsentrasi 25%; 22,5%; 20%; 17,5%; 15%; 12,5%.

Gambar 5.2 Hasil Uji Pendahuluan

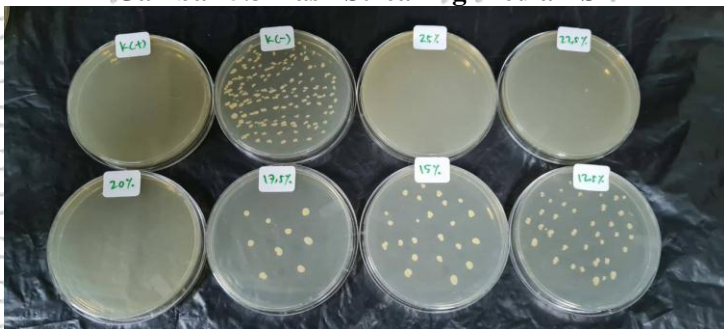


5.3 Hasil Penelitian

Penelitian inti dilakukan setelah uji pendahuluan dengan konsentrasi ekstrak daun pegagan yang telah dirapatkan menjadi 25%;22,5%;20%;17,5%;15%;12,5%, *aquadest* sebagai kontrol negatif; dan *Metronidazole* sebagai kontrol positif.

Penelitian inti yaitu menentukan KBM dilakukan dengan penggosokan ulang dari masing-masing tabung pada media TSA sebanyak empat kali untuk mengetahui nilai KBM dilihat dari jumlah koloni pada masing-masing konsentrasi kurang dari 0,1% dari jumlah koloni yang terdapat di media TSA atau tidak ada koloni bakteri yang tumbuh. Setelah itu, koloni bakteri pada setiap plate dihitung dengan menggunakan *colony counter*.

Gambar 5.3 Hasil Streaking Media TSA

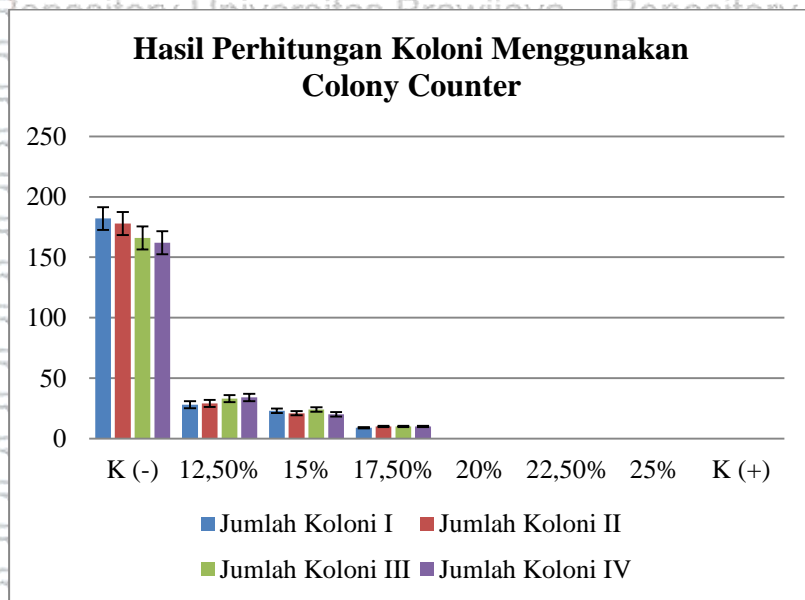


Tabel 5.1 Hasil Perhitungan Koloni Menggunakan Colony Counter



| Konsentrasi | Jumlah Koloni | | | | Jumlah | Rerata | Std. Deviasi |
|-------------|---------------|-----|-----|-----|--------|--------|--------------|
| | I | II | III | IV | | | |
| K (-) | 182 | 178 | 166 | 162 | 688 | 172 | 9,52 |
| 12,50% | 28 | 29 | 33 | 34 | 124 | 31 | 2,94 |
| 15% | 23 | 21 | 24 | 20 | 88 | 22 | 1,82 |
| 17,50% | 9 | 10 | 10 | 10 | 39 | 9,75 | 0,5 |
| 20% | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | - |
| 22,50% | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | - |
| 25% | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | - |
| K (+) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | - |

Gambar 5.4 Diagram Hasil Perhitungan Koloni Menggunakan Colony Counter





Berdasarkan tabel di atas didapatkan adanya perbedaan jumlah koloni bakteri. Kontrol negatif yaitu *aquadest* menghasilkan pertumbuhan jumlah koloni bakteri terbanyak dengan pengulangan sebanyak 4x yaitu 688 dengan rata-ratanya 172 CFU/ml. Jumlah koloni bakteri semakin menurun sejalan dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak daun pegagan dan pada konsentrasi 20%;22,5% dan 25% sudah tidak terdapat koloni bakteri. Pada kontrol positif yaitu *Metronidazole* tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri.

5.4 Analisis Data

Analisis data dilakukan berdasarkan jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada media TSA. Data yang didapat akan diuji normalitasnya dengan Uji Shapiro-Wilk karena sampel data kurang dari 50 sampel. Kemudian data tersebut diuji homogenitasnya dengan Uji Levene. Setelah diketahui bahwa data tidak normal dan tidak homogen, maka dilanjutkan dengan Uji Kruskal Wallis, Uji Post Hoc (*Mann Whitney*), dan Uji Korelasi Spearman.

5.4.1 Hasil Uji Normalitas Data dan Homogenitas Varian

Tabel 5.2 Hasil Normalitas Shapiro-Wilk

| Konsentrasi | Jumlah koloni bakteri | Rerata Jumlah Koloni Bakteri | Uji Saphiro-Wilk Angka signifikansi (p) |
|-------------|-----------------------|------------------------------|---|
| K (-) | 688 | 172 | 0,488 |
| 12,50% | 124 | 31 | 0,348 |
| 15% | 88 | 22 | 0,714 |
| 17,50% | 39 | 9,75 | 0,001 |
| 20% | 0 | 0 | 0 |
| 22,50% | 0 | 0 | 0 |
| 25% | 0 | 0 | 0 |
| K (+) | 0 | 0 | 0 |



Keterangan:

$p > 0,05$: distribusi normal

$p < 0,05$: distribusi tidak normal

Pada tabel 5.2 dapat diketahui bahwa nilai signifikansi jumlah koloni bakteri pada konsentrasi 17,5%;20%;22.5%25% dan kontrol positif kurang dari 0,05. Data dianggap berdistribusi normal apabila nilai signifikansi lebih dari 0,05. Maka dapat disimpulkan bahwa data jumlah koloni bakteri *Porphyromonas gingivalis* berdistribusi tidak normal. Kemudian, dilanjutkan dengan uji homogenitas varians data untuk mengetahui bahwa sampel pada penelitian adalah sampel yang homogen.

Tabel 5.3 Hasil Homogenitas Levene

| Konsentrasi | Jumlah koloni bakteri | Rerata Jumlah Koloni Bakteri | Uji Levene Angka signifikansi (p) |
|-------------|-----------------------|------------------------------|-----------------------------------|
| K (-) | 688 | 172 | 0,000 |
| 12,50% | 124 | 31 | |
| 15% | 88 | 22 | |
| 17,50% | 39 | 9,75 | |
| 20% | 0 | 0 | |
| 22,50% | 0 | 0 | |
| 25% | 0 | 0 | |
| K (+) | 0 | 0 | |

Keterangan:

$p = 0,000$: data tidak homogen ($p < 0,05$)

Pada tabel 5.3 dapat diketahui bahwa nilai signifikansi jumlah koloni bakteri adalah 0,000. Data dianggap homogen apabila nilai signifikansi lebih dari 0,05. Maka dapat disimpulkan bahwa data jumlah koloni bakteri *Porphyromonas gingivalis* memiliki varians yang tidak sama atau tidak homogen. Dari uji normalitas dan



uji homogenitas disimpulkan bahwa data memenuhi syarat untuk uji statistik non parametric Kruskal Wallis.

5.4.2 Hasil Uji Kruskal Wallis

Tabel 5.4 Hasil Uji Kruskal Wallis

| Konsentrasi | Rerata Jumlah Koloni Bakteri (SD) | Uji Kruskal Wallis Angka signifikansi (p) |
|-------------|-----------------------------------|---|
| K (-) | 172,00 (9,52) | 0,000 |
| 12,50% | 31,00 (2,94) | |
| 15% | 22,00 (1,82) | |
| 17,50% | 9,75 (0,50) | |
| 20% | 0 | |
| 22,50% | 0 | |
| 25% | 0 | |
| K (+) | 0 | |

Keterangan:
p = 0,000 : signifikan (p>0,05)

Hasil dari uji statistik non-parametric Kruskal Wallis diketahui bahwa nilai signifikansi yang didapat adalah 0,000 (p<0,05). Sehingga dapat disimpulkan bahwa perubahan tingkatan konsentrasi ekstrak etanol daun pegagan memberikan perbedaan yang signifikan (bermakna) pada jumlah koloni bakteri *Porphyromonas gingivalis*.

5.4.3 Hasil Uji Post Hoc (Mann Whitney)

Tabel 5.5 Hasil Uji Post Hoc (Mann Whitney)

| K (-) | 12,5 % | 15% | 17,50 % | 20% | 22,5 % | 25% | K(+) |
|-------|--------|-------|---------|--------|--------|-------|-------|
| K(-) | 0,021 | 0,021 | 0,018* | 0,014 | 0,014 | 0,014 | 0,014 |
| | * | * | | * | * | * | * |
| 12,5 | 0,021 | - | 0,021 | 0,018* | 0,014 | 0,013 | 0,014 |



| | | | | | | | |
|-------|-------|-------|--------|--------|-------|-------|-------|
| % | * | * | * | * | * | * | * |
| 15% | 0,021 | 0,021 | 0,018* | 0,014 | 0,013 | 0,014 | 0,014 |
| | * | * | * | * | * | * | * |
| 17,5% | 0,018 | 0,018 | 0,018 | - | 0,011 | 1,00 | 0,011 |
| | * | * | * | * | * | * | * |
| 20% | 0,014 | 0,014 | 0,014 | 0,011* | - | 1,00 | 1,00 |
| | * | * | * | * | * | * | * |
| 22,5% | 0,014 | 0,014 | 0,014 | 0,011* | 1,00 | - | 1,00 |
| | * | * | * | * | * | * | * |
| 25% | 0,014 | 0,014 | 0,014 | 0,011* | 1,00 | 1,00 | 1,00 |
| | * | * | * | * | * | * | * |
| K(+) | 0,014 | 0,014 | 0,014 | 0,011* | 1,00 | 1,00 | - |
| | * | * | * | * | * | * | * |

Keterangan:

* : perbedaan yang signifikan (sig < 0,05)

Uji Post Hoc digunakan sebagai pembandingan berganda (*multiple comparisons*) yaitu pembandingan pada setiap dua kelompok data. Jika nilai signifikansi pada tabel menunjukkan lebih dari 0,05 maka data tersebut tidak signifikan dan nilai kurang dari 0,05 menunjukkan bahwa data tersebut perbedaannya signifikan. Pada konsentrasi 17,5% dan 20% dengan nilai signifikansi 0,011 menunjukkan bahwa konsentrasi tersebut perbedaannya signifikan. Sedangkan sebagai contoh efek ekstrak daun pegagan tidak signifikan adalah ekstrak dengan konsentrasi 22,5% dan 25% dengan nilai signifikansi 1,00.

5.4.4 Hasil Uji Korelasi Spearman

Uji korelasi digunakan untuk mengetahui ada tidaknya hubungan dari pemberian ekstrak daun pegagan terhadap jumlah koloni bakteri *Porphyromonas gingivalis*.

Tabel 5.6 Hasil Uji Korelasi Spearman

| Konsentrasi | Rerata Jumlah Koloni Bakteri | Uji Korelasi Spearman | |
|-------------|------------------------------|-----------------------|-------------------|
| | | Angka signifikansi | Hubungan Korelasi |
| K (-) | 172 | 0,000 | -0,935 |
| 12,5% | 31 | | |



| | |
|--------|------|
| 15% | 22 |
| 17,5% | 9,75 |
| 20% | 0 |
| 22,50% | 0 |
| 25% | 0 |
| K (+) | 0 |

Keterangan:

p = 0,000 : signifikansi ($p < 0,01$)

r = korelasi negatif (+: korelasi positif; -: korelasi negatif)

Pada tabel 5.6 diketahui bahwa terdapat korelasi yang signifikan dari pemberian ekstrak daun pegagan terhadap jumlah koloni bakteri *Porphyromonas gingivalis* dan arah korelasinya adalah negatif. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun pegagan maka jumlah koloni bakteri *Porphyromonas gingivalis* yang tumbuh akan menurun.

5.5 Pembahasan

Pada uji pendahuluan, ekstrak daun pegagan yang digunakan adalah konsentrasi 100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; *aquadest* dan metronidazol. Setiap konsentrasi tersebut dilarutkan dengan etanol 70% karena sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal, dimana bahan pengganggu hanya skala kecil yang turut ke dalam cairan pengekstraksi (Azis *et al.*, 2014). Selain daripada itu, etanol 70 % mudah ditemukan dan memiliki harga yang lebih ekonomis. Hasil dari uji pendahuluan dengan metode dilusi tabung didapatkan bahwa ekstrak dengan konsentrasi 6,25% dan 12,5% masih terdapat pertumbuhan koloni bakteri, sementara pada konsentrasi 25% sudah tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri. Oleh sebab itu, pada uji perapatan dipilih konsentrasi 25%;22,5%;20%;17,5%;15%;12,5%, *aquadest* sebagai kontrol negatif dan Metronidazole sebagai kontrol positif.

Kadar Bunuh Minimum (KBM) ditentukan dengan metode dilusi tabung. Setiap kelompok konsentrasi dimasukkan ke dalam tabung kemudian diinkubasi selama 24 jam hingga terlihat kekeruhannya lalu dilakukan spreading bakteri pada media TSA



dengan cara mengambil 0,1 ml suspensi bakteri dengan mikropipet dari masing-masing tabung, kemudian diratakan dengan menggunakan spreader dan di inkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37°C-37,5°C, lalu dihitung jumlah koloni pada setiap plate menggunakan colony counter. Penentuan KBM diketahui dengan jumlah koloni kurang dari 0,1 % dari jumlah koloni yang terdapat di original inokulum atau tidak ada koloni bakteri yang tumbuh. Hasil uji tersebut menunjukkan bahwa pada konsentrasi 20% sudah tidak terdapat adanya pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* yang menandakan Kadar Bunuh Minimum (KBM) ekstrak daun pegagan terhadap *Porphyromonas gingivalis* adalah 20%. Semakin kecil Kadar Bunuh Minimal (KBM) maka semakin baik untuk digunakan sebagai antibakteri karena efek samping dan resiko resistensi antibiotik yang didapat juga akan semakin kecil (A Simbara *et al.*, 2020).

Suatu penelitian uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% daun pegagan terhadap bakteri *Escherichia coli* didapatnya Kadar Hambat Minimumnya adalah 10mg/ml atau setara dengan 10% (A Simbara *et al.*, 2020). Pada penelitian ini ekstrak daun pegagan 12,5% merupakan konsentrasi yang menedekati 10% dan terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* sehingga dapat dijadikan sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM).

Telah terbukti pada penelitian uji aktivitas antibakteri ekstrak daun pegagan terhadap *Streptococcus mutans* dan didapatkan konsentrasi ekstrak 80% memiliki daya antibakteri. Selain itu diperoleh juga hasil bahwasanya terdapat aktivitas antibakteri daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* pada konsentrasi 60%, 80%, dan 100%. Juga pada penelitian Oryza, (2010) tentang uji aktifitas antibakteri ekstrak etanol daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* diperoleh hasil bahwasanya terdapat efektifitas zona hambat pada bakteri *Staphylococcus aureus* (Azzahra dan Hayati, 2018).



Efektifitas senyawa antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya konsentrasi zat antibakteri, jenis, jumlah, umur dan keadaan bakteri, sifat-sifat kimia dan fisik makanan termasuk kadar air, pH, jenis dan jumlah komponen di dalamnya, suhu, serta waktu kontak (Agvadila dan Puspawati, 2017). Semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka jumlah zat aktif yang terkandung juga akan semakin tinggi, sehingga ada kecenderungan semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka semakin efektif ekstrak daun pegagan sebagai antibakteri (Ashella *et al.*, 2016). Ekstrak daun pegagan mampu membunuh *Porphyromonas gingivalis* diperkirakan karena adanya senyawa-senyawa yang terkandung didalamnya, seperti flavonoid, tanin dan saponin yang memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Antara ketiga senyawa tersebut yang paling dominan adalah tanin sebesar 20-25% (Gohil *et al.*, 2010).

Tanin akan menyebabkan sel *Porphyromonas gingivalis* menjadi lisis. Tanin memiliki target pada dinding polipeptida dinding sel bakteri sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna dan kemudian sel bakteri akan mati. Tanin juga memiliki kemampuan untuk menginaktifkan enzim bakteri serta mengganggu jalannya protein pada lapisan dalam sel (Ngajow *et al.*, 2013). Kemudian flavonoid akan menghancurkan membran sel plasma dan dinding sel bakteri. Flavonoid akan menyerang fosfolipid pada membran sitoplasma bakteri, sehingga fosfolipid tidak mampu mempertahankan membran sitoplasma yang akhirnya mengakibatkan terjadinya kebocoran pada membran sitoplasma dan zat-zat yang berfungsi untuk metabolisme sel bakteri terbuang keluar sehingga terjadi kematian pada bakteri lalu akan merusak dinding sel dengan membentuk gugus alkohol kemudian akan bereaksi dengan lipid dan asam amino yang merupakan struktur dinding sel bakteri sehingga terjadi kerusakan dinding sel bakteri. Ketika terjadi kerusakan pada dinding sel bakteri senyawa flavonoid akan terus masuk hingga ke dalam inti sel bakteri, di dalam inti sel senyawa flavonoid berkontak dengan DNA yang akhirnya menyebabkan kerusakan pada struktur lipid DNA sehingga bakteri lisis dan sel akan mati (Amanda *et al.*, 2019). Selanjutnya, saponin menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel bakteri *Porphyromonas gingivalis* (Madduluri *et al.*, 2011). Saponin dapat meningkatkan



permeabilitas membran sehingga terjadi hemolisis pada sel. Jika saponin berinteraksi dengan sel bakteri, bakteri tersebut akan pecah atau lisis (Poeloengan dan Praptiwi, 2012).

Analisis data yang digunakan pada penelitian ini adalah Uji Kruskal Wallis. Sebelum menggunakan uji tersebut kita harus memastikan dengan uji normalitas dan homogenitasnya terlebih dahulu. Uji Shapiro-Wilk digunakan untuk memastikan data berdistribusi normal dan Uji Levene untuk memastikan data homogen. Pada penelitian ini didapatkan data tidak berdistribusi normal dan tidak homogen. Kemudian dilanjutkan dengan Uji Kruskal Wallis untuk analisis data dan didapatkan nilai signifikansinya adalah 0,000 ($p < 0,005$) yang menunjukkan bahwa adanya perubahan konsentrasi daun pegagan memberi perbedaan yang signifikan dalam membunuh *Porphyromonas gingivalis*. Setelah itu, untuk mengetahui perbedaan signifikan pada tiap dua kelompok data perlu dilakukan Uji Post Hoc (Mann whitney). Uji Post Hoc menunjukkan terdapat beberapa konsentrasi ekstrak yang tidak memiliki perbedaan signifikan, contohnya ekstrak dengan konsentrasi 22,5% dan ekstrak dengan konsentrasi 25% tidak memiliki perbedaan yang signifikan. Hal ini menandakan jumlah koloni yang terbentuk pada konsentrasi tersebut tidak berbeda signifikan, sedangkan konsentrasi yang memiliki perbedaan signifikan, misalnya ekstrak dengan konsentrasi 17,5% dan 20%. Perbedaan yang signifikan terjadi karena rentang konsentrasi sudah baik sehingga pertumbuhan jumlah koloni bakteri menurun secara signifikan.

Uji Korelasi Spearman yang digunakan pada penelitian ini bertujuan untuk menunjukkan apakah ada hubungan konsentrasi ekstrak daun pegagan dengan pertumbuhan koloni *Porphyromonas gingivalis*. Setelah data dilakukan uji tersebut menunjukkan adanya hubungan yang signifikan dan arah korelasinya negatif yang berarti semakin meningkatnya ekstrak daun pegagan dapat menurunkan pertumbuhan jumlah koloni *Porphyromonas gingivalis*. Terjadinya hal tersebut dikarenakan semakin meningkatnya ekstrak daun pegagan maka senyawa-senyawa antibakteri yang terkandung dalam ekstrak daun pegagan juga akan meningkat.



Berdasarkan hasil pembahasan di atas, diketahui bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak daun pegagan efektif sebagai antibakteri terhadap *Porphyromonas gingivalis*, tetapi konsentrasi ekstrak dosis tinggi terkadang dapat mengakibatkan perubahan pada beberapa organ (Pratiwi et al., 2010). Oleh karena itu perlu dilakukan uji toksisitas dan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui dosis aman pemberian ekstrak daun pegagan sebelum dilakukan pengembangan sebagai antibakteri.



BAB VI PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian di atas, penulis menyimpulkan bahwa:

- Ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) efektif sebagai antibakteri terhadap *Porphyromonas gingivalis* secara in vitro.
- Kadar Bunuh Minimum (KBM) ekstrak daun pegagan terhadap *Porphyromonas gingivalis* adalah konsentrasi 20%
- Terdapat hubungan signifikan mengenai perubahan peningkatan konsentrasi ekstrak daun pegagan terhadap jumlah koloni bakteri *Porphyromonas gingivalis*

6.2 Saran

Berdasarkan kekurangan pada penelitian ini, penulis memberikan beberapa saran sebagai perbaikan untuk penelitian selanjutnya di masa mendatang, yaitu:

- Perlu dilakukan penelitian dengan metode lain untuk mengetahui efektifitas ekstrak daun pegagan terhadap *Porphyromonas gingivalis*
- Perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui dosis efektif dan efek samping ekstrak daun pegagan secara in vivo.
- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efektifitas ekstrak daun pegagan terhadap *Porphyromonas gingivalis*
- Perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui toksisitas sebelum melakukan penelitian lebih lanjut



DAFTAR PUSTAKA

- Abdi, K., Chen, T., Klein, B. A., Tai, A. K., Coursen, J., Liu, X., Skinner, J., Periasamy, S., Choi, Y., Kessler, B.M. & Palmer, R. J. 2017. Mechanisms by which *Porphyromonas gingivalis* evades innate immunity. PloS one, 12(8).
- Agfadila, T., Putu A. S. W., & Ni N. P. 2017. Kemampuan Daya Hambat Ekstrak Daun Pegagan (*Centella Asiatica (L.) Urban*) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia Coli* Atcc 8739. Jurnal ITEPA Vol. 6 No. 2
- Agvadila, T., & Puspawati, N. N. (2017). Kemampuan Daya Hambat Ekstrak Daun Pegagan (*Centella Asiatica (L.) Urban*) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 8739. Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (ITEPA), 6(2), 21-29
- Alibasyah, Z. M., Andayani, R., & Farhana, A. 2016. potensi antibakteri ekstrak jahe (*Zingiber officinale Roscoe*) terhadap *Porphyromonas gingivalis* secara in vitro. Journal of Syiah Kuala Dentistry Society, 1(2), 147-152.
- Amalia, A., Dwiyantri, R. D., & Haitami, H. 2016. Daya hambat NaCl terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Medical Laboratory Technology Journal, 2(2), 42-45.
- Amanda, E. A., Oktiani, B. W., & Panjaitan, F. U. (2019). EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK FLAVONOID PROPOLIS *Trigona Sp* (*Trigona thorasica*) TERHADAP



PERTUMBUHAN BAKTERI *Porphyromonas gingivalis*.
Dentin, 3(1).

Angeline, M., Turnip, M., & Khotimah, S. 2015. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Protobiont*, (4), 184-189

Arifin, B., & Ibrahim, S. 2018. Struktur, Bioaktivitas dan Antioksidan Flavonoid. *Jurnal Zarah*, 6(1), 21-29.

Ashellia S, Albin T, Fleming. 2016. Antimicrobial Activity of Asiatic Acid against Bacteria and Fungi. *International Journal of Science and Research (IJSR)* 5(8): 2319-7064.

Azzahra, F., & Hayati, M. 2018. Uji Aktivitas Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *B-Dent: Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Baiturrahmah*, 5(1), 9-19.

Bostanci, N., & Belibasakis, G. N. 2012. *Porphyromonas gingivalis*: an invasive and evasive opportunistic oral pathogen. *FEMS microbiology letters*, 333(1), 1-9.

Carranza, F.A., Newman, M.G., Takel, H.H., dan Klokkevold, P.R. 2015. *Carranza's Clinical Periodontology* 12th Edition. Canada: Elsevier, pp:52.

Carrillo, L, M., Reyes, E, H., Huerta, E, G., Ruvalcaba F, C., Ruvalcaba, I, C., Ruvalcaba, M,C., & Alfaro, L. 2019.



Pathogenesis of Periodontal Disease, Periodontal Disease -
Diagnostic and Adjunctive Non-surgical Considerations,
Nermin Mohammed Ahmed Yussif, IntechOpen.

Chandrika, U. G., & Kumara, P. A. P. 2015. Gotu kola (*Centella asiatica*): nutritional properties and plausible health benefits.

In *Advances in food and nutrition research* (Vol. 76, pp. 125-157). Academic Press.

Das, A. J. 2011. Review on nutritional, medicinal and pharmacological properties of *Centella asiatica* (Indian pennywort). *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 1(4), 216-228.

de Andrade, K. Q., Almeida-da-Silva, C. L. C., & Coutinho-Silva, R. 2019. Immunological Pathways Triggered by *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum*: Therapeutic Possibilities?. *Mediators of inflammation*, 2019.

etanol mikroalga laut (*Tetraselmis chui*). *Jurnal*

Febrina, L., Rusli, R., & Muflihah, F. 2015. Optimalisasi ekstraksi dan uji metabolit sekunder tumbuhan libo (*Ficus variegata* Blume). *Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry*, 3(2), 74-81.

Fitrianarni, D., Ibrahim, M., & Trimulyono, G. 2014. Aktivitas Antibakteri Yoghurt Susu Sapi Kedelai terhadap *Shigella*



dysenteriae secara In Vitro. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*, 3(1)

Ginting, S. S. B., Suryanto, D., & Desrita, D. 2018. Isolasi dan karakterisasi bakteri potensial probiotik pada saluran pencernaan ikan bandeng (*Chanos chanos*). *Acta Aquatica: Aquatic Sciences Journal*, 5(1), 23-29.

Gohil, K. J., Patel, J. A., & Gajjar, A. K. (2010). Pharmacological review on *Centella asiatica*: a potential herbal cure-all. *Indian journal of pharmaceutical sciences*, 72(5), 546.

Hajishengallis, G., Darveau, R. P., & Curtis, M. A. 2012. The keystone-pathogen hypothesis. *Nature Reviews Microbiology*, 10(10), 717-725.

Hari, A., Srikanth, B. A., & Lakshmi, G. S. 2013. Metronidazole induced cerebellar ataxia. *Indian journal of pharmacology*, 45(3), 295.

Hartoyo, B., Trisilawati, O., & Ghulamahdi, M. 2016. TANGGAP PERTUMBUHAN DAN BIOMASA PEGAGAN (*Centella asiatica* (L.) Urban) PADA APLIKASI FUNGI MIKORIZA ARBUSKULA DAN PEMUPUKAN DI TANAH ANDOSOL. *Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat*, 26(2), 87-98.

Hashim, P. 2011. *Centella asiatica* in food and beverage applications and its potential antioxidant and neuroprotective effect. *International Food Research Journal*, 18(4), 1215.



How, K. Y., Song, K. P., & Chan, K. G. 2016. *Porphyromonas gingivalis*: an overview of periodontopathic pathogen below the gum line. *Frontiers in microbiology*, 7, 53.

Huck, O., You, J., Han, X., Cai, B., Panek, J., & Amar, S. 2018. Reduction of articular and systemic inflammation by Kava-241 in a *Porphyromonas gingivalis*-induced arthritis murine model. *Infection and immunity*, 86(9).

Illing, I., Safitri, W., & Erfiana, E. 2017. Uji fitokimia ekstrak buah dengan. *Dinamika*, 8(1), 66-84.

Jia, L., Nannan Han, Juan Du, Lijia Guo, Zhenhua Luo and Yi Liu. 2019. Pathogenesis of Important Virulence Factors of *Porphyromonas gingivalis* via Toll-Like Receptors. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. Vol 9.

Joshi, K., & Chaturvedi, P. 2013. Therapeutic efficiency of *Centella asiatica* (L.) Urb. An underutilized green leafy vegetable: an overview. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 4(1), 135-149.

Khusuma, A., Safitri, Y., Yuniarni, A., & Rizki, K. 2019. Uji Teknik Difusi Menggunakan Kertas Saring Media Tampung Antibiotik dengan *Escherichia Coli* Sebagai Bakteri Uji. *Jurnal Kesehatan Prima*, 13(2), 151-155.

Kusumawardani, B., Pujiastuti, P., & Sari, D. S. 2010. Uji biokimiawi sistem API 20 A mendeteksi *Porphyromonas*



gingivalis isolat klinik dari plak subgingiva pasien periodontitis kronis. Jurnal PDGI 59, (3), 110-114

Madduluri S, Rao KB, Sitaram B. 2013. In vitro evaluation of antibacterial activity of five indigenous plants extract against five bacterial pathogens of human. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science; 5(4). h. 679-84.

Mahmudah, F. L., & Atun, S. 2017. Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol temukunci (*Boesenbergia pandurata*) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Jurnal Penelitian Saintek, 22(1), 59-66.

Marzouk, M. M. 2016. Flavonoid constituents and cytotoxic activity of *Erucaria hispanica* (L.) Druce growing wild in Egypt. Arabian Journal of Chemistry, 9, S411-S415.

Masúd, F., & Puspitasari, P. 2017. Studi Pendahuluan Ekstraksi Bertingkat Minyak Biji Mangga Arumanis (*Mangifera Indica*) Menggunakan Pelarut N-Heksan dan Etanol. INTEK: Jurnal Penelitian, 4(1), 42-48.

Mawaddah, N., & Arbianti, K. 2017. Perbedaan Indeks Kebutuhan Perawatan Periodontal (CPITN) Anak Normal dan Anak Tunarungu. *ODONTO: Dental Journal*, 4(1), 44-49.

Mora, E., & Fernando, A. 2012. Optimasi ekstraksi triterpenoid total pegagan (*Centella asiatica* (Linn.) Urban) yang tumbuh di Riau. Penelitian Farmasi Indonesia, 1(01), 11-16.



Munhoz, V. M., Longhini, R., Souza, J. R., Zequi, J. A., Mello, E. V., Lopes, G. C., & Mello, J. C. 2014. Extraction of flavonoids from *Tagetes patula*: process optimization and screening for biological activity. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 24(5), 576-583.

Mysak, J., Podzimek, S., Sommerova, P., Lyuya-Mi, Y., Bartova, J., Janatova, T., Prochazkova, J. and Duskova, J., 2014. *Porphyromonas gingivalis*: major periodontopathic pathogen overview. *Journal of immunology research*, 2014.

Nakayama, K. 2015. *Porphyromonas gingivalis* and related bacteria: from colonial pigmentation to the type IX secretion system and gliding motility. *Journal of periodontal research*, 50(1), 1-8.

Nasution, M. Y., Restuati, M., Pulungan, A. S. S., Pratiwi, N., & Diningrat, D. S. 2018. Antimicrobial Activities of *Centella asiatica* Leaf and Root Extracts on Selected Pathogenic Microorganisms. *Journal of Medical Sciences*, 18(04), 198-204.

Nazir, M. A. 2017. Prevalence of periodontal disease, its association with systemic diseases and prevention. *International journal of health sciences*, 11(2), 72.

Ngajow M, Abidjulu J, Kamu VS. 2013. Pengaruh antibakteri ekstrak kulit batang mataoa (*Pometia pinnata*) terhadap bakteri



Staphylococcus aureus secara in vitro. Jurnal MIPA UNSRAT Online. 2(2), h. 128-32.

Ngazizah, F. N., Ekowati, N., & Septiana, A. T. (2017). Potensi daun trembilungan (*begonia hirtella link*) sebagai antibakteri dan antifungi. Majalah Ilmiah Biologi BIOSFERA: A Scientific Journal, 33(3), 126-133.

Noer, S. 2016. Uji kualitatif fitokimia daun *Ruta angustifolia*. Faktor Exacta, 9(3), 200-206.

Nurhidayati, S., Faturrahman, F., & Ghazali, M. 2015. Deteksi Bakteri Patogen Yang Berasosiasi Dengan *Kappaphycus Alvarezii* (Doty) Bergejala Penyakit Ice-Ice. Jurnal Sains Teknologi & Lingkungan, 1(2).

Olsen, I., & Yilmaz, Ö. 2016. Modulation of inflammasome activity by *Porphyromonas gingivalis* in periodontitis and associated systemic diseases. Journal of oral microbiology, 8(1), 30385.

Pangan dan Agroindustri. 2 (2): 121-126

Parahitiyawa, N. B., Scully, C., Leung, W. K., Yam, W. C., Jin, L. J., & Samaranayake, L. P. 2010. Exploring the oral bacterial flora: current status and future directions. Oral diseases, 16(2), 136-145.

Pendit, P. A. C. D., Zubaidah, E., & Sriherfyna, F. H. 2015. KARAKTERISTIK FISIK-KIMIA DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN BELIMBING WULUH



(*Averrhoa bilimbi* L.) [IN PRESS JANUARI 2016]. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 4(1).

Perdana, R., & Setyawati, T. 2016. Uji In-Vitro Sensitivitas Antibiotik Terhadap Bakteri *Salmonella typhi* di Kota Palu. *Medika Tadulako: Jurnal Ilmiah Kedokteran Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan*, 3(1), 11-22.

Poeloengan M, Praptiwi P. 2012. Uji aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* Linn). *Media Litbang Kesehatan*.; 20(2). h. 65-9.

Pratiwi., Wulansari, D., & Chairul. 2010. Toxicity effect of *Centella asiatica* Linn. extract on mice (*Mus musculus*) organ and tissue. *Indonesian Journal of Pharmacy*, 40-47.

Pratiwi, E. W., Praharani, D., & Arina, Y. M. D. A. 2015. Daya Hambat Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Adhesi Bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada Neutrofil (Inhibition of Papaya (*Carica papaya* L.) Leaves Extract on Adhesion of *Porphyromonas gingivalis* Bacteria to Neutrophils). *Pustaka Kesehatan*, 3(2), 193-198.

Prayudo, A. N., & Novian, O. 2018. Koefisien transfer massa kurkumin dari temulawak. *Widya Teknik*, 14(1), 26-31.

Quamilla, N. 2016. Stres dan kejadian periodontitis (kajian literatur). *Journal Of Syiah Kuala Dentistry Society*, 1(2), 161-168.

Rafiei, M., Kiani, F., Sayehmiri, F., Sayehmiri, K., Sheikhi, A., & Azodi, M. Z. 2017. Study of *Porphyromonas gingivalis* in



periodontal diseases: A systematic review and meta-analysis. Medical journal of the Islamic Republic of Iran, 31, 62.

Rahman, F. A., Haniastuti, T., & Utami, T. W. 2017. Skrining fitokimia dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) pada *Streptococcus mutans* ATCC 35668. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*, 3(1), 1-7.

Reddy Shantipriya. 2011. *Essentials Of Clinical Periodontology And Periodontics, 3rd edition*. Jaypee Brothers Co. India, pp:221.

Rodriguez, M. H. M. 2017. *Microbiology for Surgical Technologist*. USA : Cengage Learning

Sani, R. N., Nisa, F. C., Andriani, R. D., dan Madigan, J. M. 2013. Analisis reedmen dan skrining fitokimia ekstrak etanol mikroalga laut (*Tetraselmis chui*). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 2 (2): 121-126

Saputra, O., & Anggraini, N. 2016. Khasiat Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap Penyembuhan Acne Vulgaris. *Jurnal Majority*, 5(1), 76-80.

Sholikhah, L. L. 2014. *Pengaruh Fe²⁺ pada media MS dengan penambahan 2, 4-D yang dikombinasikan dengan air kelapa terhadap perkembangan dan kandungan metabolit sekunder asiatikosida dan madekasosida kalus pegagan (*Centella asiatica* L. Urban)* (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).



Simbara, A., Septiyaningrum, D., & Setyowati, E. (2020). Uji AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 70% DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica* L. Urban) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* ATCC 25922. *Proceeding of The URECOL*, 225-227.

Soleha, T. U. 2015. Uji kepekaan terhadap antibiotik. *Juke Unila*, 5(9), 119-123

Sudarmi, K., Darmayasa, I. B. G., & Muksi, I. K. (2017). Uji fitokimia dan daya hambat ekstrak daun juwet (*Syzygium cumini*) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* ATCC. *Jurnal Simbiosis*, 2(47-51).

Sutardi, S. 2016. Kandungan Bahan Aktif TanKandungan Bahan Aktif Tanaman Pegagan Dan Khasiatnya Untuk Meningkatkan Sistem Imun Tubuh dan Khasiatnya untuk Meningkatkan Sistem Imun Tubuh. *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian*, 35(3), 121-130.

Sutrisno, E., Adnyana, I.K., Sukandar, E.Y., Fidrianny, I & Lestari, T. 2014. KAJIAN AKTIVITAS PENYEMBUHAN LUKA DAN ANTIBAKTERI BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) STEENIS, PEGAGAN (*Centella asiatica* (L.) Urban) SERTA KOMBINASINYA TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Pseudomonas aeruginosa* DARI PASIEN LUKA KAKI DIABETES. *Bionatura-Jurnal Ilmu-ilmu Hayati dan Fisik*, 16 (2), 78 – 82.



Tani, P., Wowor, P., & Khoman, J. 2017. Uji Daya Hambat Daging Buah Sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Porphyromonas gingivalis*. PHARMACON, 6(3).

Tedjasulaksana, R. 2016. Metronidasol sebagai salah satu obat pilihan untuk periodontitis marginalis. Jurnal Kesehatan Gigi Vol, 4(1).

Tetti, M. 2014. Ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif. Jurnal Kesehatan, 7(2).

Wahyuningrum, M. R., & Probosari, E. 2012. Pengaruh pemberian buah pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap kadar trigliserida pada tikus Sprague Dawley dengan hiperkolesterolemia (Doctoral dissertation, Diponegoro University).

Walters, J., & Lai, P. C. (2015). Should antibiotics be prescribed to treat chronic periodontitis?. *Dental Clinics*, 59(4), 919-933.

Wang, Q., Jin, J., Dai, N., Han, N., Han, J., & Bao, B. 2016. Anti-inflammatory effects, nuclear magnetic resonance identification, and high-performance liquid chromatography isolation of the total flavonoids from *Artemisia frigida*. *Journal of food and drug analysis*, 24(2), 385-391.

Wasita, I. K. S., & Hendrayana, I. M. A. 2016. Identifikasi Bakteri *Escherichia Coli* Serotipe 0157 Dengan Media Sorbitol Mac Conkey Agar (Smac) Pada Jamu Beras Kencur Dari Pedagang Jam Gendong Di Kota Denpasar. *E-Jurnal Medika*, 5(11), 1-6.



Xu, X., Tong, T., Yang, X., Pan, Y., Lin, L., & Li, C. 2017. Differences in survival, virulence and biofilm formation between sialidase-deficient and W83 wild-type *Porphyromonas gingivalis* strains under stressful environmental conditions. BMC microbiology, 17(1), 178.



LAMPIRAN

Lampiran 1

SURAT KETERANGAN ANALISA KUALITATIF

Thermo
SCIENTIFIC

Certificate of Quality

Product Name: P. gingivalis ATCC 33277 PK/5
Lot Number: 779573**Product Number:** R4609008
Expiration Date: 2021-06-30
(YYYY-MM-DD)

This product has been manufactured, processed and packaged in accordance with Quality Systems Regulation, 21 CFR Part 820. Representative samples were tested per Remel Quality Control specifications and were found to meet performance criteria for this product.

Purity:

Standardized aliquots of the rehydrated product are inoculated onto nonselective media and examined for pure growth following the appropriate incubation. Selective and Differential media are also tested where applicable.

Viability And Quantification:

Each organism is recovered from the preserved state within the required time frame and at an acceptable level. Passage number is stated as the current preserved state.

Macroscopic And Microscopic Morphology:

Colony morphology is consistent with documented referenced description. Traditional staining is performed.

Biochemical Analysis:

Organism exhibits characteristic biochemical and/or enzymatic reactions. Automated and/or conventional testing was performed and results were within established limits. Antimicrobial testing performed where applicable. Results within expected ranges.

CFU/loop: >10(4)

Passage: 3

Gram Reaction: Gram Negative Rod

Biochemical Profile: Remel RapID ANA II

Appearance: Preserved Gel Matrix suspended in inoculating loop
pH: N/A

Signed

Product Performance Technologist

Lampiran 2

SURAT KETERANGAN ANALISA KUANTITATIF



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
RESEARCH CENTER

Jalan Mayjen.Prof.Dr.Moestopo 47 Surabaya 60132 Telp. (031) 5030255, Fax (031) 5020256
Website : <http://www.fkg.unair.id> – E-mail : fkgua.skrt@gmail.com

Menerangkan bahwa mahasiswa tersebut dibawah ini telah melakukan penelitian di
Laboratorium *Research Center* FKG Unair.

Nama : Kezia Tifani Depari

NIM : 175160100111025

Judul : Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L). Urb)
Untuk Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Porphyromonas gingivalis* Secara
InVitro

TABEL HASIL PENELITIAN

| No. | Kontrol (+) | Kontrol (-) | 100 | 50 | 25 | 12,5 | 6,25 |
|-----|-------------|-------------|-----|----|----|------|------|
| 1. | - | 168 | - | - | - | 22 | 37 |

| No. | Kontrol (+) | Kontrol (-) | 25 | 22,5 | 20 | 17,5 | 15 | 12,5 |
|-----|-------------|-------------|----|------|----|------|----|------|
| 1. | - | 182 | - | - | - | 9 | 23 | 28 |
| 2. | - | 178 | - | - | - | 10 | 21 | 29 |
| 3. | - | 166 | - | - | - | 10 | 24 | 33 |
| 4. | - | 162 | - | - | - | 10 | 20 | 34 |

NB : Nilai dalam CFU/ml

Demikian hasil penelitian yang telah dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi *Research Center* FKG Unair untuk dipergunakan sebagaimana perlunya.

Analisis Research Center

Eta Radhianto, A.Md
NIP.198409262018013101

Penanggung Jawab :

Dr. Hendrik Setia Budi, drg., M.Kes
NIP. 197206101999031002

Lampiran 3

SURAT KETERANGAN DETERMINASI TANAMAN



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL, MATERIA MEDICA BATU
Jalan Lahor No 87 Telp. (0341) 593396
KOTA BATU 65313

Nomor : 074/496/A/102.7/2020
Sifat : Dinas
Perihal : Determinasi Tanaman Pegagan

Memenuhi permohonan saudara

Nama : KEZIA TIFANI DEPARI
NIM : 175160100111025
Fakultas : FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI, UNIVERSITAS BRAWIJAYA

1. Perihal determinasi tanaman pegagan

| | |
|-------------------|---|
| Kingdom | : Plantae (Tumbuhan) |
| Subkingdom | : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh) |
| Super Divisi | : Spermatophyta (Menghasilkan biji) |
| Divisi | : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga) |
| Kelas | : Dicotyledonae |
| Bangsa | : Umbellales |
| Suku | : Umbelliferae |
| Marga | : Centella |
| Jenis | : <i>Centella asiatica</i> (L.) Urban. |
| Nama Daerah | : Pegagan, gagan-gagan, rendeng, kerok batok (Jawa), daun kaki kuda (Indonesia), pegaga (Ujung Pandang), antanan gede, antanan rambut (Sunda), dau tungke (Bugis), kos lekosan (Madura), kori-kori (Halmahera). |
| Kunci Determinasi | : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-16a-239b-243b-244b-248b- 249b-250b-266b-267a-268a-269a-2b-3. |

2. Morfologi
Pegagan merupakan tera menahun, tanpa batang, tetapi dengan rimpang penèak dan stolon-stolen yang merayap dengan panjang 10-80 cm. Akar keluar dari setiap bonggol, banyak bercabang yang membentuk tumbuhan baru. Helai daun tunggal, bertangkai panjang sekitar 5-15 cm berbentuk ginjal. Tepinya bergerigi atau beringgit, dengan penampang 1-7 cm tersusun dalam roset yang terdiri atas 2-10 helai daun, kadang-kadang agak berambut. Bunga berwarna putih atau merah muda, tersusun dalam karangan berupa payung, tunggal atau 3-5 bersama-sama keluar dari ketiak daun. Tangkai bunga 5-30 mm. Buah kecil bergantungan yang berbentuk lonjong/pipih panjang 2-2,5 mm, baunya wangi dan rasanya pahit.

3. Bagian yang digunakan : Daun

4. Penggunaan : Penelitian.

5. Daftar Pustaka

- Anonim. 1977. *Materia Medica Indonesia "Jilid 1"*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Anonim. 2007. *Serial Tanaman Obat "PEGAGAN"*. Badan POM Republik Indonesia.
- Van Steenis, C.G.G.J. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya

Batu, 28 September 2020

KEPALA UPT LABORATORIUM HERBAL,
MATERIA MEDICA BATU





PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL
MATERIA MEDICA BATU

Jalan Labor No.87 Telp/Fax (0341) 593396. Batu 65313
KOTA BATU

Nomor : 074 / 010 / 102.7-C / 2021
Sifat : Biasa
Perihal : Surat Keterangan Ekstrak Pegangan

Bersama ini kami sampaikan hasil ekstraksi berikut ini :

1. Identitas Pemohon

Nama : Kezia Tifani Depari
NIM : 175160100111025
Instansi : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya

2. Identitas Sampel

Nama daerah sampel : Pegangan
Nama latin : *Centella asiatica*
Bentuk sampel : serbuk
Bagian sampel : daun
Jumlah sampel : 400 gram

3. Hasil

| No. | Parameter | Hasil |
|-----|--------------------------|------------|
| 1 | Proses | |
| | a. Metode | Maserasi |
| | b. Jumlah perlakuan | 1 Kali |
| | c. Pelarut | Etanol 70% |
| | d. Jumlah pelarut | 2400 ml |
| | e. Waktu evaporasi | 1jam |
| 2 | Hasil | |
| | f. Bentuk sediaan | cair |
| | g. Bahan tambahan | - |
| | h. Jumlah bahan tambahan | - |
| | i. Berat | 88 ml |
| | j. Rendemen | 22% |

4. Pustaka

- Ditjen POM, 1986. "Sediaan Galenik", Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Sudjadi, 1986. "Metode Pemisahan", UGM Press, Yogyakarta.
- Nugroho, Agung. 2017. "Teknologi Bahan Alam". Lambung Mangkurat University Press. Banjarmasin.

Demikian disampaikan untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 17 Februari 2021



ABSENDI MABRUR, SKM, M.Kes.

NIP. 19680203 199203 1 004



Lampiran 4

DOKUMENTASI PENELITIAN



Hasil Ekstrak Daun Pegagan



Kultur Bakteri



Penyetaraan Standart Mcfarland



Pengisian Suspensi Bakteri



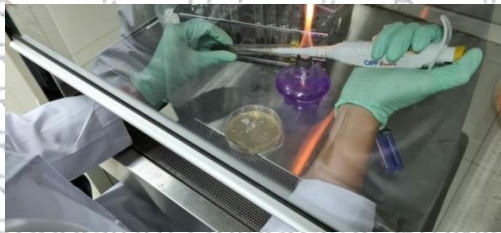
Pengambilan Ekstrak

Daun Pegagan



Penambahan Ekstrak Daun

Pegagan



Penanaman Suspensi Bakteri

Pada Media Agar



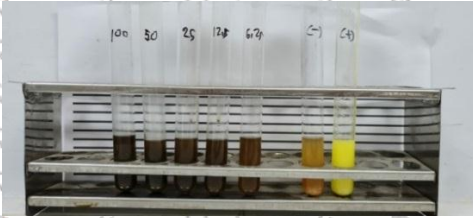
Penanaman Suspensi Bakteri

Pada Media Agar



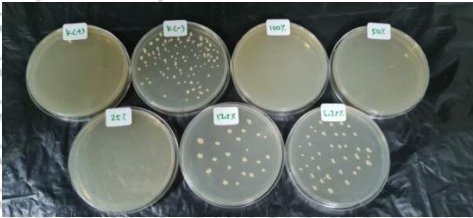
Spreading Bakteri

Pada Media Agar



Hasil Uji Pendahuluan

Pada Tabung



Hasil Pertumbuhan Koloni

Bakteri Pada Uji Pendahuluan



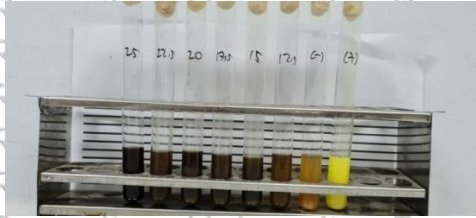
Hasil Uji Lanjutan Pada
Tabung Pengulangan 1



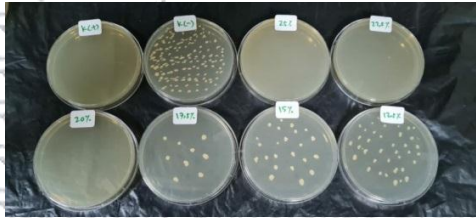
Hasil Uji Lanjutan Pada
Tabung Pengulangan 2



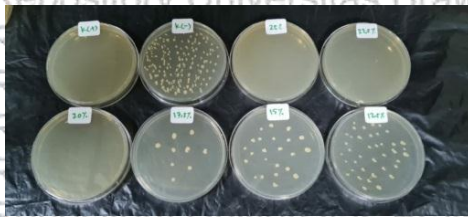
Hasil Uji Lanjutan Pada
Tabung Pengulangan 3



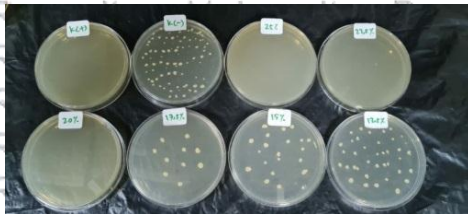
Hasil Uji Lanjutan Pada
Tabung Pengulangan 4



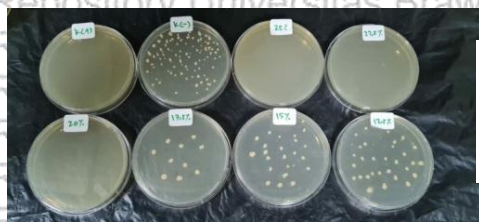
Hasil Pertumbuhan Koloni
Bakteri Pada Uji Lanjutan
Pengulangan 1



Hasil Pertumbuhan Koloni
Bakteri Pada Uji Lanjutan
Pengulangan 2



Hasil Pertumbuhan Koloni
Bakteri Pada Uji Lanjutan
Pengulangan 3



Hasil Pertumbuhan Koloni
Bakteri Pada Uji Lanjutan
Pengulangan 4



Lampiran 5

HASIL UJI STATISTIKA

Hasil Uji Normalitas Data Saphiro-Wilk

Tests of Normality^{b,c,d,e}

| | Konsentra si Ekstrak | Kolmogorov- Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|---------------------|-------------------------|-------------------------------------|----|------|--------------|----|------|
| | | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| Pertumbuhan Bakteri | Kontrol | | | | | | |
| | Negatif | ,236 | 4 | . | ,911 | 4 | ,488 |
| | Konsentrasi 12,5% | ,252 | 4 | . | ,882 | 4 | ,348 |
| | Konsentrasi 15% | ,208 | 4 | . | ,950 | 4 | ,714 |
| | Konsentrasi 17,5% | ,441 | 4 | . | ,630 | 4 | ,001 |

a. Lilliefors Significance Correction

b. Pertumbuhan Bakteri is constant when Konsentrasi Ekstrak = Konsentrasi 20%. It has been omitted.

c. Pertumbuhan Bakteri is constant when Konsentrasi Ekstrak = Konsentrasi 22,5%. It has been omitted.

d. Pertumbuhan Bakteri is constant when Konsentrasi Ekstrak = Konsentrasi 25%. It has been omitted.

e. Pertumbuhan Bakteri is constant when Konsentrasi Ekstrak = Kontrol Positif. It has been omitted.



Hasil Uji Homogenitas Levene

Test of Homogeneity of Variances

Pertumbuhan Bakteri

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 40,340 | 7 | 24 | ,000 |

Hasil Uji Kruskal Wallis

Kruskal-Wallis Test

Ranks

| | Konsentrasi Ekstrak | N | Mean Rank |
|--|---------------------|----|-----------------|
| | Pertumbuhan Bakteri | | Kontrol Negatif |
| | Konsentrasi 12,5% | 4 | 26,50 |
| | Konsentrasi 15% | 4 | 22,50 |
| | Konsentrasi 17,5% | 4 | 18,50 |
| | Konsentrasi 20% | 4 | 8,50 |
| | Konsentrasi 22,5% | 4 | 8,50 |
| | Konsentrasi 25% | 4 | 8,50 |
| | Kontrol Positif | 4 | 8,50 |
| | Total | 32 | |

Test Statistics^{a,b}



| | |
|-------------|------------------------|
| | Pertumbuhan Bakteri |
| Chi-Square | 30,766 |
| df | 7 |
| Asymp. Sig. | ,000 |

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

Konsentrasi Ekstrak

Hasil Uji Korelasi Spearman
Nonparametric Correlations

Correlations

| | | | Pertumbuhan Bakteri | Konsentrasi Ekstrak |
|-----------------|------------------------|-----------------|------------------------|------------------------|
| Spearman rho | Pertumbuhan Bakteri | Correlation | 1,000 | -,935** |
| | | Coefficient | . | ,000 |
| | | Sig. (2-tailed) | . | ,000 |
| | | N | 32 | 32 |
| | Konsentrasi Ekstrak | Correlation | -,935** | 1,000 |
| | | Coefficient | ,000 | . |
| | | Sig. (2-tailed) | ,000 | . |
| | | N | 32 | 32 |

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).



| Konsentrasi Ekstrak | | Hasil Uji Mann Whitney | | | | |
|---------------------|-----------------|---|---------------------|-----------|--------------|-------|
| 12,5 % | Kontrol Negatif | Ranks | | | | |
| | | Konsentrasi Ekstrak | N | Mean Rank | Sum of Ranks | |
| | | Pertumbuhan Bakteri | Kontrol Negatif | 4 | 6,50 | 26,00 |
| | | | Konsentrasi 12,5% | 4 | 2,50 | 10,00 |
| | | | Total | 8 | | |
| | | Test Statistics^a | | | | |
| | | | Pertumbuhan Bakteri | | | |
| | | Mann-Whitney U | ,000 | | | |
| | | Wilcoxon W | 10,000 | | | |
| | | Z | -2,309 | | | |
| | | Asymp. Sig. (2-tailed) | ,021 | | | |
| | | Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,029 ^b | | | |
| | | a. Grouping Variable: Konsentrasi Ekstrak | | | | |
| | | b. Not corrected for ties. | | | | |
| 15% | | Ranks | | | | |



| | Konsentra si Ekstrak | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-------------------------|-------------------------|---|--------------|-----------------|
| Pertumbuh an Bakteri | Konsentra si 12,5% | 4 | 6,50 | 26,00 |
| | Konsentra si 15% | 4 | 2,50 | 10,00 |
| | Total | 8 | | |

Test Statistics^a

| | Pertumbuhan Bakteri |
|-----------------------------------|------------------------|
| Mann-Whitney U | ,000 |
| Wilcoxon W | 10,000 |
| Z | -2,309 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | ,021 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,029 ^b |

a. Grouping Variable: Konsentrasi Ekstrak
b. Not corrected for ties.

17,5%

Ranks

| | Konsentrasi Ekstrak | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-------------------------|------------------------|---|--------------|-----------------|
| Pertumbuha n Bakteri | Konsentrasi 12,5% | 4 | 6,50 | 26,00 |



| | | | |
|-------------|---|------|-------|
| Konsentrasi | 4 | 2,50 | 10,00 |
| 17,5% | | | |
| Total | 8 | | |

Test Statistics^a

| | Pertumbuhan Bakteri |
|-----------------------------------|------------------------|
| Mann-Whitney U | ,000 |
| Wilcoxon W | 10,000 |
| Z | -2,366 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | ,018 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,029 ^b |

a. Grouping Variable: Konsentrasi Ekstrak

b. Not corrected for ties.

20%

Ranks

| | Konsentras i Ekstrak | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-------------------------|-------------------------|---|--------------|-----------------|
| Pertumbuha n Bakteri | Konsentras i 12,5% | 4 | 6,50 | 26,00 |
| | Konsentras i 20% | 4 | 2,50 | 10,00 |
| | Total | 8 | | |



| | | Test Statistics^a | | | |
|---------------------|-------|---|---|-----------|-------------------|
| | | Pertumbuhan Bakteri | | | |
| | | Mann-Whitney U | | | ,000 |
| | | Wilcoxon W | | | 10,000 |
| | | Z | | | -2,460 |
| | | Asymp. Sig. (2-tailed) | | | ,014 |
| | | Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | | | ,029 ^b |
| | | a. Grouping Variable: Konsentrasi Ekstrak | | | |
| | | b. Not corrected for ties. | | | |
| | 22,5% | Ranks | | | |
| | | Konsentrasi Ekstrak | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
| Pertumbuhan Bakteri | | Konsentrasi 12,5% | 4 | 6,50 | 26,00 |
| | | Konsentrasi 22,5% | 4 | 2,50 | 10,00 |
| | | Total | 8 | | |
| | | Test Statistics^a | | | |
| | | Pertumbuhan Bakteri | | | |
| | | Mann-Whitney U | | | ,000 |



| | Wilcoxon W | 10,000 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------------------|---|---------------------|-----------|--------------|--|---------------------|---|-----------|--------------|---------------------|-------------------|---|------|-------|-----------------|---|------|-------|-------|---|--|--|
| | Z | -2,460 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Asymp. Sig. (2-tailed) | ,014 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,029 ^b | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | a. Grouping Variable: Konsentrasi Ekstrak | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | b. Not corrected for ties. | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 25% | Ranks | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Konsentrasi Ekstrak</th> <th>N</th> <th>Mean Rank</th> <th>Sum of Ranks</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="3">Pertumbuhan Bakteri</td> <td>Konsentrasi 12,5%</td> <td>4</td> <td>6,50</td> <td>26,00</td> </tr> <tr> <td>Konsentrasi 25%</td> <td>4</td> <td>2,50</td> <td>10,00</td> </tr> <tr> <td>Total</td> <td>8</td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table> | | | | | Konsentrasi Ekstrak | N | Mean Rank | Sum of Ranks | Pertumbuhan Bakteri | Konsentrasi 12,5% | 4 | 6,50 | 26,00 | Konsentrasi 25% | 4 | 2,50 | 10,00 | Total | 8 | | |
| | Konsentrasi Ekstrak | N | Mean Rank | Sum of Ranks | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Pertumbuhan Bakteri | Konsentrasi 12,5% | 4 | 6,50 | 26,00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Konsentrasi 25% | 4 | 2,50 | 10,00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Total | 8 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Test Statistics^a | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | Pertumbuhan Bakteri | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Mann-Whitney U | ,000 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Wilcoxon W | 10,000 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Z | -2,460 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Asymp. Sig. (2-tailed) | ,014 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |



| | | | | | |
|-------|---------------------|--|---------------------|-----------|--------------|
| 15% | Kontrol Negatif | Ranks | | | |
| | | Konsentrasi Ekstrak | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
| | Pertumbuhan Bakteri | Kontrol Negatif | 4 | 6,50 | 26,00 |
| | | Konsentrasi 15% | 4 | 2,50 | 10,00 |
| | | Total | 8 | | |
| | | Test Statistics^a | | | |
| | | | Pertumbuhan Bakteri | | |
| | | Mann-Whitney U | ,000 | | |
| | | Wilcoxon W | 10,000 | | |
| | | Z | -2,309 | | |
| | | Asymp. Sig. (2-tailed) | ,021 | | |
| | | Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,029 ^b | | |
| | | <p>a. Grouping Variable: Konsentrasi Ekstrak</p> <p>b. Not corrected for ties.</p> | | | |
| 17,5% | | | | | |



| Ranks | | | | |
|---|---------------------|---|-----------|--------------|
| | Konsentrasi Ekstrak | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
| Pertumbuhan Bakteri | Konsentrasi 15% | 4 | 6,50 | 26,00 |
| | Konsentrasi 17,5% | 4 | 2,50 | 10,00 |
| | Total | 8 | | |
| Test Statistics ^a | | | | |
| | Pertumbuhan Bakteri | | | |
| Mann-Whitney U | ,000 | | | |
| Wilcoxon W | 10,000 | | | |
| Z | -2,366 | | | |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | ,018 | | | |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,029 ^b | | | |
| a. Grouping Variable: Konsentrasi Ekstrak | | | | |
| b. Not corrected for ties. | | | | |
| 20% | Ranks | | | |
| | Konsentrasi Ekstrak | N | Mean Rank | Sum of Ranks |



| | | | | | |
|--|---------------------|-----------------|---|------|-------|
| | Pertumbuhan Bakteri | Konsentrasi 15% | 4 | 6,50 | 26,00 |
| | | Konsentrasi 20% | 4 | 2,50 | 10,00 |
| | | Total | 8 | | |
| | | | | | |

Test Statistics^a

| | Pertumbuhan Bakteri |
|--------------------------------|---------------------|
| Mann-Whitney U | ,000 |
| Wilcoxon W | 10,000 |
| Z | -2,460 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | ,014 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,029 ^b |

a. Grouping Variable: Konsentrasi Ekstrak

b. Not corrected for ties.

22,5%

Ranks

| | Konsentrasi Ekstrak | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|---------------------|---------------------|---|-----------|--------------|
| Pertumbuhan Bakteri | Konsentrasi 15% | 4 | 6,50 | 26,00 |
| | Konsentrasi 22,5% | 4 | 2,50 | 10,00 |



| | | Total | 8 | | |
|---|---------------------|---------------------|-----------|--------------|--|
| Test Statistics^a | | | | | |
| | | Pertumbuhan Bakteri | | | |
| Mann-Whitney U | | ,000 | | | |
| Wilcoxon W | | 10,000 | | | |
| Z | | -2,460 | | | |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | | ,014 | | | |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | | ,029 ^b | | | |
| a. Grouping Variable: Konsentrasi Ekstrak | | | | | |
| b. Not corrected for ties. | | | | | |
| 25% | | Ranks | | | |
| | Konsentrasi Ekstrak | N | Mean Rank | Sum of Ranks | |
| Pertumbuhan Bakteri | Konsentrasi 15% | 4 | 6,50 | 26,00 | |
| | Konsentrasi 25% | 4 | 2,50 | 10,00 | |
| | Total | 8 | | | |



| | | Test Statistics^a | | | |
|---------------------|-----------------|---|-------------------|-----------|--------------|
| | | Pertumbuhan Bakteri | | | |
| | | Mann-Whitney U | ,000 | | |
| | | Wilcoxon W | 10,000 | | |
| | | Z | -2,460 | | |
| | | Asymp. Sig. (2-tailed) | ,014 | | |
| | | Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,029 ^b | | |
| | | a. Grouping Variable: Konsentrasi Ekstrak | | | |
| | | b. Not corrected for ties. | | | |
| Kontrol Positif | Ranks | | | | |
| | | Konsentrasi Ekstrak | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
| Pertumbuhan Bakteri | Konsentrasi 15% | 4 | 6,50 | 26,00 | |
| | Kontrol Positif | 4 | 2,50 | 10,00 | |
| | Total | 8 | | | |
| | | Test Statistics^a | | | |
| | | Pertumbuhan Bakteri | | | |
| | | Mann-Whitney U | ,000 | | |



| | | Wilcoxon W | 10,000 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------------------|---------------------|---|---------------------|--------------|--|---------------------|---|-----------|--------------|---------------------|-----------------|---|------|-------|-------------------|---|------|-------|--|-------|---|--|--|
| | | Z | -2,460 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | Asymp. Sig. (2-tailed) | ,014 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,029 ^b | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | a. Grouping Variable: Konsentrasi Ekstrak | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | b. Not corrected for ties. | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 17,5 % | Kontrol Negatif | Ranks | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Konsentrasi Ekstrak</th> <th>N</th> <th>Mean Rank</th> <th>Sum of Ranks</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="2">Pertumbuhan Bakteri</td> <td>Kontrol Negatif</td> <td>4</td> <td>6,50</td> <td>26,00</td> </tr> <tr> <td>Konsentrasi 17,5%</td> <td>4</td> <td>2,50</td> <td>10,00</td> </tr> <tr> <td></td> <td>Total</td> <td>8</td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table> | | | | Konsentrasi Ekstrak | N | Mean Rank | Sum of Ranks | Pertumbuhan Bakteri | Kontrol Negatif | 4 | 6,50 | 26,00 | Konsentrasi 17,5% | 4 | 2,50 | 10,00 | | Total | 8 | | |
| | Konsentrasi Ekstrak | N | Mean Rank | Sum of Ranks | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Pertumbuhan Bakteri | Kontrol Negatif | 4 | 6,50 | 26,00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Konsentrasi 17,5% | 4 | 2,50 | 10,00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Total | 8 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | Test Statistics^a | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | Pertumbuhan Bakteri | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | Mann-Whitney U | ,000 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | Wilcoxon W | 10,000 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | Z | -2,366 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | Asymp. Sig. (2-tailed) | ,018 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |



22,5%

Ranks

| | Konsentrasi Ekstrak | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|---------------------|---------------------|---|-----------|--------------|
| Pertumbuhan Bakteri | Konsentrasi 17,5% | 4 | 6,50 | 26,00 |
| | Konsentrasi 22,5% | 4 | 2,50 | 10,00 |
| | Total | 8 | | |

Test Statistics^a

| | Pertumbuhan Bakteri |
|--------------------------------|---------------------|
| Mann-Whitney U | ,000 |
| Wilcoxon W | 10,000 |
| Z | -2,530 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | ,011 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,029 ^b |

a. Grouping Variable: Konsentrasi Ekstrak

b. Not corrected for ties.

25%

Ranks



| | Konsentrasi Ekstrak | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|---------------------|---------------------|---|-----------|--------------|
| Pertumbuhan Bakteri | Konsentrasi 17,5% | 4 | 6,50 | 26,00 |
| | Konsentrasi 25% | 4 | 2,50 | 10,00 |
| | Total | 8 | | |

Test Statistics^a

| | Pertumbuhan Bakteri |
|--------------------------------|---------------------|
| Mann-Whitney U | ,000 |
| Wilcoxon W | 10,000 |
| Z | -2,530 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | ,011 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,029 ^b |

a. Grouping Variable: Konsentrasi Ekstrak

b. Not corrected for ties.

Kontrol Positif

Ranks

| | Konsentrasi Ekstrak | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|---------------------|---------------------|---|-----------|--------------|
| Pertumbuhan Bakteri | Konsentrasi 17,5% | 4 | 6,50 | 26,00 |



| | | <table border="1"> <tbody> <tr> <td>Kontrol Positif</td> <td>4</td> <td>2,50</td> <td>10,00</td> </tr> <tr> <td>Total</td> <td>8</td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table> | Kontrol Positif | 4 | 2,50 | 10,00 | Total | 8 | | | | | | | | | | | | | | |
|--------------------------------|---------------------|---|-----------------|--------------|---------------------|----------------|-----------|--------------|---------------------|-----------------|--------|------------------------|-------|--------------------------------|-------------------|------|-------|--|-------|---|--|--|
| Kontrol Positif | 4 | 2,50 | 10,00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Total | 8 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | Test Statistics^a | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Pertumbuhan Bakteri</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Mann-Whitney U</td> <td>,000</td> </tr> <tr> <td>Wilcoxon W</td> <td>10,000</td> </tr> <tr> <td>Z</td> <td>-2,530</td> </tr> <tr> <td>Asymp. Sig. (2-tailed)</td> <td>,011</td> </tr> <tr> <td>Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]</td> <td>,029^b</td> </tr> </tbody> </table> | | | Pertumbuhan Bakteri | Mann-Whitney U | ,000 | Wilcoxon W | 10,000 | Z | -2,530 | Asymp. Sig. (2-tailed) | ,011 | Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,029 ^b | | | | | | | |
| | Pertumbuhan Bakteri | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Mann-Whitney U | ,000 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Wilcoxon W | 10,000 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Z | -2,530 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | ,011 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,029 ^b | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | <p>a. Grouping Variable: Konsentrasi Ekstrak</p> <p>b. Not corrected for ties.</p> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 20% | Kontrol Negatif | Ranks | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Konsentrasi Ekstrak</th> <th>N</th> <th>Mean Rank</th> <th>Sum of Ranks</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="2">Pertumbuhan Bakteri</td> <td>Kontrol Negatif</td> <td>4</td> <td>6,50</td> <td>26,00</td> </tr> <tr> <td>Konsentrasi 20%</td> <td>4</td> <td>2,50</td> <td>10,00</td> </tr> <tr> <td></td> <td>Total</td> <td>8</td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table> | | | Konsentrasi Ekstrak | N | Mean Rank | Sum of Ranks | Pertumbuhan Bakteri | Kontrol Negatif | 4 | 6,50 | 26,00 | Konsentrasi 20% | 4 | 2,50 | 10,00 | | Total | 8 | | |
| | Konsentrasi Ekstrak | N | Mean Rank | Sum of Ranks | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Pertumbuhan Bakteri | Kontrol Negatif | 4 | 6,50 | 26,00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Konsentrasi 20% | 4 | 2,50 | 10,00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Total | 8 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |



| | | Test Statistics^a | | | |
|---|-------------------|------------------------------------|---|-----------|-------------------|
| | | Pertumbuhan Bakteri | | | |
| | | Mann-Whitney U | | | ,000 |
| | | Wilcoxon W | | | 10,000 |
| | | Z | | | -2,460 |
| | | Asymp. Sig. (2-tailed) | | | ,014 |
| | | Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | | | ,029 ^b |
| a. Grouping Variable: Konsentrasi Ekstrak | | | | | |
| b. Not corrected for ties. | | | | | |
| | 22,5% | | | | |
| | | Ranks | | | |
| | | Konsentrasi Ekstrak | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
| Pertumbuhan Bakteri | Konsentrasi 20% | | 4 | 4,50 | 18,00 |
| | Konsentrasi 22,5% | | 4 | 4,50 | 18,00 |
| | Total | | 8 | | |
| | | Test Statistics^a | | | |
| | | Pertumbuhan Bakteri | | | |



| | | <table border="1"> <tbody> <tr> <td>Mann-Whitney U</td> <td>8,000</td> </tr> <tr> <td>Wilcoxon W</td> <td>18,000</td> </tr> <tr> <td>Z</td> <td>,000</td> </tr> <tr> <td>Asymp. Sig. (2-tailed)</td> <td>1,000</td> </tr> <tr> <td>Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]</td> <td>1,000^b</td> </tr> </tbody> </table> <p>a. Grouping Variable: Konsentrasi Ekstrak</p> <p>b. Not corrected for ties.</p> | Mann-Whitney U | 8,000 | Wilcoxon W | 18,000 | Z | ,000 | Asymp. Sig. (2-tailed) | 1,000 | Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | 1,000 ^b | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--------------------------------|---------------------|--|----------------|---------------------|------------|-----------|--------------|---------------------|------------------------|-------|--------------------------------|--------------------|-----------------|---|------|-------|-------|---|--|--|--|---------------------|----------------|-------|------------|--------|---|------|------------------------|-------|
| Mann-Whitney U | 8,000 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Wilcoxon W | 18,000 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Z | ,000 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | 1,000 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | 1,000 ^b | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 25% | | <p style="text-align: center;">Ranks</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Konsentrasi Ekstrak</th> <th>N</th> <th>Mean Rank</th> <th>Sum of Ranks</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="3">Pertumbuhan Bakteri</td> <td>Konsentrasi 20%</td> <td>4</td> <td>4,50</td> <td>18,00</td> </tr> <tr> <td>Konsentrasi 25%</td> <td>4</td> <td>4,50</td> <td>18,00</td> </tr> <tr> <td>Total</td> <td>8</td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table> <p style="text-align: center;">Test Statistics^a</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Pertumbuhan Bakteri</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Mann-Whitney U</td> <td>8,000</td> </tr> <tr> <td>Wilcoxon W</td> <td>18,000</td> </tr> <tr> <td>Z</td> <td>,000</td> </tr> <tr> <td>Asymp. Sig. (2-tailed)</td> <td>1,000</td> </tr> </tbody> </table> | | Konsentrasi Ekstrak | N | Mean Rank | Sum of Ranks | Pertumbuhan Bakteri | Konsentrasi 20% | 4 | 4,50 | 18,00 | Konsentrasi 25% | 4 | 4,50 | 18,00 | Total | 8 | | | | Pertumbuhan Bakteri | Mann-Whitney U | 8,000 | Wilcoxon W | 18,000 | Z | ,000 | Asymp. Sig. (2-tailed) | 1,000 |
| | Konsentrasi Ekstrak | N | Mean Rank | Sum of Ranks | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Pertumbuhan Bakteri | Konsentrasi 20% | 4 | 4,50 | 18,00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Konsentrasi 25% | 4 | 4,50 | 18,00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Total | 8 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Pertumbuhan Bakteri | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Mann-Whitney U | 8,000 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Wilcoxon W | 18,000 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Z | ,000 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | 1,000 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |



| | | | | | |
|-----------------|---|---------------------|---|-----------|--------------|
| | Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | 1,000 ^b | | | |
| | a. Grouping Variable: Konsentrasi Ekstrak b. Not corrected for ties. | | | | |
| Kontrol Positif | Ranks | | | | |
| | | Konsentrasi Ekstrak | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
| | Pertumbuhan Bakteri | Konsentrasi 20% | 4 | 4,50 | 18,00 |
| | | Kontrol Positif | 4 | 4,50 | 18,00 |
| | | Total | 8 | | |
| | Test Statistics^a | | | | |
| | | Pertumbuhan Bakteri | | | |
| | Mann-Whitney U | 8,000 | | | |
| | Wilcoxon W | 18,000 | | | |
| | Z | ,000 | | | |
| | Asymp. Sig. (2-tailed) | 1,000 | | | |
| | Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | 1,000 ^b | | | |
| | a. Grouping Variable: Konsentrasi Ekstrak | | | | |



| | | b. Not corrected for ties. | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------------------|---------------------|--|---------------------|---------------------|----------------|--------------|-------------------------------------|--------|------|--------|------------------------|------|--------------------------------|-------------------|-------|---|--|--|
| 22,5 % | Kontrol Negatif | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | Ranks | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | <table border="1"> <thead> <tr> <th>Konsentrasi Ekstrak</th> <th>N</th> <th>Mean Rank</th> <th>Sum of Ranks</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Pertumbuhan Bakteri Kontrol Negatif</td> <td>4</td> <td>6,50</td> <td>26,00</td> </tr> <tr> <td>Konsentrasi 22,5%</td> <td>4</td> <td>2,50</td> <td>10,00</td> </tr> <tr> <td>Total</td> <td>8</td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table> | Konsentrasi Ekstrak | N | Mean Rank | Sum of Ranks | Pertumbuhan Bakteri Kontrol Negatif | 4 | 6,50 | 26,00 | Konsentrasi 22,5% | 4 | 2,50 | 10,00 | Total | 8 | | |
| Konsentrasi Ekstrak | N | Mean Rank | Sum of Ranks | | | | | | | | | | | | | | | |
| Pertumbuhan Bakteri Kontrol Negatif | 4 | 6,50 | 26,00 | | | | | | | | | | | | | | | |
| Konsentrasi 22,5% | 4 | 2,50 | 10,00 | | | | | | | | | | | | | | | |
| Total | 8 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | Test Statistics^a | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Pertumbuhan Bakteri</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Mann-Whitney U</td> <td>,000</td> </tr> <tr> <td>Wilcoxon W</td> <td>10,000</td> </tr> <tr> <td>Z</td> <td>-2,460</td> </tr> <tr> <td>Asymp. Sig. (2-tailed)</td> <td>,014</td> </tr> <tr> <td>Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]</td> <td>,029^b</td> </tr> </tbody> </table> | | Pertumbuhan Bakteri | Mann-Whitney U | ,000 | Wilcoxon W | 10,000 | Z | -2,460 | Asymp. Sig. (2-tailed) | ,014 | Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,029 ^b | | | | |
| | Pertumbuhan Bakteri | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Mann-Whitney U | ,000 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Wilcoxon W | 10,000 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Z | -2,460 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | ,014 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,029 ^b | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | a. Grouping Variable: Konsentrasi Ekstrak | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | b. Not corrected for ties. | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 25% | | | | | | | | | | | | | | | | | | |



| | | Ranks | | | |
|---|---------------------|------------------------------------|-----------|--------------|--------------|
| | | Konsentrasi Ekstrak | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
| Pertumbuhan Bakteri | Konsentrasi 22,5% | | 4 | 4,50 | 18,00 |
| | Konsentrasi 25% | | 4 | 4,50 | 18,00 |
| | Total | | 8 | | |
| | | Test Statistics^a | | | |
| | | Pertumbuhan Bakteri | | | |
| Mann-Whitney U | | 8,000 | | | |
| Wilcoxon W | | 18,000 | | | |
| Z | | ,000 | | | |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | | 1,000 | | | |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | | 1,000 ^b | | | |
| a. Grouping Variable: Konsentrasi Ekstrak | | | | | |
| b. Not corrected for ties. | | | | | |
| Kontrol Positif | Ranks | | | | |
| | Konsentrasi Ekstrak | N | Mean Rank | Sum of Ranks | |



| | | | | | |
|--|---------------------|-------------------|---|------|-------|
| | Pertumbuhan Bakteri | Konsentrasi 22,5% | 4 | 4,50 | 18,00 |
| | | Kontrol Positif | 4 | 4,50 | 18,00 |
| | | Total | 8 | | |
| | | | | | |

Test Statistics^a

| | Pertumbuhan Bakteri |
|--------------------------------|---------------------|
| Mann-Whitney U | 8,000 |
| Wilcoxon W | 18,000 |
| Z | ,000 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | 1,000 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | 1,000 ^b |

a. Grouping Variable: Konsentrasi Ekstrak

b. Not corrected for ties.

25% Kontrol Negatif

Ranks

| | Konsentrasi Ekstrak | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|---------------------|---------------------|---|-----------|--------------|
| Pertumbuhan Bakteri | Kontrol Negatif | 4 | 6,50 | 26,00 |
| | Konsentrasi 25% | 4 | 2,50 | 10,00 |



| | | Total | 8 | | |
|---|---------------------|----------------------------|-----------|--------------|--|
| Test Statistics^a | | | | | |
| | | Pertumbuhan Bakteri | | | |
| Mann-Whitney U | | ,000 | | | |
| Wilcoxon W | | 10,000 | | | |
| Z | | -2,460 | | | |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | | ,014 | | | |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | | ,029 ^b | | | |
| a. Grouping Variable: Konsentrasi Ekstrak | | | | | |
| b. Not corrected for ties. | | | | | |
| Kontrol Positif | Ranks | | | | |
| | Konsentrasi Ekstrak | N | Mean Rank | Sum of Ranks | |
| Pertumbuhan Bakteri | Konsentrasi 25% | 4 | 4,50 | 18,00 | |
| | Kontrol Positif | 4 | 4,50 | 18,00 | |
| | Total | 8 | | | |
| Test Statistics^a | | | | | |



| | | Pertumbuhan Bakteri | | |
|---|-----------------|--------------------------------|--------------------|--------------|
| | | Mann-Whitney U | 8,000 | |
| | | Wilcoxon W | 18,000 | |
| | | Z | ,000 | |
| | | Asymp. Sig. (2-tailed) | 1,000 | |
| | | Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | 1,000 ^b | |
| a. Grouping Variable: Konsentrasi Ekstrak | | | | |
| b. Not corrected for ties. | | | | |
| Kontrol negatif | Kontrol Positif | Ranks | | |
| | | Konsentrasi Ekstrak | N | Mean Rank |
| | | | | Sum of Ranks |
| | | Pertumbuhan Bakteri | | |
| | | Kontrol Negatif | 4 | 6,50 |
| | | Kontrol Positif | 4 | 2,50 |
| | | Total | 8 | 10,00 |
| Test Statistics^a | | | | |
| | | Pertumbuhan Bakteri | | |
| | | Mann-Whitney U | ,000 | |
| | | Wilcoxon W | 10,000 | |



| | |
|-----------------------------------|-------------------|
| Z | -2,460 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | ,014 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,029 ^b |

a. Grouping Variable: Konsentrasi Ekstrak

b. Not corrected for ties.