



**UJI EFEKTIVITAS ACEMANNAN SEBAGAI BAHAN  
IRIGASI SALURAN AKAR TERHADAP PERTUMBUHAN  
BAKTERI *Enterococcus faecalis* SECARA IN VITRO**

**SKRIPSI**

**UNTUK MEMENUHI PERSYARATAN**

**MEMPEROLEH GELAR SARJANA KEDOKTERAN GIGI**

**oleh:**

**Kristina Puspo**

**175160107111007**

**PROGRAM STUDI SARJANA KEDOKTERAN GIGI**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2020**



**HALAMAN PERSETUJUAN  
SKRIPSI**

**UJI EFEKTIVITAS ACEMANNAN SEBAGAI BAHAN  
IRIGASI SALURAN AKAR TERHADAP PERTUMBUHAN  
BAKTERI *Enterococcus faecalis* SECARA IN VITRO**

Oleh:

**KRISTINA PUSPO**

**175160107111007**

**MENYETUJUI,  
PEMBIMBING**

**Dr. drg. Yuli Nugraeni, Sp.KG**

**NIK 2009028129222001**

**HALAMAN PENGESAHAN  
SKRIPSI**

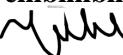
**UJI EFEKTIVITAS ACEMANNAN SEBAGAI BAHAN  
IRIGASI SALURAN AKAR TERHADAP PERTUMBUHAN  
BAKTERI *Enterococcus faecalis* SECARA IN VITRO**

Oleh:

**KRISTINA PUSPO**

**175160107111007**

Pembimbing



**Dr. drg. Yuli Nugraeni, Sp.KG**

**NIK. 2009028129222001**

Dosen Penguji I



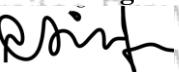
**drg. Diena F., M.Si**

**NIP. 2014058612292001**

Malang, 23 Desember 2020

Mengetahui,

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



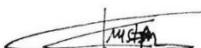
**drg. Citra Insany Irganda, M. Med. Ed**

**NIP. 198606232015042001**

## **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 dikemudian hari naskah skripsi ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur plagiasi, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 15 Desember 2020  
Yang membuat Pernyataan,



(Kristina Puspo)  
NIM. 175160107111007

## **ABSTRAK**

**Latar Belakang:** *Enterococcus faecalis* adalah salah satu bakteri fakultatif anaerob yang banyak ditemukan setelah perawatan saluran akar. Prevalensi kegagalan perawatan saluran akar yang disebabkan oleh *Enterococcus faecalis* 24-77%. Penggunaan acemannan dalam kedokteran gigi mulai berkembang beberapa tahun terakhir ini. Acemannan merupakan polisakarida yang diisolasi dari gel *Aloe vera* dan memiliki struktur rantai *acetylated mannose* yang panjang. Acemannan berperan sebagai antiinflamasi, antibakteri, antivirus, dan antikanker. Tujuan dari penelitian ini, untuk mengetahui efektivitas antibakteri dari acemannan terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*. **Metode:** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental Laboratorium. Bubuk acemannan yang digunakan dalam penelitian ini dilarutkan menggunakan akuades. Beberapa konsentrasi larutan acemannan yang digunakan dipenelitian ini adalah 200 µg/ml, 250 µg/ml, 300 µg/ml, 400 µg/ml, 500 µg/ml. Kontrol Positif menggunakan 5.25% Sodium hypochlorite (NaOCl) dan kontrol negatif menggunakan akuades. Kemudian semua kelompok perlakuan diuji terhadap *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 dengan metode serial dilusi dan penngoresan di cawan petri. Data dianalisis menggunakan pendekatan statistik Uji Kruskal Wallis dan Korelasi Spearman. **Hasil Penelitian:** Terdapat perbedaan yang signifikan ( $p \leq 0.05$ ) pada pertumbuhan *Enterococcus faecalis* antara kelompok yang diberi acemananan dan akuades. Peningkatan konsentrasi acemannan diikuti penurunan pertumbuhan bakteri yang signifikan ( $p \leq 0.05$ ), dengan Konsentrasi Hambat Minimal acemannan 300 µg/ml dan Konsentrasi Bunuh Minimal acemannan 400 µg/ml. **Kesimpulan:** pertumbuhan *Enterococcus faecalis* menurun secara signifikan setelah pemberian acemannan.

**Keywords:** Acemannan, Antimikroba, *Enterococcus faecalis*, Bahan Irigasi Saluran Akar

## ABSTRACT

**Introduction:** *Enterococcus faecalis* is one of anaerobic facultative bacteria that usually resists after root canal treatment. The prevalence of root canal treatment failure due to *Enterococcus faecalis* ranging from 24-77%. The use of acemannan in dentistry was developed several years. Acemannan is polysaccharides isolated from Aloe vera gel and is structured of a long chain of acetylated mannose. Acemannan has anti-inflammatory, antibacterial, antiviral and anticancer. The purpose of this study is to know antimicrobial efficacy of acemannan against *Enterococcus faecalis*.

**Methods:** This research was laboratory experimental study. Acemannan that used in this research is acemannan powder that dissolved with aquadest. The concentration of acemannan solution that used in this study were 200 µg/ml, 250 µg/ml, 300 µg/ml, 400 µg/ml, 500 µg/ml. The positive control was given 5.25% Sodium hypochlorite (NaOCl) and the negative control was given aquadest. This acemannan solution, positive control and negative control were examined in *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 with experimental methods are serial dilution and plate streaking. The data was analyzed using statistical approach Kruskal Wallis Test and Spearman Corellation.

**Results:** The result showed there is significant ( $p \leq 0.05$ ) differences of bacteria growth was given acemannan solution and was given aquadest. The increasing concentration of acemannan followed by the decreasing in bacterial growth significantly ( $p \leq 0.05$ ). The concentration of acemannan solution inhibit bacteria growth significantly on 300 µg/ml and eradicate on 400 µg/ml. **Conclusions:** The *Enterococcus faecalis* growth was decreasing significantly after administrated by acemannan.

**Keywords:** Acemannan, Antimicrobial, *Enterococcus faecalis*, Root Canal Irrigant

**DAFTAR ISI**

<b>HALAMAN SAMPUL .....</b>	
<b>HALAMAN PERSETUJUAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS .....</b>	<b>iv</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>v</b>
<b>KATA PENGANTAR .....</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR SINGKATAN DAN ISITILAH .....</b>	<b>xiv</b>

**BAB I PENDAHULUAN**

1.1 Pendahuluan .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.3.1 Tujuan Umum .....	3
1.3.2 Tujuan Khusus .....	4
1.4 Manfaat Penelitian .....	4
1.4.1 Manfaat Akademis .....	4
1.4.2 Manfaat Praktis .....	4

**BAB II TINJAUAN PUSTAKA**

2.1 <i>Aloe vera</i> .....	5
2.1.1 Taksonomi <i>Aloe vera</i> .....	5
2.2 Acemannan .....	6
2.2.1 Acemannan .....	6
2.2.2 Kandungan Acemannan .....	6
2.3 Perawatan Saluran Akar .....	7
2.3.1 Definisi Perawatan Saluran Akar .....	7
2.3.2 Prosedur Perawatan Saluran Akar .....	7
2.4 Bahan Irigasi .....	8
2.4.1 Definisi Irigasi .....	8
2.4.2 Manfaat Bahan Irigasi .....	8
2.4.3 Macam Bahan Irigasi .....	9
2.5 Bakteri Saluran Akar .....	10
2.6 Bakteri <i>E.faecalis</i> .....	12

Repository Universitas Brawijaya	Repository Univers
Repository Universitas Brawijaya	Repository Univers
Repository Universitas Brawijaya	Repository Univers
2.6.1 Taksonomi <i>E.faecalis</i> .....	12
2.6.2 Morfologi .....	13
2.6.3 Karakteristik .....	13
2.6.4 Faktor Virulensi.....	14
2.7 Uji Identifikasi Bakteri <i>E.faecalis</i> .....	15
2.7.1 Pewarnaan Gram .....	15
2.7.2 Uji Katalase .....	15
2.7.3 Uji Oksidase .....	16
2.8 Uji Kepakaan Antibakteri.....	16
2.8.1 Metode Dilusi .....	16
2.8.2 Metode Difusi.....	17

### **BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS**

#### **PENELITIAN**

3.1 Kerangka Konsep Penelitian .....	18
3.2 Hipotesis Penelitian .....	20

### **BAB IV METODE PENELITIAN**

4.1 Desain Penelitian .....	21
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian .....	21
4.3 Sampel Penelitian dan Pengulangan Sampel .....	21
4.4 Variabel Penelitian .....	22
4.4.1 Variabel Bebas .....	22
4.4.2 Variabel Terikat.....	22
4.4.3 Variabel Kontrol.....	22
4.5 Definisi Operasional .....	22
4.6 Alat dan Bahan.....	23
4.6.1 Alat dan Bahan Identifikasi Bakteri dengan Pewarnaan Gram .....	23
4.6.2 Alat dan Bahan Uji Katalase .....	23
4.6.3 Alat dan Bahan Uji Oksidase .....	23
4.6.4 Alat dan Bahan Suspensi Bakteri Uji.....	23
4.6.5 Alat dan Bahan untuk Uji Efektivitas.....	24
4.7 Rancangan Operasional Penelitian .....	25
4.7.1 Identifikasi Bakteri .....	26
4.7.2 Persiapan Suspensi Bakteri Uji .....	27
4.7.3 Pembuatan Berbagai Kosentrasi Larutan Acemannan .....	28

4.7.4 Penelitian Pendahuluan dengan Metode Serial Dilution .....	29
4.7.5 Uji Efektivitas .....	29
4.8 Analisis Data.....	30
<b>BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
5.1 Hasil Uji Pendahuluan.....	32
5.2 Hasil Penelitian .....	32
5.3 Analisis Data .....	34
5.3.1 Hasil Uji Normalitas .....	34
5.3.2 Hasil Uji Kruskal Wallis .....	35
5.3.3 Hasil Uji Mann Whitney .....	35
5.3.4 Hasil Korelasi Spearman.....	36
5.4 Pembahasan .....	37
<b>BAB VI PENUTUP</b>	
6.1 Kesimpulan .....	40
6.2 Saran.....	40
<b>LAMPIRAN.....</b>	41
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	56

## **DAFTAR GAMBAR**

<b>Gambar 2.1</b> Aloe vera plant.....	6
<b>Gambar 2.2</b> Hasil Pewarnaan Gram <i>E.faecalis</i> .....	12
<b>Gambar 3.1</b> Kerangka Konsep Penelitian.....	18
<b>Gambar 4.1</b> Rancangan Operasional Penelitian.....	25
<b>Gambar 5.1</b> Hasil Uji Pendahuluan .....	32
<b>Gambar 5.2</b> Hasil Penentuan KHM .....	33
<b>Gambar 5.3</b> Hasil Streaking pada Media BHI-A .....	33

**DAFTAR TABEL**

<b>Tabel 5.1</b> Hasil Perhitungan Pertumbuhan Koloni .....	33
<b>Tabel 5.2</b> Hasil Uji Normalitas.....	34
<b>Tabel 5.3</b> Hasil Uji Homogenitas .....	35
<b>Tabel 5.4</b> Hasil Uji Kruskal Wallis.....	35
<b>Tabel 5.5</b> Hasil Uji Mann Whitney.....	35
<b>Tabel 5.6</b> Hasil Uji Korelasi Spearman .....	36



## **DAFTAR SINGKATAN DAN ISTILAH**

PDLSC : Periodontal Ligament Stem Cell

DAD : Deacetylation Degree

AVB5 : Ekstrak aloe vera dengan derajat deasetilasi paling rendah

BIC : Biofilm Inhibition Concentration

BEC : Biofilm Eradication Concentration

KHM : Kadar Hambat Minimal

KBM : Kadar Bunuh Minimal

BHIB : Brain Heart Infusion Broth

BHIA : Brain Heart Infusion Agar

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1 Latar Belakang**

*Aloe vera* merupakan tanaman yang mudah untuk dikembangkan, murah pembiayaan dan perawatannya di Indonesia (Rusmiany dan Ernawati, 2017). Tanaman ini dapat tumbuh pada daerah yang kering atau curah hujan yang tidak menentu (Sajjad dan Sajjad, 2014). *Aloe Vera* menjadi alternatif bahan alami yang dikembangkan sebagai bahan medikamen saluran akar dan merupakan tanaman terlaris di dunia yang berpotensi untuk dikembangkan menjadi obat (Rusmiany dan Ernawati, 2017).

Gel *Aloe vera* (jaringan mucilaginous) terbentuk di bagian tengah tanaman *aloe vera* banyak digunakan menjadi berbagai produk kosmetik dan obat yang tersedia di pasaran saat ini. Efek farmakologis *Aloe Vera* meliputi efek antiinflamasi, anti-rematik, anti-rematik, antibakteri, dan hipoglikemik. *Aloe vera* memiliki efek antimikroba terhadap mikroorganisme resisten seperti *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) dan *Candida albicans* (*C. albicans*) yang ditemukan di ruang pulpa. Ekstrak *Aloe Vera* seperti air, alkohol dan kloroform juga menunjukkan khasiat anti mikroba dan dapat digunakan sebagai obat *intracanal*. *Aloe vera* mengandung banyak komponen zat aktif yang terdiri dari antrakuinon, fenol, acemannan, dan saponin yang dikenal memiliki sifat antibakteri (Nonong *et al.*, 2016). *Aloe vera* dapat mempengaruhi distribusi PDLSC. Stro-1 adalah antibodi imunoreaktif, yang menunjukkan reaksi positif dan meningkat dalam sel PDLSC setelah pemberian gel *Aloe vera* pada soket setelah dilakukan ekstraksi gigi (Nugraeni *et al.*, 2017).

Salah satu komponen zat aktif yang terkandung dalam gel *aloe vera* adalah Glukosa, terdiri dari monosakarida dan glukomannosa, sering disebut sebagai acemannan atau polisakarida yang terdapat di *Aloe Vera*. Acemannan adalah fraksi utama polisakarida yang diisolasi dari gel *Aloe vera*. Acemannan dapat meningkatkan proses penyembuhan luka dengan memobilisasi makrofag, sintesis kolagen dan kontraksi luka. Acemannan dapat meningkatkan antibodi sehingga



berperan sebagai imunomodulator, acemannan juga dapat berperan sebagai antiviral khusus yang melawan penyebab tumor (Sangur *et al.*, 2016). Acemannan, dapat bekerja sebagai antibakteri secara tidak langsung dengan merangsang fagositosis leukosit (Nonong *et al.*, 2016).

Suresh Chandra (2011), melakukan penelitian tentang efektivitas antibakteri ekstrak *Aloe vera* pada strain antimikroba yang resisten dalam perawatan saluran akar secara *in vitro*. Dalam studi *in-vitro* ini, zona hambat rata-rata ekstrak kloroform dari *Aloe vera* terhadap *E. faecalis* berukuran 9mm sedangkan ekstrak methanol dari *Aloe vera* terhadap *E. faecalis* ditemukan 12mm. Ekstrak kloroform dari *Aloe vera* menunjukkan efek antimikroba terhadap mikroorganisme resisten yang ditemukan di ruang pulpa, salah satunya *E. faecalis* (Ravishankar *et al.*, 2011). Hasil penelitian saat ini telah menunjukkan bahwa polisakarida *Aloe vera* (acemannan) dengan DAD(deasetilasi) rendah menunjukkan potensi antibiofilm yang tinggi. Ekstrak aloe vera dengan derajat deasetilasi paling rendah mampu membasmikan dan mengurangi viabilitas mikroba yang berada sebagai biofilm *E. Coli* dan *E. faecalis* (Salah *et al.*, 2017).

Penyebab utama penyakit jaringan pulpa dan periradikular secara langsung atau tidak langsung terkait dengan mikroorganisme (Rusmiany dan Ernawati, 2017). Perawatan saluran akar (PSA) merupakan perawatan endodontik yang paling banyak dilakukan untuk kasus infeksi saluran akar yang disebabkan oleh karies yang berkelanjutan. Tujuan perawatan saluran akar adalah membersihkan dan membentuk saluran akar dengan pengurangan maksimum 0,5 mm mendekati periapeks; pengisian saluran akar dengan material biokompatibel yang memungkinkan obturasi tiga dimensi; merestorasi bagian koronal dengan baik untuk mencegah masuknya bakteri ke saluran akar yang dapat menginfeksi ulang sistem saluran akar (McCabe, 2014). Tahapan penting dalam perawatan saluran akar adalah preparasi saluran akar, sterilisasi dan pengisian. Untuk mendapatkan hasil yang maksimal, waktu pengisian dapat diperoleh melalui melalui preparasi saluran akar dan disempurnakan dengan irigasi (Rusmiany dan Ernawati, 2017).

*E. faecalis* adalah mikroorganisme anaerob fakultatif yang umumnya ditemukan pada infeksi endodontik yang asimptomatik dan persisten. Faktanya, kasus perawatan saluran akar yang gagal memiliki kemungkinan sembilan kali lebih besar mengandung *E. faecalis* daripada infeksi endodontik primer. Metode yang paling efektif untuk menghilangkan *E. faecalis* dari saluran akar dan tubulus dentin adalah penggunaan sodium hipoklorit dan 2% klorheksidin (Ravishankar, 2011). Sodium hipoklorit merupakan larutan irigasi paling sering digunakan dibidang endodontik, kemampuan antibakterinya cukup efektif dalam membunuh *Enterococcus faecalis* dengan konsentrasi yang disarankan yaitu 5,25% (Kuntari *et al.*, 2014). Sodium hipoklorit memiliki beberapa kerugian, seperti rasa tidak enak, toksisitas, dan potensi melemahnya struktur gigi dengan mengurangi kekerasan dan integritas struktural dentin dalam saluran akar. Bahan medikamen saluran akar dari bahan alami banyak dikembangkan karena memiliki efek samping yang lebih rendah (Ravishankar *et al.*, 2011). *Aloe vera* dapat digunakan sebagai alternatif agen antibakteri yang mengantikan bahan kimia karena aman, tanpa efek samping dan lebih murah. Kemampuan anti bakteri *Aloe vera* menunjukkan spektrum luas terhadap bakteri gram positif dan gram negatif (Nonong *et al.*, 2016). Berdasarkan uraian di atas, maka diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai efektivitas acemannan dimana merupakan senyawa aktif yang terdapat di dalam *Aloe vera* sebagai bahan irigasi saluran akar terhadap pertumbuhan bakteri *E. faecalis* secara *in vitro*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas maka penelitian ini diajukan untuk menjawab rumusan masalah, yaitu:

Apakah acemannan mempunyai efek antibakteri terhadap *E. faecalis* secara *in vitro*?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui bahwa acemannan memiliki efek antibakteri terhadap *E. faecalis* secara *in vitro*.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui pengaruh pemberian acemannan dengan konsentrasi 2000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 1000  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 500  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 250  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 125  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , terhadap pertumbuhan bakteri *E. faecalis*.
2. Mengetahui nilai Kadar Hambat Minimal (KHM) acemannan terhadap bakteri *E. faecalis*.
3. Mengetahui nilai Kadar Bunuh Minimal (KBM) acemannan terhadap bakteri *E. faecalis*.
4. Mengetahui hubungan antara acemannan sebagai bahan irigasi saluran akar dengan pertumbuhan bakteri *E. faecalis*.

## 1.4 Manfaat Penelitian

### 1.4.1 Manfaat Akademik

Dapat memberikan dasar ilmiah untuk pengembangan penelitian lebih lanjut tentang efektivitas acemannan sebagai bahan irigasi saluran akar terhadap pertumbuhan bakteri *E. faecalis*.

### 1.4.2 Manfaat Praktis

Memberikan alternatif bahan irigasi saluran akar dari bahan alami yang mempunyai efek samping lebih minimal untuk mencegah infeksi berulang akibat bakteri *E. faecalis*.

# Repository Universitas Brawijaya

## Repository Universitas Brawijaya

## Repository Universitas Brawijaya

## Repository Universitas Brawijaya

## Bab II

# TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 *Aloe vera*

*Aloe vera* merupakan tanaman asli Afrika, tepatnya Ethiopia, yang termasuk ke dalam golongan Liliaceae. Bentuk batang tanaman ini pendek dengan bentuk seperti tombak. Bentuk daunnya tegak dan ditepinya berbaris duri tetapi tidak begitu tajam. Daun *Aloe vera* ini berwarna hijau berlapis lilin dan dalamnya terdapat daging daun yang tebal dan berwarna bening. Tanaman ini memiliki keistimewaan yaitu kemampuannya bertahan hidup di daerah kering pada musim kemarau, yakni dengan cara menutup stomatanya rapat-rapat, sehingga tumbuhan ini sangat cocok dibudidayakan di Indonesia(Kurnia dan Ratnapuri, 2019).

*Aloe vera* memiliki lebih dari 75 senyawa aktif yang berperan dalam proses penyembuhan yaitu protein (aloktin), asam amino, enzim, alkaloid, flavonoid, saponin, kolagen, vitamin, kalsium, potassium, polisakarida meliputi: pektin, sellulosa, hemisellulosa, fruktan dan mannan. *Aloe vera* mengandung zat aktif acemannan merupakan polisakarida utama yang mempunyai peranan dalam penyembuhan luka karena immunostimulasi yang mempengaruhi aktivasi makrofag pada fase inflamasi(Dewi, 2018). *Aloe vera* memiliki kemampuan untuk melembabkan, mempercepat penyembuhan luka, bersifat antiinflamasi, antibakteri, antifungal, antiviral, menurunkan nekrosis jaringan, menstimulasi dan meningkatkan vaskularisasi di daerah luka, meningkatkan proliferasi fibroblas dan deposisi kolagen(Sularsih dan Rahmitasari, 2018).

#### 2.1.1 Taksonomi *Aloe vera*

Klasifikasi dari *Aloe vera* menurut Sushen (2017) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Order	: <i>Asparagales</i>
Division	: <i>Spermatophyta</i>
Subdivision	: <i>Angiospermae</i>
Class	: <i>Monocotyledoneae</i>
Family	: <i>Liliaceae</i>

Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas Brawijaya  
Genus : *Aloe*  
Species : *Barbadensis Mill*



**Gambar 2.1 Aloe vera plant (Mahor,2016)**

## 2.2 Acemannan

### 2.2.1 Acemannan

Acemannan adalah komponen utama dari polisakarida yang diisolasi dari gel *A. vera*, dan dapat meningkatkan berbagai proses mekanisme penyembuhan luka seperti menstimulasi makrofag, sintesis kolagen, dan kontraksi luka (Nugraeni *et al.*, 2019). Acemannan,  $\beta$ -(1, 4)-linked polydispersed, ditemukan pada gel yang terletak di bagian dalam daun aloe vera, yang diproduksi oleh sel khusus yang disebut leukoplas. Sifat farmakologi acemannan mempunyai efek antivirus, mengaktivasi makrofag, menstimulasi sel T, dan menginduksi produksi dari nitrat oksida (Sierra *et al.*, 2014).

Acemannan merupakan sebuah  $\beta$ -(1,4)-acetylpolymannan. Zat ini terdiri dari polimer rantai panjang yang terbentuk dari glukosa dan mannose. Acemannan menunjukkan aktivitas biologis sebagai antikanker, antiinflamasi, antimikroba serta meningkatkan proliferasi sel sehingga membantu mempercepat penyembuhan luka (Primasari, 2019). Acemannan memproduksi agen imunitas atau kekebalan tubuh seperti interferon dan interleukin yang membantu menghancurkan virus, bakteri dan sel tumor atau kanker (Choche, 2014).

### 2.2.2 Kandungan Acemannan

Acemannan merupakan polisakarida yang terdiri dari monomer mannose, glukosa, dan galaktosa. Perkiraan komposisi monosakarida acemannan adalah 31  $\beta$ -(1, 4) mannosates-linked, 1



$\beta$ - (1, 4) -linked glukosa, dan 1  $\alpha$ - (1, 6) -linked galactose. Keterlibatan mannose dalam interaksi bakteri dengan sel *host* menunjukkan bahwa mannans dapat mengganggu perlekatan bakteri. Struktur mannans menunjukkan bahwa dapat memblokir atau mencegah perlekatan bakteri ke epitel *host* dengan mengikat bakteri atau sel *host* (Sierra *et al.*, 2014).

Polisakarida dalam Aloe vera, yang mempunyai efek langsung membunuh bakteri melalui proses fagositosis. Hasil penelitian berbeda dilaporkan oleh Banu, et al. Mereka melaporkan bahwa pemberian gel lidah buaya pada pasien dengan ulkus pada kaki yang terinfeksi bakteri multidrugs resistant (MDR) tidak efektif menurunkan pertumbuhan bakteri. Studi lain melaporkan bahwa pemberian ekstrak lidah buaya dalam konsentrasi rendah dapat meningkatkan pertumbuhan bakteri *Lactobacillus*, tetapi pemberian dalam konsentrasi tinggi dapat menekan pertumbuhan bakteri di dalam organ pencernaan (Primasari, 2019).

### 2.3 Perawatan saluran akar

#### 2.3.1 Definisi Perawatan Saluran Akar

Perawatan periodontitis apikal dapat dilakukan secara konvensional yaitu dengan perawatan endodontik. Tujuan perawatan adalah untuk menghilangkan atau mengurangi populasi mikrobial didalam sistem saluran akar dan untuk mencegah infeksi ulang dengan menutup rapat ruang saluran akar. Pengurangan jumlah mikrobial akan didapat dari kombinasi instrumen mekanik, irigasi saluran akar dan aplikasi obat-obatan anti mikroba didalam saluran akar (Dewiyani, 2014). Perawatan saluran akar merupakan salah satu jenis perawatan yang bertujuan mempertahankan gigi agar tetap dapat berfungsi. Perawatan saluran akar adalah tindakan mengambil semua jaringan pulpa yang terinfeksi dari kamar pulpa dan saluran akar, kemudian membentuk saluran akar agar dapat diisi dengan bahan pengisi saluran akar untuk mencegah terjadinya infeksi ulang (Destika, 2016).

#### 2.3.2 Prosedur Perawatan Saluran Akar

Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas Brawijaya

Menurut Garg (2014) perawatan saluran akar meliputi tiga fase:

1. Preparasi akses: dasar pemikiran untuk ini adalah membuat jalur garis lurus untuk lubang saluran akar dan apex.
2. Membentuk dan membersihkan: dasar pemikiran untuk ini adalah menghilangkan secara sempurna seluruh jaringan pulpa vital atau nekrotik, mikroorganisme dan racun yang dihasilkan dengan menggunakan bahan medikamen saluran akar.
3. Obturasi: tujuan utama obturasi adalah mendapatkan saluran akar tiga dimensi yang dilengkapi dengan penutup atau segel yang ketat untuk mencegah kebocoran mikro dari eksudat periapikal ke ruang saluran akar dan juga untuk mencegah infeksi dengan sepenuhnya menutup foramen apikal dan sinus lainnya yang menghubungkan dengan jaringan periapikal.

## 2.4 Bahan Irrigasi

### 2.4.1 Definisi Irrigasi

Irigasi merupakan bagian penting dari perawatan saluran akar, khususnya dalam mengeliminasi mikroba dalam saluran akar. Selama dan setelah instrumentasi, larutan irrigasi berperan dalam membunuh dan mengeliminasi mikroorganisme, jaringan nekrotik, dan serpihan dentin (Haapasalo *et al.*, 2014).

### 2.4.2 Manfaat Bahan Irrigasi

Tujuan utama dari irrigasi adalah merusak atau mengeliminasi koloni dari mikroba dan produk yang dihasilkannya (Chubb, 2019). Larutan irrigasi untuk saluran akar berperan pada tahap pembersihan secara kimia dengan aktivitas antibakteri dan aktivitas dekalsifikasi (Dioguardi *et al.*, 2018).

Menurut Garg (2014), sifat ideal dari larutan irrigasi, yaitu: memiliki sifat antimikroba spektrum luas; membantu debridemen dari sistem saluran akar; mampu melarutkan jaringan nekrotik dan debris; tingkat toksitas rendah; pelumas yang baik; ketegangan permukaan rendah sehingga dapat mengalir ke area yang tidak dapat diakses oleh instrument; mampu mensterilkan saluran akar; mencegah terbentuknya



smear layer dan melarutkan smear layer; menonaktifkan endotoksin.

### 2.4.3 Macam Bahan Irrigasi

Menurut Torabinejad (2015), macam-macam bahan irrigasi, yaitu:

#### 1. Sodium Hipoklorit (NaOCl)

Merupakan larutan irrigasi yang umum digunakan, dapat juga digunakan sebagai pemutih. Keuntungan pemakaian larutan NaOCl sebagai larutan irrigasi adalah melarutkan secara mekanik debris dari saluran akar dan kemampuannya melarutkan jaringan organik dan anorganik, serta perannya sebagai antibakteri dan melubrikasi saluran akar. Klorin bebas dalam NaOCl dapat melarutkan jaringan nekrotik dengan memecah protein menjadi asam amino. Konsentrasi NaOCl yang umumnya digunakan adalah 2,5%, dimana pada konsentrasi ini mengurangi efek toksisitas, namun dapat melarutkan jaringan nekrotik dan aktivitas antibakteri masih tetap terjaga.

#### 2. EDTA

Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) merupakan larutan irrigasi yang sering digunakan juga sebagai larutan irrigasi saluran akar, larutan ini secara langsung menghilangkan lapisan smear. Irrigasi menggunakan EDTA 17% selama 1 menit kemudian dibilas dengan NaOCl merupakan metode yang direkomendasikan.

#### 3. klorheksidin

klorheksidin mempunyai aktivitas antimikroba yang berspektrum luas, mempunyai efek yang tahan lama dan toksisitasnya rendah. klorheksidin 2% mempunyai efek antimikroba sama dengan NaOCl 5,25%, dan lebih efektif melawan *E. faecalis*. Kekurangan dari klorheksidin adalah tidak mampu melarutkan jaringan nekrotik dan menghilangkan lapisan smear. Secara klinis klorheksidin juga belum mengonfirmasi bahwa dapat memberikan hasil yang lebih baik.

#### 4. MTAD

Metode alternatif untuk desinfeksi dan menghilangkan lapisan smear dalam waktu yang bersamaan dengan menggunakan campuran isomer tetrasiiklin, asam, dan deterjen (MTAD) sebagai final irrigasi. MTAD telah terbukti efektif membunuh *E.*

faecalis, bakteri yang umumnya ditemukan dalam perawatan saluran akar yang gagal. MTAD tidak mengubah sifat fisik dentin. MTAD belum terbukti secara klinis pada saat ini.

### 5. QMix

Merupakan larutan irrigasi yang baru diperkenalkan dipasaran. Mekanisme kerjanya hamper sama dengan MTAD. QMix memiliki potensi tidak hanya untuk menghilangkan lapisan smear, tetapi juga sebagai antibiofilm. QMix terdiri dari campuran klorheksidin, EDTA, dan agen surface-active.

Banyak pengembangan bahan irrigasi alternatif dari berbagai tanaman herbal. Ekstrak Aloe vera dengan konsentrasi 12,5% diketahui dapat menghambat pertumbuhan bakteri saluran akar gigi (Rusmiani dan Ernawati, 2017). Sebuah penelitian mengenai Evaluasi efektivitas antimikroba dari bahan herbal(Triphala dan Polifenol Teh Hijau), MTAD, dan 5% NaOCl terhadap biofilm E. faecalis dibentuk pada substrat gigi secara in vitro, menunjukkan Triphala dan Polifenol Teh Hijau memiliki KHM pada konsentrasi 3,125 mg/ml dan KBM pada konsentrasi 5 mg/ml, dengan rata-rata zona hambat 24mm dan 22mm (Prabhakar *et al.*, 2010).

## 2.5 Bakteri Saluran Akar

Saluran akar yang terinfeksi akibat karies enamel yang meluas sampai melibatkan pulpa dan saluran akar, infeksi berkembang kearah *apical* sampai produk bakteri atau bakteri itu sendiri berada dalam kondisi yang dapat menstimulasi jaringan periapikal, sehingga mengarah ke periodontitis apikalis. Mikroorganisme dan produknya (endotoksin) berkaitan dengan penyebab penyakit pulpa dan lesi periapikal. Mikroorganisme tersebut dapat menyebabkan nekrosis pulpa karena persisten dalam sistem saluran akar setelah perawatan endodontik dan dapat menyebabkan reaksi inflamasi periapikal. Infeksi primer saluran akar mengandung bakteri yang tinggi, tetapi preparasi saluran akar secara kemomekanis terbukti mampu mengurangi jumlah bakteri setidaknya 95%. Infeksi endodontik memiliki sifat polimikroba, dengan bakteri anaerob obligat yang mendominasi mikrobiota pada infeksi primer. Microbiota dalam saluran akar mempunyai lebih dari 700 spesies yang berbeda,

bahkan beberapa diantaranya belum teridentifikasi pada tingkat spesies (Borzini *et al.*, 2016).

Banyak mikroorganisme yang ditemukan dalam infeksi saluran akar adalah mikroorganisme komensal dari rongga mulut, yang masuk ke jaringan pulpa kemudian ke saluran akar karena karies. Adanya mikroorganisme dalam pulpa secara langsung berkaitan dengan perkembangan penyakit periapikal. Preparasi kemomekanis pada saluran akar yang terinfeksi menggunakan agen antimikroba, dilanjutkan dengan obturasi dan restorasi koronal, memberikan hasil yang baik. Namun, kegagalan kadang terjadi karena infeksi intraradikuler persisten atau sekunder. Mikroorganisme yang ditemukan pada gigi yang mengalami kegagalan perawatan saluran akar biasanya merupakan mikroorganisme yang bertahan hidup setelah perawatan saluran akar sebelumnya atau mikroorganisme yang masuk setelah atau selama perawatan melalui kebocoran restorasi. Mikroorganisme yang bertahan setelah perawatan saluran akar, merupakan akibat dari ketidakmampuan instrumentasi kemomekanis dan karena lokasi bakteri yang tidak terakses seperti kanal aksesorai (Narayanan dan Vaishnavi, 2010).

Mikroba yang hidup pada saluran akar, terutama setelah perawatan saluran akar, didasarkan pada kemampuan dari mikroba tersebut untuk beradaptasi dengan kondisi disekitarnya. Kemampuan mikroba beradaptasi untuk bertahan hidup, dalam beberapa kasus mikroba tersebut dalam fase dormant dan bertumbuh dalam bentuk biofilm. Pertahanan fisik dan imunologis yang berasal dari struktur biofilm yang mikroba bentuk penting dalam kelangsungan hidup jangka panjangnya. Setelah beberapa waktu, lesi inflamasi pada jaringan periapikal akan terjadi, biasanya disebut periodontitis apikalis. Bentuk pertumbuhan biofilm merupakan cara bakteri bertahan hidup baik secara alami maupun buatan. Ketika bakteri pada fase cair yang terdapat pada permukaan, seperti dinding dentin di saluran akar, bakteri tersebut memiliki afinitas untuk melekat dan membentuk biofilm. Kumpulan biofilm adalah kumpulan dari bakteri terstruktur dan heterogen, terbungkus matriks dimana bakteri mengadaptasi fenotipnya untuk bertahan terhadap



Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

tekanan, pertahanan imunologis *host*, dan antibiotik (De Paz dan Dahlén, 2017).

Menurut Narayanan dan Vaishnavi(2010), beberapa bakteri persisten setelah prosedur desinfeksi saluran akar dan dapat bertahan hidup setelah perawatan saluran akar, yaitu:

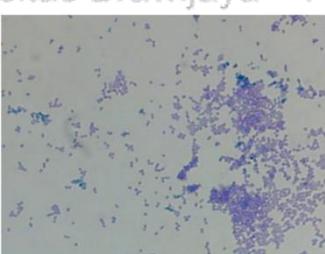
1. Bakteri batang anaerob gram negatif yang paling umum: *Fusobacterium nucleatum*; *Prevotella spp.*; *Campylobacter rectus*.
2. Bakteri gram positif yang paling umum: *Streptococci* (*Streptococcus mitis*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus oralis*); *Lactobacilli* (*Lactobacillus paracasei* and *Lactobacillus acidophilus*); *Staphylococci*; *E. faecalis*; *Olsenella uli*; *Parvimonas micra*; *Pseudoramibacter alactolyticus*; *Propionibacterium spp.*; *Actinomyces spp.*; *Bifidobacterium spp.*; *Eubacterium spp.*.

## 2.6 Bakteri *E. faecalis*

### 2.6.1 Taksonomi *E. faecalis*

Klasifikasi bakteri *E. faecalis* menurut Integrated Taxonomic Information System (ITIS) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Subkingdom	: <i>Posibacteria</i>
Phylum	: <i>Firmicutes</i>
Class	: <i>Bacilli</i>
Order	: <i>Lactobacillales</i>
Family	: <i>Enterococcaceae</i>
Genus	: <i>Enterococcus</i>
Spesies	: <i>E. Faecalis</i>





**Gambar 2.2 Hasil Pewarnaan Gram *E.faecalis*. Koloni tampak berwarna ungu, kokus, dan membentuk rantai pendek (Andayani *et al.*, 2016)**

## 2.6.2 Morfologi

*E. faecalis* adalah bakteri kokus gram positif anaerob fakultatif yang diisolasi dari 18% infeksi endodontik primer dan dari 67% kasus kegagalan perawatan endodontik (Soligo *et al.*, 2018). Bakteri ini tidak membentuk spora, berantai pendek dan berbentuk ovoid berdiameter 0,5 – 1  $\mu\text{m}$ . Bakteri ini memiliki struktur dinding sel yang tebal dan membran sel selapis yang sedikit mengandung lapisan lemak (Mubarak *et al.*, 2016). Dinding sel bakteri Gram positif seperti *E.faecalis* mengandung 90% peptidoglikan serta lapisan tipis asam teikoat dan asamteikuronat yang bermuatan negatif (Andayani *et al.*, 2016).

### 2.6.3 Karakteristik

Bakteri *E. faecalis* ditemukan pada 4-40% kasus infeksi endodontik primer. Frekuensi bakteri *E. faecalis* terbukti jauh lebih tinggi ditemukan pada kasus lesi periradikular. Faktanya, kasus perawatan saluran akar yang gagal memiliki kemungkinan sembilan kali lebih besar untuk mengandung *E. faecalis* daripada infeksi endodontik primer (John *et al.*, 2015).

*E. faecalis* merupakan bakteri yang umumnya terisolasi pada persisten periodontitis apikalis karena bakteri dapat bertahan pada kondisi yang ekstrem. Kemampuan bertahan hidup jangka panjang dalam saluran akar setelah perawatan endodontik dapat menyebabkan perlekatan pada dentin dan menginviasi tubulus dentin, serta membentuk koloni dalam biofilm. Hal ini menyebabkan resistensi dan persistensi bakteri meskipun setelah prosedur sterilisasi saluran akar. Pinheiro et al. pada 52,94% saluran akar ditemukan pertumbuhan *E. faecalis*. Mikroorganisme ini telah menunjukkan kapasitas untuk bertahan hidup di lingkungan di mana ada nutrisi yang tersedia dan tidak berkoloni dengan bakteri lain (Borzini et al., 2016). Tingginya resistensi *E. faecalis* disebabkan antara lain karena *E. faecalis* mampu bertahan hidup pada pH alkali (9,6) dan juga mikroorganisme ini mampu bertahan terhadap detergen, logam berat, ethanol, hydrogen peroksida, dan pengawetan (Santoso et al., 2012). Bakteri ini dapat tumbuh pada suhu 10°C dan 40°C.

dalam 6,5% NaCl, dan dapat bertahan pada suhu 60°C selama 30 menit (Mubarak *et al.*, 2016).

#### 2.6.4 Faktor Virulensi

Faktor virulensi bakteri *E. faecalis* menurut John *et al.* (2015), sebagai berikut:

1. *Aggregation substance (SA)*  
Memberikan perlindungan terhadap pertahanan tubuh *host* seperti aktivasi neutrofil dan fagositosis.
2. *Surface Adhesins (SA)*  
Mendukung pada perlekatan awal bakteri dan pembentukan biofilm pada permukaan dentin dan jaringan periapikal.
3. *Lipoteichoic acids (LTA)*  
Membantu pembentukan koloni *E. faecalis* pada permukaan dentin.
4. *Sex pheromones*  
Menyebabkan kematian sel neutrofil yang merupakan salah satu pertahanan tubuh manusia dari pathogen.
5. *Gelatinase*  
Membantu perlekatan bakteri pada dentin. Gelatinase meningkat pada saliva, crevicular fluid, dan spesimen biopsi gingiva.
6. *Hyaluronidase*  
Merupakan sumber nutrisi bakteri *E. faecalis* dalam saluran akar yang didapat dari kerusakan dentin dan jaringan periapikal.
7. *Cytolysin*  
Memproduksi toksin dan menekan pertumbuhan bakteri lain.  
*Autolysin* yang terlibat dalam hidrolisis peptidoglikan, memainkan peran penting dalam pemisahan sel setelah replikasi. Sebuah penelitian menunjukkan bahwa kondisi yang mendorong pembentukan rantai dapat meningkatkan virulensi pada bakteri Gram-positif dengan memicu perlekatan dan pembentukan koloni pada sel inang. Zinc metalloprotease ekstraseluler yang dikenal sebagai *gelatinase* (GeLE), telah diidentifikasi sebagai faktor virulensi utama dalam pembentukan infeksi melalui perlekatan bakteri dan pembentukan biofilm. Kontribusi *gelatinase* terhadap virulensi sebagian disebabkan oleh perannya dalam regulasi *autolysin*. Suatu mekanisme telah menyatakan, dimana dalam proteolitik *autolysin* memediasi lisis sel bakteri,



yang akan melepaskan DNA ekstraseluler (eDNA), sehingga menstabilkan biofilm(Stinemetz *et al.*, 2017).

## 2.7 Uji Identifikasi Bakteri *E. faecalis*

### 2.7.1 Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram adalah metode identifikasi untuk mengetahui jenis bakteri secara mikroskopik. Uji pewarnaan gram ini dilakukan untuk mengelompokkan bakteri berdasarkan reaksi kimia yang terbagi menjadi dua kelompok yaitu Gram positif dan gram negatif, yang menggunakan larutan pewarna gram (*Gram Staining*) (Hidayat, 2015). Pewarnaan Gram bertujuan untuk mengamati morfologi sel bakteri dan mengetahui kemurnian sel bakteri(Dewi, 2013).

Proses pewarnaan Gram yang telah dilakukan akan menghasilkan bentuk morfologi dari bakteri, ketika sel bakteri yang terdapat pada kaca objek ditambahkan dengan pewarna kristal violet yang bewarna ungu, maka sel bakteri akan menyerap pewarna tersebut. Interaksi antara sel bakteri dengan kristal violet akan semakin kuat dengan ditambahkan lugol. Ketika dicuci dengan alkohol, bakteri Gram positif akan tetap mengikat kompleks kristal violet-lugol sehingga menjadi bewarna ungu. Sedangkan bakteri Gram negatif akan kehilangan kompleks kristal violet lugol karena lapisan peptidoglikan pada bakteri Gram negatif lebih tipis sehingga menjadi tidak bewarna. Ketika ditambahkan dengan safranin yang bewarna merah maka bakteri Gram negatif akan menyerapnya sedangkan bakteri Gram positif tidak akan menyerap pewarna lagi (Hidayat, 2015).

### 2.7.2 Uji Katalase

Uji katalase dilakukan untuk melihat kemampuan bakteri memproduksi enzim katalase(Ummamie, 2017). Uji katalase dilakukan dengan menambahkan larutan hidrogen peroksida 3% ke dalam cawan petri yang berisi bakteri. Gelembung udara yang terbentuk menunjukkan bakteri mempunyai enzim katalase yang mampu memecah hidrogen peroksida(Sulistiani dan Hidayat, 2020). Katalase merupakan enzim yang mengkatalisa penguraian hidrogen peroksida menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$ . Hidrogen peroksida bersifat toksik terhadap sel karena bahan ini menginaktivkan enzim dalam sel. Hidrogen peroksida terbentuk sewaktu

metabolisme aerob, sehingga mikroorganisme yang tumbuh dalam lingkungan aerob pasti menguraikan bahan tersebut(Dewi, 2013).

### 2.7.3 Uji Oksidase

Uji oksidase dilakukan untuk mengetahui keberadaan sitokrom oksidase. Jika terjadi perubahan warna pada medium menjadi warna biru atau keunguan maka kultur tersebut positif memiliki enzim sitokrom oksidase(Sopiah *et al.*, 2011). Enzim oksidase dihasilkan oleh beberapa organisme yang berperan dalam mengkatalisis proses oksidasi dan reduksi elektron (Anggraini *et al.*, 2016). Oksidase merupakan enzim yang sangat berperan penting dalam proses transport elektron selama respirasi aerobik. Sitokrom oksidase menghasilkan oksida si sitokrom tereduksi oleh oksigen molecular menghasilkan  $H_2O_2$  atau  $H_2O$ (Antriana, 2014).

### 2.8 Uji Kepakaan Antibakteri

Sifat senyawa antibakteri dapat mengganggu pertumbuhan atau metabolisme bakteri. Berdasarkan sifat toksisitasnya, antibakteri dapat bersifat membunuh bakteri atau biasanya disebut bakterisidal dan menghambat pertumbuhan bakteri atau biasa disebut bakteriostati. Antibakteri bakteriostatik hanya menghambat pertumbuhan bakteri dan tidak mematikan, sedangkan bakterisidal dapat membunuh bakteri. Senyawa antibakteri bakteriostatik dapat bersifat bakteriosidal jika dalam konsentrasi yang tinggi, melebihi nilai KHM (Purnamaningsih *et al.*, 2017). Senyawa antibakteri yang ideal memiliki sifat toksisitas selektif yaitu bersifat relatif dan bukan absolut, artinya pada konsentrasi tertentu dapat ditoleransi oleh inang tetapi juga sudah dapat merusak mikroba yang menyebabkan infeksi. Toksisitas selektif bahan aktif antimikroba dapat diketahui dengan cara menentukan konsentrasi hambat minimum (KHM) dengan menggunakan metode dilusi maupun difusi (Widiana, 2012).

Uji sensitivitas antimikroba merupakan tes yang digunakan untuk menguji kepekaan suatu bakteri terhadap suatu antimikroba. Uji sensitivitas bertujuan untuk mengetahui efektifitas dari suatu antimikroba. Uji sensitivitas bakteri

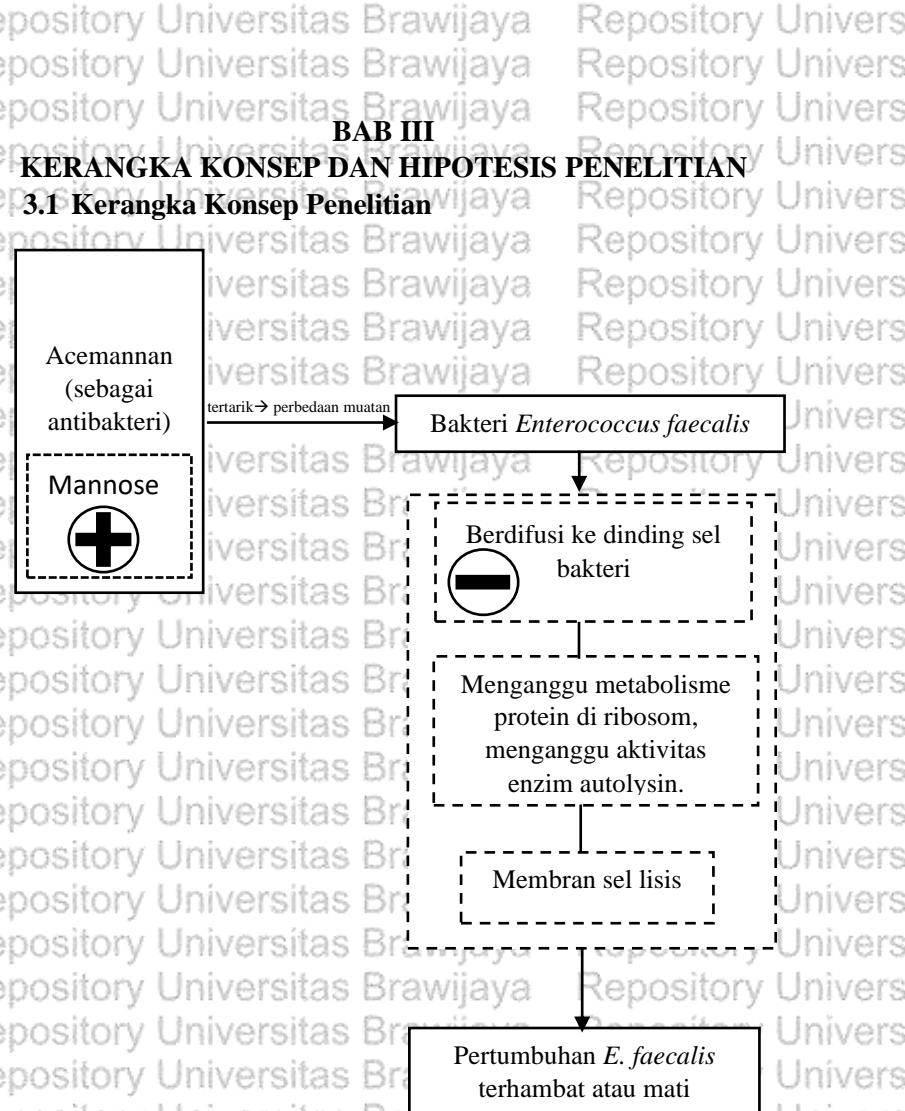
Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas Brawijaya  
terhadap suatu antimikroba dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu: difusi cakram (diffusion test), pengenceran atau dilusi (dilusi test), *antimicrobial gradient* dan *short automated instrumen system*(Khusuma *et al.*, 2019).

### **2.8.1 Metode Dilusi**

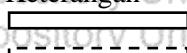
Metode dilusi dibagi menjadi 2, yaitu dilusi cair dan padat. Metode dilusi cair digunakan untuk mengukur KHM (kadar hambat minimum) sementara metode dilusi padat digunakan untuk menentukan KBM (kadar bakterisidal minimum). Cara yang dilakukan pada metode dilusi cair adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Metode dilusi padat dilakukan dengan menginokulasi mikroba uji pada media agar yang mengandung agen antimikroba. Keuntungan metode dilusi ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji. Metode dilusi digunakan untuk menentukan KHM dan KBM dari obat antimikroba. Prinsip dari metode dilusi ini adalah menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan sel bakteri uji. KHM obat ditunjukkan dari konsentrasi terendah antibiotik pada tabung dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba). Konsentrasi terendah obat pada biakan padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni mikroba adalah KBM dari obat terhadap bakteri uji (Fitriana *et al.*, 2020).

### **2.8.2 Metode Difusi**

Metode difusi digunakan untuk menentukan sensitivitas mikroba uji terhadap agen antimikroba. Metode ini dilakukan dengan menggunakan kertas cakram. Ke dalam media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri dimasukkan kertas cakram dan diisi dengan senyawa uji. Area jernih pada permukaan media agar mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba. Kelebihan metode difusi ini adalah mudah dilakukan karena tidak memiliki alat khusus dan mencakup fleksibilitas yang lebih besar dalam memilih obat yang akan diperiksa (Katrin *et al.*, 2015)



Keterangan



: Variabel yang diteliti



: Variabel yang tidak diteliti

**Gambar 3.1** Kerangka Konsep Penelitian



Bakteri *E.faecalis* merupakan bakteri penyebab infeksi sekunder terbesar pada perawatan saluran akar(Fahrurridin *et al.*, 2016). *E. faecalis* bakteri gram positif memiliki struktur lapisan penyusun seperti dinding sel berupa peptidoglikan yang tebal(Hidayat *et al.*, 2019). Bakteri gram positif memiliki struktur gram dinding sel dengan lebih banyak peptidoglikan, sedikit lipid dan dinding sel mengandung polisakarida (asam teikoat) (Dwicahyani *et al.*, 2018).

Polisakarida yang diisolasi dari *Aloe vera*, yang biasa disebut acemannan mengandung monomer mannose pada acemannan berkisar 78,3-81,9% dari total monomer. Monomer lain yang terkandung dalam acemannan adalah glukosa 10,1-11,7% dan galaktosa dan 4,8-6,8% (Rodriguez-Gonzalez, 2011). Acemannan bersifat polar atau larut dalam *distilled water* karena memiliki gugus asetil, sehingga lebih mudah menembus lapisan peptidoglikan yang bersifat polar dari pada lapisan lipid yang non polar (Chokboribal *et al.*, 2015).

Bakteri Gram positif memiliki struktur dinding sel yang tebal dan membran sel selapis yang sedikit mengandung lapisan lemak (Mubarak *et al.*, 2016). Dinding sel bakteri *E. faecalis* yang merupakan bakteri gram positif mengandung 90% peptidoglikan serta lapisan tipis asam teikoat dan asamteikuronat yang bermuatan negatif (Andayani *et al.*, 2016). Mannose memiliki muatan positif, perbedaan muatan ini akan menyebabkan mannose tertarik ke sel sehingga memasuki membran sel bakteri. Mannose yang terkandung dalam acemannan ini akan berdifusi pada dinding sel bakteri dan proses ini berlangsung lama dan terus menerus. Setelah masuk ke dalam sel, kemudian diteruskan pada ribosom yang menghasilkan protein, sehingga akan menimbulkan gangguan pada proses sintesa protein dan selanjutnya akan menyebabkan terjadinya pemecahan ikatan protein sel bakteri sehingga mengganggu metabolisme dari bakteri (Yuarifka *et al.*, 2016). Metabolisme yang terganggu akan mengakibatkan rusaknya sel secara permanen karena tidak tercukupinya kebutuhan energi dan

akhirnya menyebabkan sel bakteri lisis. Membran yang pecah ini menyebabkan gangguan pertukaran zat yang dibutuhkan bakteri untuk mempertahankan hidupnya sehingga terjadi kematian pada bakteri (Santoso *et al.*, 2012). Selain itu, menambahkan atau menghilangkan gugus asetyl dari peptidoglikan mengubah kemampuan dinding sel bakteri untuk melawan aktivitas lisosom dan *autolysin*(Chokboribal *et al.*, 2015). Gugus asetyl mempunyai peranan penting dalam menghambat aktivitas *autolysin*, yang merupakan salah satu faktor virulensi dari *E. faecalis* yang memicu perlakatan bakteri dengan dinding saluran akar(Stinemetz *et al.*, 2017).

### 3.2 Hipotesis Penelitian

Acemannan mempunyai efek antibakteri terhadap *E. faecalis* secara *in vitro*.

## BAB 4 METODE PENELITIAN

### 4.1 Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan adalah desain *True Experimental* (berdasarkan tujuan penelitian) dengan rancangan penelitian *Posttest-Only Control Design*, dalam design ini terdapat dua kelompok yang masing-masing dipilih secara random. Kelompok pertama diberi perlakuan dan kelompok lain tidak (Sugiyono, 2018). Metode uji aktivitas antibakteri menggunakan metode dilusi tabung untuk mengetahui efektivitas pemberian acemannan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. faecalis* yang resisten pada saluran akar gigi dan menyebabkan penyakit pulpa dan periapikal. Tahap pengujian bahan di media cair Brain Heart Infusion Broth (BHIB) untuk penelitian pendahuluan dengan metode serial dilution kemudian menentukan Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM).

### 4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Mikrobiologi Research Center Fakultas Universitas Airlangga pada bulan Oktober.

### 4.3 Sampel Penelitian dan Pengulangan Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *E. faecalis* dari Laboratorium Mikrobiologi Research Center Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, Surabaya. Banyaknya pengulangan yang diperlukan untuk penelitian ini dapat dihitung dengan menggunakan rumus Federer:

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

Keterangan :

t=jumlah perlakuan

n=jumlah ulangan yang diperlukan atau jumlah sampel perkelompok perlakuan

Penelitian ini menggunakan 6 konsentrasi acemannan, satu kontrol positif (NaOCl) dan satu kontrol negatif ( $p=6+2=8$ ) maka didapatkan jumlah pengulangan:

$$(8-1) \cdot (n-1) \geq 15$$

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

$$7n-7 \geq 15$$

$$7n \geq 22$$

$$n \geq 3,14 \approx 3$$

Jadi jumlah pengulangan yang perlu dilakukan pada penelitian ini adalah 3 kali.

#### 4.4 Variabel Penelitian

Variabel-variabel dalam penelitian ini meliputi:

##### 4.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah acemannan dengan konsentrasi 2000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 250  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 125  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

##### 4.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pertumbuhan jumlah koloni bakteri *E. faecalis*.

##### 4.4.3 Variabel Kontrol

Kontrol negatif pada penelitian ini adalah *aquadest* dengan tanpa pemberian acemannan. kontrol positif pada penelitian ini adalah bahan irigasi yang umum digunakan yaitu NaOCl 5,25%.

#### 4.5 Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi Operasional	Cara Pengukuran	Hasil Pengukuran	Skala Data
I.	Larutan acemannan	Melarutkan acemannan 10 mg powder ( <i>product of France</i> ) dengan menggunakan 1 cc DMSO + 9ml <i>aquadest</i>	Didapat dengan proses pelarutan acemannan powder, kemudian dilanjutkan dengan pengenceran menggunakan pelarut <i>aquadest</i> .	larutan acemannan dengan konsentrasi 2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ .	Ordinal

2	Pertumbuhan bakteri <i>E. faecalis</i>	Pertumbuhan bakteri <i>E. faecalis</i> ditandai dengan terjadinya kekeruhan dalam tabung serta adanya pertumbuhan bakteri pertumbuhan bakteri pada BHIA(Brain Infusion Agar)			Rasio
3		Penentuan KHM	Terdapat 7 tabung reaksi pada metode dilusi cair, kemudian memperhatikan pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan kekeruhan dalam tabung untuk mengetahui KHM.	Pengukuran KHM ditentukan oleh konsentrasi larutan acmannin yang pertama atau konsentrasi terendah dimana tabung mulai terlihat jernih.	
4		Penentuan KBM	Memperhatikan pertumbuhan bakteri pada BHIA dengan metode streaking untuk menentukan KBM	KBM diketahui tidak adanya pertumbuhan bakteri pada media BHI-A pada petridish.	

## 4.6 Alat dan Bahan

### 4.6.1 Alat dan Bahan Identifikasi Bakteri dengan Pewarnaan Gram

Alat dan bahan yang digunakan identifikasi bakteri dengan pewarnaan gram pada penelitian ini adalah gelas objek, ose, Bunsen, kertas serap, mikroskop objektif pembesaran 1000x, tabung reaksi, isolate *E. faecalis*, pewarnaan gram (kristal violet, lugol, alcohol 96%, safranin) dan aquadest.

### 4.6.2 Alat dan Bahan Uji Katalase

Alat dan bahan yang digunakan uji katalase pada penelitian ini adalah gelas objek, pipet, tabung reaksi, ose, isolate *E. faecalis*,  $H_2O_2$  3%.

### 4.6.3 Alat dan Bahan Uji Oksidase

Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas Brawijaya  
Alat dan bahan yang digunakan uji oksidase pada penelitian ini adalah ose, *oksidase test strip*/ kertas oksidase, isolat *E. faecalis*.

#### **4.6.4 Alat dan Bahan Suspensi Bakteri Uji (*E. faecalis*)**

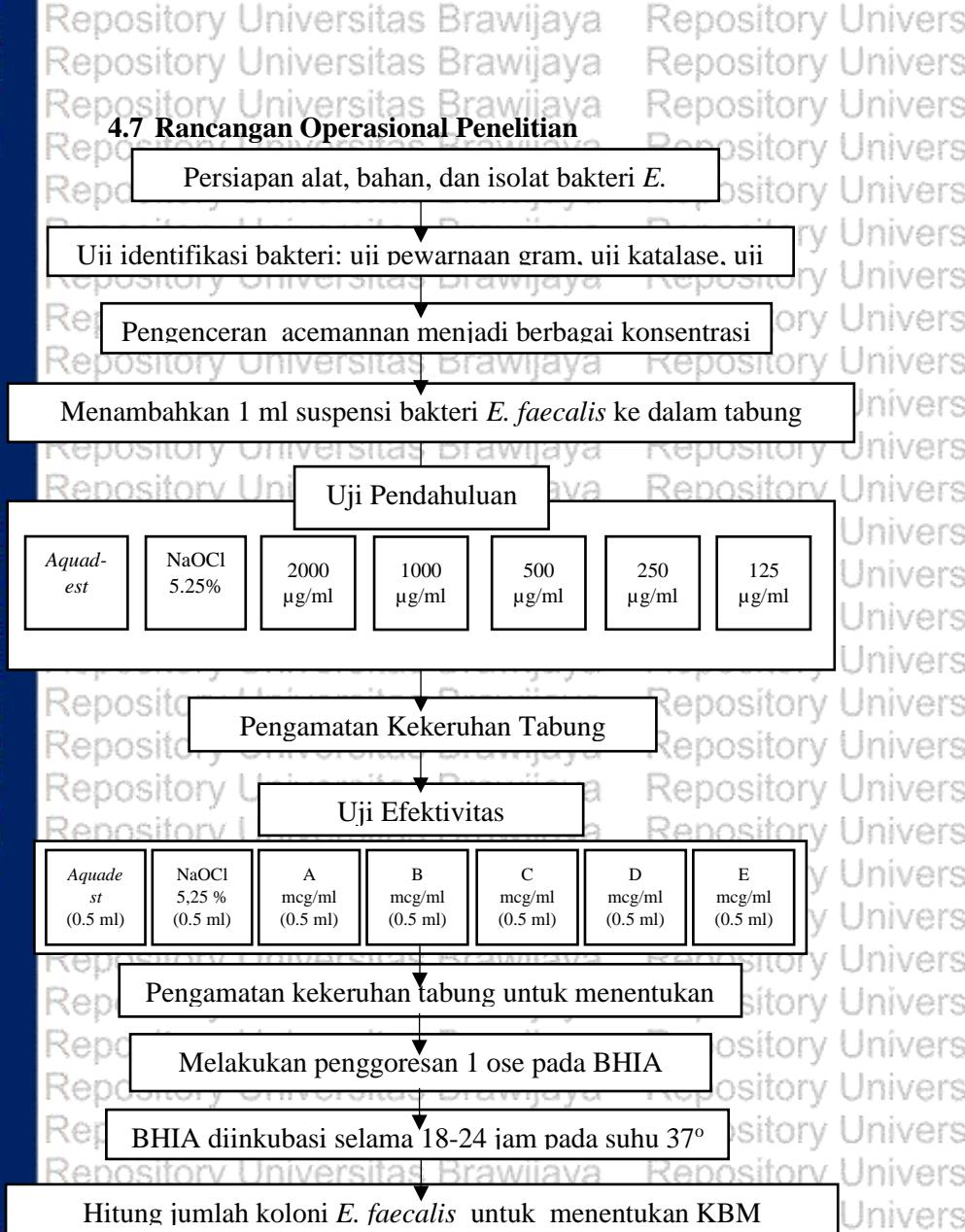
Alat dan bahan yang digunakan untuk pembuatan suspensi uji bakteri *E. faecalis* adalah ose, tabung reaksi, isolate *E. faecalis*, larutan NaCl, media cair Brain Heart Infusion Broth (BHIB).

#### **4.6.5 Alat dan Bahan untuk Uji Efektivitas Acemannan**

##### **terhadap Pertumbuhan *E. Faecalis* Menggunakan**

###### **Metode Dilusi dan Difusi.**

Alat dan bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah tabung reaksi, rak tabung reaksi, bunsen brander, ose, mikropipet, inkubator, spidol, kertas label, BHI Agar, BHI Broth, isolat *E. faecalis*, acemannan powder, NaOCl 5.25%, dan aquadest.



**Gambar 4.1 Rancangan Operasional Penelitian**

Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas Brawijaya

#### **4.7.1 Identifikasi Bakteri**

##### **4.7.1.1 Pewarnaan Gram**

Menurut Fitri (2011), tahapan identifikasi bakteri dengan pewarnaan gram:

1. Ambilah akuades kemudian teteskan pada kaca objek ditambahkan 1 ose biakan sampel, lalu difiksasi di atas api.
2. Meneteskan pewarnaan kristal violet dan biarkan selama 1 menit, cuci dengan air mengalir,
3. Meneteskan lugol biarkan selama satu menit dan kembali dicuci dengan air mengalir.
4. Meneteskan alkohol 96% biarkan selama 10-20 detik, cuci dengan air mengalir.
5. Menambahkan safranin biarkan selama 20-30 detik kemudian cuci lagi dengan air mengalir.
6. Mengeringkan dengan menggunakan kertas serap dan menambahkan minyak emersi dan mengamati di bawah mikroskop.
7. Bila hasil pewarnaan diperoleh bakteri berwarna merah maka bakteri tersebut adalah bakteri gram negatif, sedangkan bila diperoleh bakteri berwarna ungu maka bakteri tersebut adalah gram positif.
8. Hasil Positif: *E. faecalis* merupakan bakteri kokus sedikit lonjong (ovoid) dan berwarna ungu (gram positif).

##### **4.7.1.2 Uji Katalase**

Menurut Dewi (2013), tahapan identifikasi bakteri dengan uji katalase:

1. Meneteskan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) 3% pada gelas obyek yang bersih
2. Bakteri dioleskan pada gelas obyek yang sudah ditetes hidrogen peroksida dengan ose.
3. Suspensi dicampur secara perlahan menggunakan ose
4. Hasil yang positif ditandai oleh terbentuknya gelembung udara.
5. Hasil negatif: *E. faecalis* merupakan bakteri anaerob fakultatif (tidak ada gelembung udara).

#### **4.7.1.3 Uji Oksidase**

Menurut Anggraini (2016), tahapan identifikasi bakteri dengan uji oksidase:

1. Satu ose isolat bakteri dioleskan pada kertas oksidase.
2. Pengamatan dilakukan pada perubahan warna kertas (selama 1 menit).
3. Uji positif ditandai dengan perubahan warna kertas menjadi biru dan uji negatif ditandai dengan tidak terjadi perubahan warna pada kertas.
4. Hasil negatif: *E. faecalis* tidak memiliki enzim oksidase (tidak ada perubahan warna pada kertas).

#### **4.7.2 Persiapan Suspensi Uji Bakteri *E. faecalis***

Menurut Fatisa (2013) dan Andayani (2016), tahapan pembuatan suspensi bakteri uji *E. faecalis*, sebagai berikut:

1. Larutan Standard Mc. Farland dengan komposisi: Larutan asam sulfat 1% 9,95 ml, larutan barium klorida 1,175% 0,05 ml. Cara pembuatan: Kedua larutan di atas dicampurkan ke dalam tabung reaksi dan dikocok homogen. Apabila kekeruhan suspensi bakteri uji adalah sama dengan kekeruhan larutan standard, berarti konsentrasi suspensi bakteri adalah  $10^8$  CFU/ml.
2. Persiapan Inokulum (Bakteri *E. faecalis*)
  - a Stok kultur *E. faecalis* yang telah tumbuh diambil dengan kawat ose steril.
  - b Pembuatan suspensi *E. faecalis* dilakukan dengan memindahkan 1-2 ose koloni *E. faecalis* dari cawan petri ke dalam tabung reaksi berisi larutan NaCl 0,9% menggunakan jarum ose.
  - c Selanjutnya kekeruhan suspensi diukur menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 625 nm dan nilai absorbansi 0,08-0,1 atau setara dengan McFarland 0,5 atau  $1,5 \times 10^8$  colony forming unit (CFU)/ml.

d Setelah itu dilakukan pengenceran dengan memipet 0,1 ml suspensi bakteri ( $10^8$  CFU/ml), dimasukkan ke dalam tabung steril dan ditambahkan larutan natrium klorida

Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas Brawijaya  
0,9% sebanyak 9,9 ml dan dikocok homogen. Dari sini  
diperoleh suspensi bakteri dengan konsentrasi  $10^6$  CFU/ml.

#### 4.7.3 Pembuatan Berbagai Konsentrasi Larutan Acemannan

Tahapan pembuatan larutan acemannan dalam berbagai konsentrasi dengan menggunakan pelarut dan pengenceran acemannan *powder* dengan aquadest.

1. Pengenceran dilakukan dengan menggunakan rumus :

$$\% = \frac{W * 100}{V}$$

Keterangan :

% = Persentase ekstrak yang dibutuhkan

W = Berat (g)

V= Volume pelarut yang diinginkan (mL)

Acemannan *powder* sebanyak 10 mg dilarutkan menjadi 10 mg/ml (sesuai tabung). Penelitian ini menggunakan larutan acemannan sebanyak 500  $\mu$ l atau sama dengan 0,5 ml larutan acemannan dengan konsentrasi 10 mg/ml (10.000  $\mu$ g/mL).

2. Larutan acemannan sebanyak 0,5 ml dengan konsentrasi 10.000  $\mu$ g/mL, diencerkan menjadi 2,5 ml dengan konsentrasi 2000  $\mu$ g/mL.
3. Larutan acemanan sebanyak 0,5 ml dengan konsentrasi 2000  $\mu$ g/mL + 0,5 ml aquadest. Menghasilkan 1 ml larutan acemanna dengan konsentrasi 1000  $\mu$ g/mL.
4. Larutan acemanan sebanyak 0,5 ml dengan konsentrasi 1000  $\mu$ g/mL + 0,5 ml aquadest. Menghasilkan 1 ml larutan acemanna dengan konsentrasi 500  $\mu$ g/mL.
5. Larutan acemanan sebanyak 0,5 ml dengan konsentrasi 500  $\mu$ g/mL + 0,5 ml aquadest. Menghasilkan 1 ml larutan acemanna dengan konsentrasi 250  $\mu$ g/mL.
6. Larutan acemanan sebanyak 0,5 ml dengan konsentrasi 250  $\mu$ g/mL + 0,5 ml aquadest. Menghasilkan 1 ml larutan acemanna dengan konsentrasi 125  $\mu$ g/mL.

#### 4.7.4 Penelitian Pendahuluan dengan Metode Serial Dilution

Prosedur penelitian pendahuluan dilakukan dengan menggunakan metode serial dilution menggunakan media cair Brain Heart Infusion Broth (BHIB) dengan berbagai konsentrasi acemannan, yaitu:

- a. Menyediakan 7 tabung reaksi steril, kemudian diberi tanda besarnya konsentrasi acemannan, yaitu: 2000 µg/mL; 1000 µg/mL; 500 µg/mL; 250 µg/mL; 125 µg/mL. Dua tabung reaksi lainnya digunakan untuk kontrol positif dan negatif.
- b. Volume yang digunakan dalam setiap tabung reaksi adalah 0.5 ml, sehingga volume larutan acemannan sesuai dengan pengenceran yang dibuat sebelumnya dan dicampur dengan media cair BHIB.
- c. Setiap tabung reaksi ditambahkan suspensi bakteri uji (*E. Faecalis*), kemudian diinkubasi pada suhu 37<sup>o</sup> selama 18-24 jam.
- d. Kemudian dilakukan pengamatan terhadap koloni bakteri *E.faecalis* yang tumbuh pada tabung reaksi yang telah diinkubasi dengan mengamati kekeruhan masing-masing tabung reaksi.
- e. Menentukan konsentrasi acemannan yang akan dilakukan uji efektivitas dengan melihat *range* antara konsentrasi acemannan pada tabung reaksi yang tidak ditemukan pertumbuhan koloni bakteri *E.faecalis* dengan konsentrasi acemannan yang pada tabung reaksi satu tingkat dibawahnya dimana masih ditemukan adanya pertumbuhan koloni bakteri.

#### **4.7.5 Uji efektivitas**

Prosedur Uji efektivitas acemannan yang dilakukan menggunakan metode dilusi dengan media cair BHIB, yaitu:

- a. Masing-masing tabung reaksi diberi tanda sesuai besar konsentrasi larutan acemannan sesuai *range* yang didapat dari uji pendahuluan.



- b. Volume larutan acemannan yang digunakan adalah 0.5 ml, dicampur dengan menggunakan media cair BHIB sebanyak 0.5 ml.
- c. Menambahkan suspensi bakteri yang telah diencerkan kedalam masing-masing tabung sebanyak 0.5 ml
- d. Semua tabung diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C.
- e. Mengamati dan menganalisis kekeruhan masing-masing tabung menggunakan kertas bergaris hitam putih untuk menentukan Kadar Hambat Minimal (KHM).
- f. Membuat *Original Inoculum* (OI) dengan cara streaking larutan kontrol negatif. OI dibuat untuk menentukan Kadar Bunuh Minimal (KBM).
- g. Menentukan KBM dilakukan dengan meletakkan bakteri dalam tabung yang jernih sebanyak 1 ose pada medium agar BHIA. Kemudian diinkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37°C.
- h. KBM diketahui dengan cara menghitung jumlah koloni bakteri dengan *colony counter*, dapat juga dihitung secara manual dengan pengamat minimal tiga orang. 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 Analisis Data

- 1 Uji normalitas dengan *Sapiro-Wilk* oleh karena besar sampel penelitian  $\leq 50$  dan Uji homogenitas varian.
- 2 Uji *one way* ANOVA (Analisa varian satu arah) untuk menguji perbedaan pengaruh acemannan pada masing-masing konsentrasi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. faecalis*.

- 3 Uji korelasi Pearson untuk menunjukkan apakah ada hubungan konsentrasi acemannan dengan jumlah pertumbuhan bakteri *E. faecalis*, yaitu untuk mengetahui arah hubungan tersebut, apakah dengan Universitas Brawijaya peningkatan konsentrasi akan terjadi penurunan Universitas Brawijaya jumlah koloni dan sebaliknya, atau tidak berhubungan.
- 4 Uji statistik Non Parametrik apabila distribusi data tidak normal (uji *Kruskal Wallis*; uji korelasi *Spearman*)

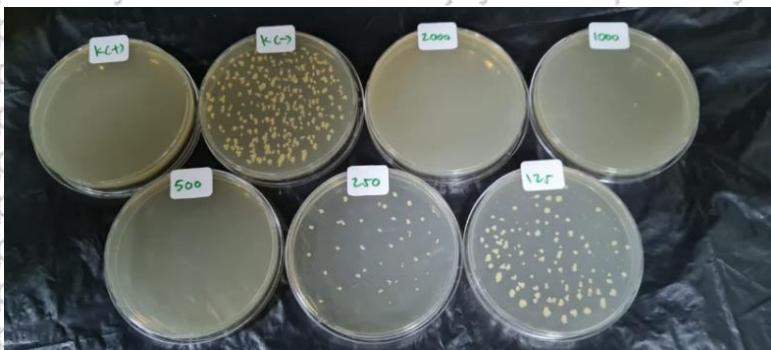
## BAB V

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 5.1 Hasil Uji Pendahuluan

Uji pendahuluan dilakukan untuk mengetahui ketelitian rentang konsentrasi larutan acemannan yang efektif menghambat pertumbuhan bakteri *E. faecalis*. Uji pendahuluan pada penelitian ini dilakukan menggunakan metode *serial dilution* dengan konsentrasi larutan acemannan 2000  $\mu\text{g/mL}$ , 1000  $\mu\text{g/mL}$ , 500  $\mu\text{g/mL}$ , 250  $\mu\text{g/mL}$ , 125  $\mu\text{g/mL}$ .

Hasil dari uji pendahuluan dengan konsentrasi 2000  $\mu\text{g/mL}$ , 1000  $\mu\text{g/mL}$ , 500  $\mu\text{g/mL}$ , 250  $\mu\text{g/mL}$ , 125  $\mu\text{g/mL}$ , masih didapatkan pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi 250  $\mu\text{g/mL}$  dan tidak didapatkan pertumbuhan koloni bakteri mulai konsentrasi 500  $\mu\text{g/mL}$ . Maka untuk mencari konsentrasi yang merupakan KHM dilanjutkan dengan melakukan uji perapatan. Konsentrasi yang digunakan adalah 200  $\mu\text{g/mL}$ , 250  $\mu\text{g/mL}$ , 300  $\mu\text{g/mL}$ , 400  $\mu\text{g/mL}$ , 500  $\mu\text{g/mL}$ .

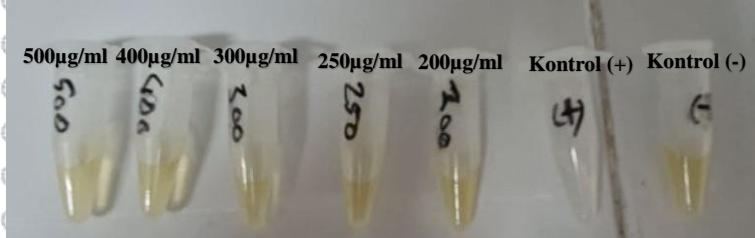


**Gambar 5.1 Hasil Uji Pendahuluan**

#### 5.2 Hasil Penelitian

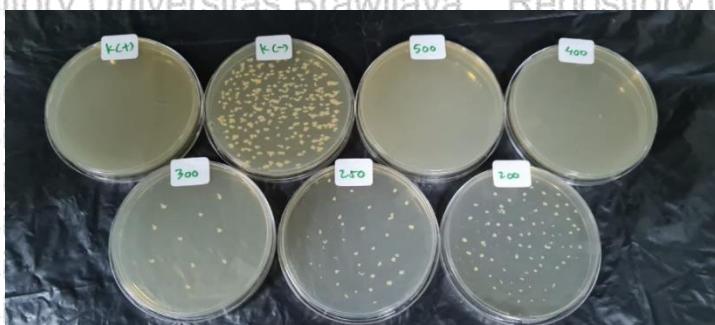
KHM (Kadar Hambat Minimal) adalah konsentrasi terendah dari larutan acemannan yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. faecalis*. KHM diamati secara kualitatif dengan mengamati kekeruhan setiap tabung. Pada penelitian ini diamati dengan konsentrasi 200  $\mu\text{g/mL}$ , 250  $\mu\text{g/mL}$ , 300  $\mu\text{g/mL}$ , 400  $\mu\text{g/mL}$ , 500  $\mu\text{g/mL}$ . Tabung terlihat mulai jernih pada konsentrasi

Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas Brawijaya  
300  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , sehingga larutan acemannan dengan konsentrasi 300  $\mu\text{g}/\text{ml}$  ditetapkan sebagai nilai KHM.



**Gambar 5.2 Hasil Penentuan KHM Menggunakan Dilusi Tabung**

KBM (Kadar Bunuh Minimal) ditentukan dengan pengoresan ulang dari masing-masing tabung pada media BHI-A. Nilai KBM dapat diketahui melalui jumlah koloni pada konsentrasi yang kurang dari 0,1% dari jumlah koloni yang terdapat di original inoculum atau tidak ada koloni bakteri yang tumbuh. Hasil dari pengoresan ulang pada media BHI-A (*streaking method*), pada konsentrasi 400  $\mu\text{g}/\text{ml}$  sudah tidak terdapat pertumbuhan bakteri pada cawan petri.



**Gambar 5.3 Hasil Streaking pada Media BHI-A**

**Tabel 5.1 Hasil Perhitungan Pertumbuhan Koloni Bakteri *E. faecalis* (CFU/ml)**

Konsentrasi	Jumlah Koloni			Total	Rerata
	I	II	III		
Kontrol (-)	174	164	171	509	169.67
200 $\mu\text{g}/\text{ml}$	66	72	78	216	72.00
250 $\mu\text{g}/\text{ml}$	31	33	36	100	33.33



300 $\mu\text{g}/\text{ml}$	10	10	12	32	10.67
400 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0	0	0	0	0
500 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0	0	0	0	0
Kontrol (+)	0	0	0	0	0

Berdasarkan tabel di atas terdapat perbedaan jumlah pertumbuhan koloni bakteri. Pada kontrol negatif menggunakan *aquadest* dengan rerata jumlah koloni bakteri 169.67. Jumlah koloni bakteri menurun sejalan dengan peningkatan konsentrasi larutan acemannan. Kontrol positif menggunakan 5.25% NaOCl memiliki rerata jumlah koloni bakteri 0 atau tidak ada pertumbuhan bakteri.

### 5.3 Analisis Data

Hasil penelitian ini menggunakan SPSS versi 22.0 untuk mengolah data penelitian. Analisis data dibuat berdasarkan jumlah koloni bakteri *E. faecalis* yang tumbuh pada media BHI-A. Data yang ada akan diuji normalitasnya terlebih dahulu menggunakan Uji Shapiro-wilk karena sampel data kurang dari 50 sampel.

#### 5.3.1 Hasil Uji Normalitas Data

Uji normalitas pada penelitian ini dilakukan menggunakan Uji Shapiro-Wilk karena jumlah data 21 ( $n < 50$ ). Uji normalitas terpenuhi jika nilai signifikansi hasil perhitungan  $p > 0.05$  maka data terdistribusi normal, kemudian dapat dilanjutkan dengan uji parametrik. Jika nilai  $p < 0.05$  maka data tidak terdistribusi normal, kemudian dapat dilanjutkan dengan uji non-parametrik.

**Tabel 5.2 Hasil Uji Normalitas dengan *Shapiro-Wilk Test***

Konsentrasi	Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig
Jumlah Koloni Kontrol Negatif	0.949	3	0.567
200 $\mu\text{g}/\text{ml}$	1.000	3	1.000
250 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.987	3	0.780
300 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.750	3	0.000

Berdasarkan tabel 5.2 diatas uji normalitas Shapiro-Wilk menunjukkan terdapat salah satu data dengan nilai signifikansi dibawah 0.05, yaitu pada larutan aceamannan dengan konsentrasi 300  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . sementara, pada konsentrasi 400  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 500  $\mu\text{g}/\text{ml}$  dan Kontrol positif tidak diperhitungkan karena datanya konstan. Jika



terdapat minimal satu data yang nilai signifikansi kurang dari 0,05, maka dapat disimpulkan data rerata jumlah koloni bakteri *Enterococcus faecalis* tidak terdistribusi normal.

**Tabel 5.3 Hasil Uji Homogenitas**

jumlah_koloni			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.495	6	14	0.025

Pengujian homogenitas varian dilakukan menggunakan *Levene's Test*. Uji homogenitas terpenuhi jika nilai signifikansi  $> 0.05$ . Hasil uji homogenitas pada data penelitian ini menunjukkan nilai 0.025, yang berarti distribusi data tidak homogen. Setelah itu dilanjutkan dengan menggunakan uji non-parametrik.

### 5.3.2 Hasil Uji Kruskal Wallis

**Tabel 5.4 Hasil Uji Kruskal Wallis**

	Rerata (SB)	Sig (p)
Kontrol (-)	169.67 (5.13)	0.003
200 µg/ml	72.00 (6.00)	
250 µg/ml	33.33 (2.51)	
300 µg/ml	10.67 (1.16)	

Ho: tidak terdapat perbedaan pemberian larutan acemannan dengan berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*.

Ha: terdapat perbedaan pemberian larutan acemannan dengan berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*.

Berdasarkan data diatas nilai  $\text{Sig}(p) = 0.003 < 0.05$  maka terdapat perbedaan atau Ho ditolak dan Ha diterima, maka dapat disimpulkan terdapat perbedaan pemberian larutan acemannan dengan berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*.

### 5.3.3 Hasil Uji Mann Whitney

**Tabel 5.5 Hasil Uji Mann Whitney**

Konsentrasi larutan acemannan	Konsentrasi larutan acemannan kontrol (-)	Sig (p)	Keputusan
200 µg/ml	kontrol (-)	0.050	Signifikan



	250 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.050	Signifikan
	300 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.046	Signifikan
	400 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.037	Signifikan
	500 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.037	Signifikan
	kontrol (+)	0.037	Signifikan
250 $\mu\text{g}/\text{ml}$	Kontrol (-)	0.050	Signifikan
	300 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.046	Signifikan
	400 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.037	Signifikan
	500 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.037	Signifikan
	kontrol (+)	0.037	Signifikan
300 $\mu\text{g}/\text{ml}$	Kontrol (-)	0.046	Signifikan
	400 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.034	Signifikan
	500 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.034	Signifikan
	Kontrol (+)	0.034	Signifikan
400 $\mu\text{g}/\text{ml}$	Kontrol (-)	0.037	Signifikan
	500 $\mu\text{g}/\text{ml}$	1.00	Tidak signifikan
	Kontrol (+)	1.00	Tidak signifikan
500 $\mu\text{g}/\text{ml}$	Kontrol (-)	0.037	Signifikan
	Kontrol (+)	1.00	Tidak signifikan
Kontrol (+)	Kontrol (-)	0.037	Signifikan

Berdasarkan hasil uji perbedaan (Uji Mann Whitney) jumlah koloni *E.faecalis* antar kelompok memiliki nilai  $p \leq 0.05$ , hal ini menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antar kelompok penelitian. Namun ada beberapa data yang menunjukkan nilai  $p \geq 0.05$  yang berarti tidak ada perbedaan bermakna antar kelompok penelitian yaitu antara konsentrasi larutan acemannan 400  $\mu\text{g}/\text{ml}$  dan 500  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ; 400  $\mu\text{g}/\text{ml}$  dan kontrol positif; 500  $\mu\text{g}/\text{ml}$  dan kontrol positif.

### 5.3.4 Hasil Uji korelasi Spearman

Tabel 5.6 Hasil Uji Korelasi Spearman

Rata-rata Koloni		
Konsentrasi Acemannan	Correlation Coefficient (R)	Sig (2-tailed) (p)
	-0.96	0.00

	N	21
--	---	----

Ho: Tidak ada hubungan antara pemberian acemannan dengan pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*.

Ha: ada hubungan antara pemberian acemannan dengan pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*.

(1) Signifikansi atau Sig.(2-tailed) sebesar  $0 < \text{lebih kecil dari } 0.05$ , berarti ada hubungan yang signifikan antara variabel pemberian acemannan dengan pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*(jumlah koloni).

(2) Koefisien korelasi sebesar  $-0,959$  yang berarti tingkat kekuatan hubungan (korelasi) antara variabel pemberian acemannan dengan pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*(jumlah koloni) sangat kuat karena mendekati  $\pm 1$ .

(3) Koefisien korelasi pada hasil diatas bernilai negatif, yaitu  $-0,959$ , sehingga hubungan kedua variabel tersebut tidak searah, dengan demikian dapat diartikan bahwa semakin meningkat konsentrasi acemannan yang diberikan maka pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis* semakin menurun.

Berdasarkan data diatas dapat disimpulkan bahwa Ho ditolak dan Ha diterima yang berarti ada hubungan yang signifikan yang sangat kuat dan tidak searah antara pemberian acemannan dengan pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*.

#### 5.4 Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efektivitas pemberian acemannan terhadap bakteri *E.faecalis* secara *in vitro* dengan menggunakan metode dilusi tabung dan *streaking*. KHM dan KBM pada penelitian ini ditentukan dengan menghitung jumlah koloni bakteri *E. faecalis*. Bakteri *E. faecalis* yang digunakan di penelitian ini berasal dari Laboratorium Mikrobiologi Research Center Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, yang sudah tersertifikasi sehingga terjamin kualitasnya dan terkarakterisasi sebagai *E. faecalis* ATCC 29212 PK melalui pemeriksaan pengecatan gram dan uji biokimiawi.

Pada Uji pendahuluan, konsentrasi larutan acemannan yang digunakan adalah  $2000 \mu\text{g/ml}$ ,  $1000 \mu\text{g/ml}$ ,  $500 \mu\text{g/ml}$ ,  $250 \mu\text{g/ml}$ ,

125  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Kontrol positif menggunakan 5.25% NaOCl dan kontrol negatif menggunakan *aquadest*. Hasil uji pendahuluan menggunakan metode dilusi tabung, menunjukkan tabung dengan konsentrasi larutan acemannan 500  $\mu\text{g}/\text{ml}$  tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri, sementara pada konsentrasi 250  $\mu\text{g}/\text{ml}$  masih terdapat pertumbuhan bakteri *E. faecalis*. Oleh karena itu dilakukan uji perapatan antara konsentrasi 250  $\mu\text{g}/\text{ml}$  dan 500  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , uji perapatan dipilih konsentrasi yaitu 200  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 250  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 300  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 400  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 500  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 5.25% NaOCl dan *aquadest*.

Nilai KHM (Kadar Hambat Minimum) ditentukan melalui metode dilusi tabung. Hasil uji metode dilusi tabung menunjukkan tabung mulai tampak jernih pada konsentrasi 300  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , sehingga nilai KHM dari larutan acemannan pada konsentrasi 300  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Setelah itu dilakukan streaking bakteri pada media BHI-A untuk menentukan Nilai KBM (Kadar Bunuh Minimum). Nilai KBM dapat ditentukan jika hasil penggoresan tabung pada plate ada yang menunjukkan jumlah koloni yang kurang dari 0,1% dari jumlah koloni yang terdapat di *original inoculum* atau tidak ada koloni bakteri yang tumbuh (Fitriana *et al.*, 2020). Pada penelitian ini, konsentrasi larutan acemannan 400  $\mu\text{g}/\text{ml}$  tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri, sehingga dapat diketahui nilai KBM dari larutan acemannan pada konsentrasi 400  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .

Uji Kruskal Wallis dilakukan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan jumlah koloni *E. faecalis* setelah pemberian berbagai konsentrasi larutan acemannan. Hasil Uji Kruskal Wallis yang didapatkan nilai  $p = 0.003$ , dapat dilihat di tabel 5.4. Oleh karena nilai  $p < 0.05$ , maka kesimpulannya “terdapat perbedaan pemberian larutan acemannan dengan berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*”. Hal ini disebabkan karena acemannan merupakan senyawa aktif yang terkandung dalam *Aloe vera* yang bersifat antibakteri dan mampu mengaktifkan makrofag sehingga menyebabkan terjadinya fagositosis (Handayani, 2019).

Uji Post Hoc menggunakan Uji Mann Whitney dilakukan untuk mengetahui perbedaan yang bermakna pada jumlah koloni bakteri antara dua macam konsentrasi yang berbeda (Achwandi *et al.*, 2015). Hasil Uji Mann Whitney dapat dilihat pada tabel 5.5, terdapat perbedaan jumlah koloni bakteri yang bermakna antara



semua kelompok jika dibandingkan satu persatu terhadap konsentrasi dibawah 400  $\mu\text{g}/\text{ml}$  karena nilai  $p \leq 0.05$ . Namun tidak terdapat perbedaan jumlah koloni yang bermakna di atas dan di konsentrasi 400  $\mu\text{g}/\text{ml}$  karena nilai  $p=1$ , hal ini terjadi karena tidak terdapat penurunan jumlah koloni yang bermakna (konstan tidak terdapat pertumbuhan bakteri) pada peningkatan konsentrasi berikutnya setelah konsentrasi 400  $\mu\text{g}/\text{ml}$  ( $p > 0.05$ ).

Uji Korelasi Spearman dilakukan untuk menganalisis hubungan antara variabel dependen (jumlah koloni bakteri *E. faecalis*) dengan variabel independen (konsentrasi larutan acemannan). Dapat dilihat pada tabel 5.6 hasil Uji Korelasi Spearman menunjukkan nilai  $p=0$  ( $p < 0.05$ ), berarti pada penelitian ini menunjukkan ada hubungan yang bermakna antara dua variabel. *Correlation coefficient* ( $R$ ) menunjukkan nilai  $-0.96$  yang berarti menunjukkan hubungan sangat kuat. Nilai negatif menunjukkan hubungannya tidak searah antara pemberian acemannan dengan pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*, artinya meningkatnya konsentrasi larutan acemannan yang diberikan diikuti dengan penurunan pertumbuhan bakteri *E. faecalis*. Hal ini diperkirakan terjadi karena senyawa aktif acemannan mempunyai gugus asetil, konsentrasi larutan acemannan yang semakin meningkat diikuti gugus asetil yang ada juga makin meningkat. Gugus asetil mempunyai peranan penting dalam menghambat aktivitas *autolysis*, yang merupakan salah satu faktor virulensi dari *E. faecalis* yang memicu perlekatan bakteri dengan dinding saluran akar (Stinemetz *et al.*, 2017). Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Salah *et al* (2017), yang menyatakan semakin rendahnya derajat deasetilasi acemannan maka efektivitas antibakteri dari acemannan terhadap bakteri gram positif (*E. faecalis*) semakin meningkat, yang menyebabkan pertumbuhan bakteri *E. faecalis* menurun.

## **BAB VI** **PENUTUP**

### **6.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian acemannan efektif sebagai antibakteri terhadap bakteri *E.faecalis* secara *in vitro*.
2. Nilai Kadar Hambat Minimal (KHM) acemannan terhadap bakteri *E.faecalis* dapat diidentifikasi melalui metode dilusi cair dengan konsentrasi acemannan sebesar 300 µg/ml.
3. Nilai Kadar Bunuh Minimal (KBM) acemannan terhadap bakteri *E.faecalis* dapat diidentifikasi melalui metode streaking pada media BHI-A dengan konsentrasi acemannan sebesar 400 µg/ml.
4. Terdapat hubungan yang kuat dan tidak searah antara peningkatan konsentrasi acemannan dan pertumbuhan bakteri *E.faecalis*.

### **6.2 Saran**

Penelitian ini tidak lepas dari adanya kesalahan, kekurangan dan keterbatasan, penulis memberikan saran untuk pengembangan dan perbaikan penelitian kedepannya:

1. Diperlukan penelitian lebih lanjut tentang KHM (Kadar Hambat Minimum) dari acemannan terhadap pertumbuhan bakteri *E.faecalis* dengan menggunakan metode yang lain.
2. Diperlukan penelitian lanjutan mengenai efek antibakteri acemannan secara *in vivo* pada berbagai hewan coba maupun clinical trial untuk melihat farmakodinamik, farmakokinetik dan toksisitas acemannan agar pemanfaatan zat aktif ini dapat diaplikasikan ke manusia.

Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas Brawijaya  
**LAMPIRAN**  
Repository Universitas Brawijaya

**Lampiran 1**



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

Wan Veteran, Malang - 65145, Indonesia

Telp. 0341-576161

E-mail : [fkg@ub.ac.id](mailto:fkg@ub.ac.id)

<http://www.fkg.ub.ac.id>

**FORMULIR PERMOHONAN IJIN PENELITIAN**

Nama : Kristina Puspo  
NIM : 175160107111007  
Semester : 7  
No. HP : 082140434696  
Program Studi : Sarjana Kedokteran Gigi  
**Tujuan Penelitian** : Studi Pendahuluan / Uji Validitas / Pengambilan Data / Uji Efik  
**Judul Proposal** : Uji Efektivitas Acemanan sebagai Bahan Irrigasi Saluran Akar terhadap Pertumbuhan Bakteri Enterococcus faecalis secara In Vitro

Dosen Pembimbing : 1. Dr. drg. Yuli Nugraeni, Sp.KG

**Tujuan (tempat)** : 1. Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga

Malang, 23 September 2020  
Mahasiswa,

KRISTINA PUSPO

NIM 175160107111007



## Lampiran 2

remel

## **Certificate of Quality**

**Product Name:** E. faecalis ATCC 29212 PK/5  
**Lot Number:** 427963

**Product Number:** R4607030  
**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:**

**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 Positive Cocci Biochemical Profile: Remel RapID STR

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

Signed

Nichelle Ann Stone

## Quality Control Supervisor

12076 Santa Fe Drive, Lawrence, KS 66218 | 800.255.6230 | 913.888.0930 | [www.ram1.com](http://www.ram1.com)

Page 1 of 1

**Lampiran 3**  
Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas BrawijayaKEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
RESEARCH CENTERJalan Mayjen.Prof.Dr.Moestopo 47 Surabaya 60132 Telp. (031) 5030255, Fax (031) 5020256  
Website : <http://www.fkg.unair.id> - E-mail : [fkgua.skr@gmail.com](mailto:fkgua.skr@gmail.com)

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

Nama : Kristina Puspo

NIM : 175160107111007

Judul : Uji Efektivitas Acemannan Sebagai Bahan Irrigasi Saluran Akar Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Enterococcus faecalis* Secara *In Vitro*

TABEL HASIL PENELITIAN

No.	Kontrol (-)	Kontrol (+)	2000	1000	500	250	125
1.	168	-	-	-	-	28	76

No.	Kontrol (-)	Kontrol (+)	500	400	300	250	200
1.	174	-	-	-	10	31	66
2.	164	-	-	-	10	33	72
3.	171	-	-	-	12	36	78

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

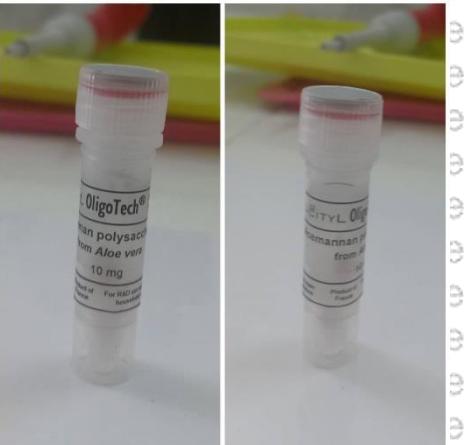
Penanggung Jawab :  
Dr. Hendrik Setia Budi, drg., M.Kes  
NIP. 197206101999031002

Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas Brawijaya  
**Lampiran 4**  
Repository Universitas Brawijaya

### **Dokumentasi Penelitian**

Repository Universitas Brawijaya

Repository



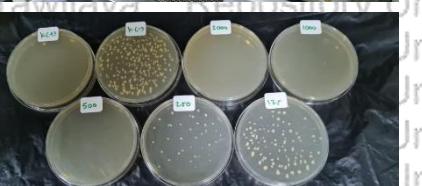
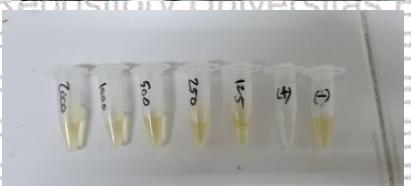
Acemannan powder, untuk pembuatan larutan acemannan



Pembuatan kultur bakteri *E. faecalis*

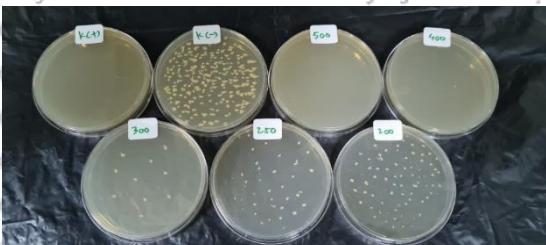


Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas Brawijaya



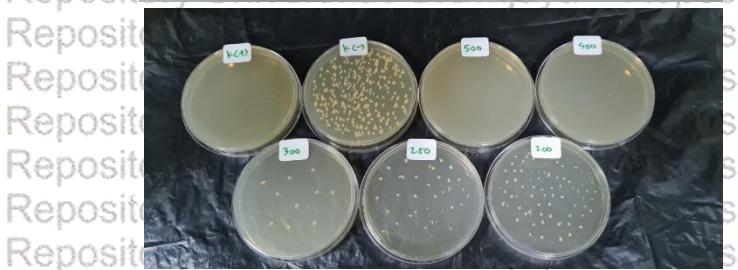
Hasil Uji Pendahuluan

Repository Universitas Brawijaya



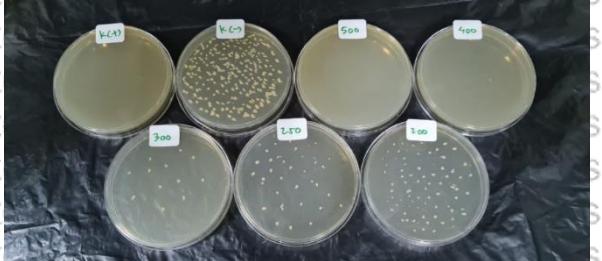
Hasil Penelitian- Pengulangan 1

Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas Brawijaya



Hasil Penelitian- Pengulangan 2

Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas Brawijaya



Hasil Penelitian- Pengulangan 3

Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas Brawijaya

**Lampiran 5****Hasil Uji Statistik****Uji Normalitas dengan Shapiro-Wilk Test****Tests of Normality<sup>a,c,d</sup>**

Konsentrasi	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
jumlah_koloni kontrol negatif	.269	3	.	.949	3	.567
200 µg/ml	.175	3	.	1.000	3	1.000
250 µg/ml	.219	3	.	.987	3	.780
300 µg/ml	.385	3	.	.750	3	.000

a. Lilliefors Significance Correction

b. jumlah\_koloni is constant when konsentrasi = 400 µg/ml. It has been omitted.

c. jumlah\_koloni is constant when konsentrasi = 500 µg/ml. It has been omitted.

d. jumlah\_koloni is constant when konsentrasi = kontrol positif. It has been omitted.

**Uji Homogenitas Varian****Test of Homogeneity of Variances**

jumlah\_koloni

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.495	6	14	.025

**Uji Kruskal-Wallis**

	jumlah_koloni
Chi-Square	19.789
df	6
Asymp. Sig.	.003

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

konsentrasi

Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas Brawijaya  
Uji Post Hoc – Mann Whitney

Konsentrasi Acemannan	Hasil Uji Mann Whitney																																		
I	II																																		
200 $\mu\text{g/ml}$	<p>Kontr ol (-)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="2">Ranks</th> </tr> <tr> <th></th> <th>konsentrasi acemannan</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>jumlah koloni bakteri</td> <td>kontrol negatif</td> </tr> <tr> <td></td> <td>200 <math>\mu\text{g/ml}</math></td> </tr> <tr> <td>Total</td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td>N</td> </tr> <tr> <td></td> <td>3</td> </tr> <tr> <td></td> <td>Mean Rank</td> </tr> <tr> <td></td> <td>5.00</td> </tr> <tr> <td></td> <td>Sum of Ranks</td> </tr> <tr> <td></td> <td>15.00</td> </tr> </tbody> </table> <p><b>Test Statistics*</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>jumlah koloni bakteri</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Mann-Whitney U</td> <td>.000</td> </tr> <tr> <td>Wilcoxon W</td> <td>6.000</td> </tr> <tr> <td>Z</td> <td>-1.964</td> </tr> <tr> <td>Asymp. Sig. (2-tailed)</td> <td>.050</td> </tr> <tr> <td>Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]</td> <td>.100</td> </tr> </tbody> </table> <p>a. Grouping Variable: konsentrasi acemannan b. Not corrected for ties.</p>	Ranks			konsentrasi acemannan	jumlah koloni bakteri	kontrol negatif		200 $\mu\text{g/ml}$	Total			N		3		Mean Rank		5.00		Sum of Ranks		15.00		jumlah koloni bakteri	Mann-Whitney U	.000	Wilcoxon W	6.000	Z	-1.964	Asymp. Sig. (2-tailed)	.050	Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100
Ranks																																			
	konsentrasi acemannan																																		
jumlah koloni bakteri	kontrol negatif																																		
	200 $\mu\text{g/ml}$																																		
Total																																			
	N																																		
	3																																		
	Mean Rank																																		
	5.00																																		
	Sum of Ranks																																		
	15.00																																		
	jumlah koloni bakteri																																		
Mann-Whitney U	.000																																		
Wilcoxon W	6.000																																		
Z	-1.964																																		
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050																																		
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100																																		
250 $\mu\text{g/ml}$	<table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="2">Ranks</th> </tr> <tr> <th></th> <th>konsentrasi acemannan</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>jumlah koloni bakteri</td> <td>200 <math>\mu\text{g/ml}</math></td> </tr> <tr> <td></td> <td>250 <math>\mu\text{g/ml}</math></td> </tr> <tr> <td>Total</td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td>N</td> </tr> <tr> <td></td> <td>3</td> </tr> <tr> <td></td> <td>Mean Rank</td> </tr> <tr> <td></td> <td>5.00</td> </tr> <tr> <td></td> <td>Sum of Ranks</td> </tr> <tr> <td></td> <td>15.00</td> </tr> </tbody> </table> <p><b>Test Statistics*</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>jumlah koloni bakteri</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Mann-Whitney U</td> <td>.000</td> </tr> <tr> <td>Wilcoxon W</td> <td>6.000</td> </tr> <tr> <td>Z</td> <td>-1.964</td> </tr> <tr> <td>Asymp. Sig. (2-tailed)</td> <td>.050</td> </tr> <tr> <td>Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]</td> <td>.100</td> </tr> </tbody> </table> <p>a. Grouping Variable: konsentrasi acemannan b. Not corrected for ties.</p>	Ranks			konsentrasi acemannan	jumlah koloni bakteri	200 $\mu\text{g/ml}$		250 $\mu\text{g/ml}$	Total			N		3		Mean Rank		5.00		Sum of Ranks		15.00		jumlah koloni bakteri	Mann-Whitney U	.000	Wilcoxon W	6.000	Z	-1.964	Asymp. Sig. (2-tailed)	.050	Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100
Ranks																																			
	konsentrasi acemannan																																		
jumlah koloni bakteri	200 $\mu\text{g/ml}$																																		
	250 $\mu\text{g/ml}$																																		
Total																																			
	N																																		
	3																																		
	Mean Rank																																		
	5.00																																		
	Sum of Ranks																																		
	15.00																																		
	jumlah koloni bakteri																																		
Mann-Whitney U	.000																																		
Wilcoxon W	6.000																																		
Z	-1.964																																		
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050																																		
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100																																		



	300 µg/ml	<p><b>Ranks</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th><th>konsentrasi acemannan</th><th>N</th><th>Mean Rank</th><th>Sum of Ranks</th></tr> </thead> <tbody> <tr> <td>jumlah koloni bakteri</td><td>200 µg/ml</td><td>3</td><td>5.00</td><td>15.00</td></tr> <tr> <td></td><td>300 µg/ml</td><td>3</td><td>2.00</td><td>6.00</td></tr> <tr> <td></td><td>Total</td><td>6</td><td></td><td></td></tr> </tbody> </table> <p><b>Test Statistics*</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th><th>jumlah koloni bakteri</th></tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Mann-Whitney U</td><td>.000</td></tr> <tr> <td>Wilcoxon W</td><td>6.000</td></tr> <tr> <td>Z</td><td>-1.993</td></tr> <tr> <td>Asymp. Sig. (2-tailed)</td><td>.046</td></tr> <tr> <td>Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]</td><td>.100<sup>b</sup></td></tr> </tbody> </table>		konsentrasi acemannan	N	Mean Rank	Sum of Ranks	jumlah koloni bakteri	200 µg/ml	3	5.00	15.00		300 µg/ml	3	2.00	6.00		Total	6				jumlah koloni bakteri	Mann-Whitney U	.000	Wilcoxon W	6.000	Z	-1.993	Asymp. Sig. (2-tailed)	.046	Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>
	konsentrasi acemannan	N	Mean Rank	Sum of Ranks																														
jumlah koloni bakteri	200 µg/ml	3	5.00	15.00																														
	300 µg/ml	3	2.00	6.00																														
	Total	6																																
	jumlah koloni bakteri																																	
Mann-Whitney U	.000																																	
Wilcoxon W	6.000																																	
Z	-1.993																																	
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046																																	
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>																																	
a.	Grouping Variable: konsentrasi acemannan																																	
b.	Not corrected for ties.																																	
	400 µg/ml	<p><b>Ranks</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>konsentrasi acemannan</th> <th>N</th> <th>Mean Rank</th> <th>Sum of Ranks</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>jumlah koloni bakteri</td> <td>200 µg/ml</td> <td>3</td> <td>5.00</td> <td>15.00</td> </tr> <tr> <td></td> <td>400 µg/ml</td> <td>3</td> <td>2.00</td> <td>6.00</td> </tr> <tr> <td></td> <td>Total</td> <td>6</td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table> <p><b>Test Statistics*</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>jumlah koloni bakteri</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Mann-Whitney U</td> <td>.000</td> </tr> <tr> <td>Wilcoxon W</td> <td>6.000</td> </tr> <tr> <td>Z</td> <td>-2.087</td> </tr> <tr> <td>Asymp. Sig. (2-tailed)</td> <td>.037</td> </tr> <tr> <td>Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]</td> <td>.100<sup>b</sup></td> </tr> </tbody> </table>		konsentrasi acemannan	N	Mean Rank	Sum of Ranks	jumlah koloni bakteri	200 µg/ml	3	5.00	15.00		400 µg/ml	3	2.00	6.00		Total	6				jumlah koloni bakteri	Mann-Whitney U	.000	Wilcoxon W	6.000	Z	-2.087	Asymp. Sig. (2-tailed)	.037	Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>
	konsentrasi acemannan	N	Mean Rank	Sum of Ranks																														
jumlah koloni bakteri	200 µg/ml	3	5.00	15.00																														
	400 µg/ml	3	2.00	6.00																														
	Total	6																																
	jumlah koloni bakteri																																	
Mann-Whitney U	.000																																	
Wilcoxon W	6.000																																	
Z	-2.087																																	
Asymp. Sig. (2-tailed)	.037																																	
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>																																	
a.	Grouping Variable: konsentrasi acemannan																																	
b.	Not corrected for ties.																																	
	500 µg/ml	<p><b>Ranks</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>konsentrasi acemannan</th> <th>N</th> <th>Mean Rank</th> <th>Sum of Ranks</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>jumlah koloni bakteri</td> <td>200 µg/ml</td> <td>3</td> <td>5.00</td> <td>15.00</td> </tr> <tr> <td></td> <td>500 µg/ml</td> <td>3</td> <td>2.00</td> <td>6.00</td> </tr> <tr> <td></td> <td>Total</td> <td>6</td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table> <p><b>Test Statistics*</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>jumlah koloni bakteri</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Mann-Whitney U</td> <td>.000</td> </tr> <tr> <td>Wilcoxon W</td> <td>6.000</td> </tr> <tr> <td>Z</td> <td>-2.087</td> </tr> <tr> <td>Asymp. Sig. (2-tailed)</td> <td>.037</td> </tr> <tr> <td>Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]</td> <td>.100<sup>b</sup></td> </tr> </tbody> </table>		konsentrasi acemannan	N	Mean Rank	Sum of Ranks	jumlah koloni bakteri	200 µg/ml	3	5.00	15.00		500 µg/ml	3	2.00	6.00		Total	6				jumlah koloni bakteri	Mann-Whitney U	.000	Wilcoxon W	6.000	Z	-2.087	Asymp. Sig. (2-tailed)	.037	Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>
	konsentrasi acemannan	N	Mean Rank	Sum of Ranks																														
jumlah koloni bakteri	200 µg/ml	3	5.00	15.00																														
	500 µg/ml	3	2.00	6.00																														
	Total	6																																
	jumlah koloni bakteri																																	
Mann-Whitney U	.000																																	
Wilcoxon W	6.000																																	
Z	-2.087																																	
Asymp. Sig. (2-tailed)	.037																																	
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>																																	
a.	Grouping Variable: konsentrasi acemannan																																	
b.	Not corrected for ties.																																	



Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

		Ranks			
		konsentrasi acemannan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah koloni bakteri	200 µg/ml		3	5.00	15.00
	kontrol positif		3	2.00	6.00
	Total		6		

Test Statistics<sup>a</sup>

	jumlah koloni bakteri
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.087
Asymp. Sig. (2-tailed)	.037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: konsentrasi acemannan

b. Not corrected for ties.

		Ranks			
		konsentrasi acemannan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah koloni bakteri	kontrol negatif		3	5.00	15.00
	250 µg/ml		3	2.00	6.00
	Total		6		

Test Statistics<sup>a</sup>

	jumlah koloni bakteri
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: konsentrasi acemannan

b. Not corrected for ties.

		Ranks			
		konsentrasi acemannan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah koloni bakteri	250 µg/ml		3	5.00	15.00
	300 µg/ml		3	2.00	6.00
	Total		6		

Test Statistics<sup>a</sup>

	jumlah koloni bakteri
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: konsentrasi acemannan

b. Not corrected for ties.



Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas Brawijaya

	400 µg/ml	Ranks				
		konsentrasi acemannan	N	Mean Rank	Sum of Ranks	
		jumlah koloni bakteri				
		250 µg/ml	3	5.00	15.00	
		400 µg/ml	3	2.00	6.00	
		Total	6			
		Test Statistics*				
			jumlah koloni bakteri			
		Mann-Whitney U	.000			
		Wilcoxon W	6.000			
		Z	-2.087			
		Asymp. Sig. (2-tailed)	.037			
		Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>			
		a. Grouping Variable: konsentrasi acemannan				
		b. Not corrected for ties.				
	500 µg/ml	konsentrasi acemannan	N	Mean Rank	Sum of Ranks	
		jumlah koloni bakteri				
		250 µg/ml	3	5.00	15.00	
		500 µg/ml	3	2.00	6.00	
		Total	6			
		Test Statistics*				
			jumlah koloni bakteri			
		Mann-Whitney U	.000			
		Wilcoxon W	6.000			
		Z	-2.087			
		Asymp. Sig. (2-tailed)	.037			
		Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>			
		a. Grouping Variable: konsentrasi acemannan				
		b. Not corrected for ties.				
	Kontr ol (+)	konsentrasi acemannan	N	Mean Rank	Sum of Ranks	
		jumlah koloni bakteri				
		250 µg/ml	3	5.00	15.00	
		kontrol positif	3	2.00	6.00	
		Total	6			
		Test Statistics*				
			jumlah koloni bakteri			
		Mann-Whitney U	.000			
		Wilcoxon W	6.000			
		Z	-2.087			
		Asymp. Sig. (2-tailed)	.037			
		Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>			
		a. Grouping Variable: konsentrasi acemannan				
		b. Not corrected for ties.				

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Ranks					
	konsentrasi acemannan	N	Mean Rank	Sum of Ranks	
jumlah koloni bakteri	kontrol negatif	3	5.00	15.00	
	300 µg/ml	3	2.00	6.00	
	Total	6			

## Test Statistics\*

	jumlah koloni bakteri
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: konsentrasi acemannan

b. Not corrected for ties.

400  
µg/ml

Ranks					
	konsentrasi acemannan	N	Mean Rank	Sum of Ranks	
jumlah koloni bakteri	300 µg/ml	3	5.00	15.00	
	400 µg/ml	3	2.00	6.00	
	Total	6			

## Test Statistics\*

	jumlah koloni bakteri
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: konsentrasi acemannan

b. Not corrected for ties.

500  
µg/ml

Ranks					
	konsentrasi acemannan	N	Mean Rank	Sum of Ranks	
jumlah koloni bakteri	300 µg/ml	3	5.00	15.00	
	500 µg/ml	3	2.00	6.00	
	Total	6			

## Test Statistics\*

	jumlah koloni bakteri
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: konsentrasi acemannan

b. Not corrected for ties.



Kontr ol (+)	Ranks				
		konsentrasi acemannan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah koloni bakteri	300 µg/ml	3	5.00	15.00	
	kontrol positif	3	2.00	6.00	
Total		6			

Test Statistics <sup>a</sup>	
	jumlah koloni bakteri
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: konsentrasi acemannan  
b. Not corrected for ties.

400 µg/ml	Ranks				
		konsentrasi acemannan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah koloni bakteri	kontrol negatif	3	5.00	15.00	
	400 µg/ml	3	2.00	6.00	
Total		6			

Test Statistics <sup>a</sup>	
	jumlah koloni bakteri
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.087
Asymp. Sig. (2-tailed)	.037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: konsentrasi acemannan  
b. Not corrected for ties.



Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas Brawijaya

	500 µg/ml	Ranks				
		jumlah koloni bakteri	konsentrasi acemannan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
		400 µg/ml		3	3.50	10.50
		500 µg/ml		3	3.50	10.50
		Total		6		
	Kontrol (+)	Test Statistics <sup>a</sup>				
			jumlah koloni bakteri			
		Mann-Whitney U		4.500		
		Wilcoxon W		10.500		
		Z		.000		
		Asymp. Sig. (2-tailed)		1.000		
		Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		1.000 <sup>b</sup>		
a. Grouping Variable: konsentrasi acemannan						
b. Not corrected for ties.						
	500 µg/ml	Ranks				
		jumlah koloni bakteri	konsentrasi acemannan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
		400 µg/ml		3	3.50	10.50
		kontrol positif		3	3.50	10.50
		Total		6		
	Kontrol (-)	Test Statistics <sup>a</sup>				
			jumlah koloni bakteri			
		Mann-Whitney U		4.500		
		Wilcoxon W		10.500		
		Z		.000		
		Asymp. Sig. (2-tailed)		1.000		
		Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		1.000 <sup>b</sup>		
a. Grouping Variable: konsentrasi acemannan						
b. Not corrected for ties.						
	Kontrol (-)	Ranks				
		jumlah koloni bakteri	konsentrasi acemannan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
		kontrol negatif		3	5.00	15.00
		500 µg/ml		3	2.00	6.00
		Total		6		
		Test Statistics <sup>a</sup>				
			jumlah koloni bakteri			
		Mann-Whitney U		.000		
		Wilcoxon W		6.000		
		Z		-2.087		
		Asymp. Sig. (2-tailed)		.037		
		Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		.100 <sup>b</sup>		

a. Grouping Variable: konsentrasi acemannan  
b. Not corrected for ties.

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Ranks				
	konsentrasi acemannan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah koloni bakteri	500 µg/ml	3	3.50	10.50
	kontrol positif	3	3.50	10.50
	Total	6		

Test Statistics<sup>a</sup>

	jumlah koloni bakteri
Mann-Whitney U	4.500
Wilcoxon W	10.500
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. (2*(1-tailed Sig.))	1.000 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: konsentrasi acemannan

b. Not corrected for ties.

Ranks				
	konsentrasi acemannan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah koloni bakteri	kontrol negatif	3	5.00	15.00
	kontrol positif	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics<sup>a</sup>

	jumlah koloni bakteri
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.087
Asymp. Sig. (2-tailed)	.037
Exact Sig. (2*(1-tailed Sig.))	.100 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: konsentrasi acemannan

b. Not corrected for ties.

## Uji Korelasi Spearman

## Correlations

			konsentrasi acemannan	jumlah koloni
Spearman's rho	konsentrasi acemannan	Correlation Coefficient	1.000	-.959**
		Sig. (2-tailed)	.	.000
		N	21	21
jumlah koloni		Correlation Coefficient	-.959**	1.000
		Sig. (2-tailed)	.000	.
		N	21	21

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

Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas Brawijaya  
**Daftar Pustaka**

- Achwandi, M., Khoiriyati, A. and Soewito, S. 2015. Efektifitas Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum*) Terhadap Kadar Hambat Minimum Dan Kadar Bunuh Minimum Bakteri *Salmonella typhi*. *IJNP (Indonesian Journal of Nursing Practices)*, 2(1), pp.1-8.
- Andayani, R., Mubarak, Z. and Rinanda, D.R. 2016. Aktivitas Antibakteri Tepung Cacing Tanah (*Lumbricus Rubellus*) terhadap Enterococcus Faecalis secara In Vitro. *Journal Of Syiah Kuala Dentistry Society*, 1(2), pp.201-210.
- Andrewes, Horder. 1906. Schleifer, Kilpper-Bälz, 1984. *Enterococcus faecalis*. Diakses 7 Juni 2020, dari *Integrated Taxonomic Information System (ITIS)*.
- Anggraini, R., Aliza, D., Mellisa, S. 2016. Identifikasi bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan uji mikrobiologi pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang dibudidayakan di Kecamatan Baitussalam Kabupaten Aceh Besar (Doctoral dissertation, Syiah Kuala University).
- Antriana, N. 2014. Isolasi Bakteri Asal Saluran Pencernaan Rayap Pekerja (*Macrotermes spp.*). *Saintifika*, 16(1).
- Bhalang, K., Tompkins, K. 2015. Polysaccharides from Aloe vera and Oral Ulcerations. Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand. Springer International Publishing Switzerland.
- Borzini, L., Condò, R., De Dominicis, P., Casaglia, A. and Cerroni, L. 2016. Root canal irrigation: Chemical agents and plant extracts against Enterococcus faecalis. *The open dentistry journal*, 10, p.692.
- Choche, T., Shende, S., Kadu, P. 2014. Extraction and identification of bioactive components from Aloe barbadensis Miller. *Research and Reviews, Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2, 14-24.
- Chubb, D.W.R. 2019. A review of the prognostic value of irrigation on root canal treatment success. *Australian Endodontic Journal*, 45(1), pp.5-11.
- Chokboribal, J., Tachaboonyakiat, W., Ruangpornvisuti, V., Jettanacheawchankit, S. and Sangvanich, P.



- Repository Universitas Brawijaya
- Repository Universitas Brawijaya
- Repository Universitas Brawijaya
- Thunyakitpisal, P. 2015. Deacetylation affects the physical properties and bioactivity of acemannan, an extracted polysaccharide from Aloe polymers, 133, pp.556-566.
- De Paz, L.E.C. and Dahlén, G. 2017. Microbiology and immunology of endodontic infections. In Endodontic Prognosis (pp. 13-27). Springer, Cham.
- Destika, H., Hadriyanto, W., Daradjati, S. 2016. Perbedaan Teknik Irigasi Saluran Akar menggunakan File Niti Rotary, Canal Brush dan Aktivasi Sonik terhadap Residu Kalsium Hidroksida pada Sepertiga Apikal Dinding Saluran Akar. Jurnal Kedokteran Gigi, 7(2), pp.86-92.
- Dewi, A.K. 2013. Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas Staphylococcus aureus terhadap Amoxicillin dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis Di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. Isolation, Identifica. Jurnal Sain Veteriner, 31.
- Dewi, P.S. 2018. Efektifitas ekstrak lidah buaya terhadap jumlah sel fibroblast pada proses penyembuhan luka incisi marmut. Intisari Sains Medis, 9(3), pp.51-54.
- Dewiyani, S. 2014. Perawatan Endodontik pada Kasus Periodontitis Apikalis Kronis. Jurnal PDGI, 63(3) : 99-103.
- Dioguardi, M., Di Gioia, G., Illuzzi, G., Laneve, E., Cocco, A. and Troiano, G. 2018. Endodontic irrigants: Different methods to improve efficacy and related problems. European journal of dentistry, 12(03), pp.459-466.
- Dwicahyani, T., Sumardianto, S. and Rianingsih, L. 2018. Uji Bioaktivitas Ekstrak Teripang Keling Holothuria atra Sebagai Antibakteri Staphylococcus aureus dan Escherichia coli. Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan, 7(1), pp.15-24.
- Fahruddin, A.M., Tatengkeng, F., Thamrin, R. and Riewpassa, I.E. 2016. Efektivitas antibakteri ekstrak buah patikala (Etlingera elatior (Jack) RMSm) terhadap bakteri Enterococcus faecalis. MDJ (Makassar Dental Journal), 5(3).
- Fatisa, Y. 2013. Daya Antibakteri Estrak Kulit Dan Biji Buah Pulasan (*Nephelium Mutabile*) Terhadap Staphylococcus aureus.

- Aureus Dan Escherichia Coli Secara in Vitro. *Jurnal Peternakan*, 10(1).
- Fitriana, Y.A.N., Fatimah, V.A.N. and Fitri, A.S. 2020. Aktivitas Anti Bakteri Daun Sirih: Uji Ekstrak KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bakterisidal Minimum). *Sainteks*, 16(2).
- Garg, N., Amit, G. 2014. *Textbook of Endodontics*, third Edition. Jaypee Brothers Medical Publishers.
- Gunawan, F., Sularsih, S. and Soemartono, S. 2015. Perbedaan kitosan berat molekul rendah dan tinggi terhadap jumlah sel limfosit pada proses penyembuhan luka pencabutan gigi. *Denta Jurnal Kedokteran Gigi*, 9(1), pp.113-122.
- Haapasalo, M., Shen, Y., Wang, Z. and Gao, Y. 2014. Irrigation in endodontics. *British dental journal*, 216(6), p.299.
- Handayani, G.N. 2019. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Lidah Buaya (Aloe Vera) Terhadap Penghambatan Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Dan *Candida albicans*. *BIOSEL (Biology Science and Education): Jurnal Penelitian Science dan Pendidikan*, 8(1), pp.1-8.
- Hidayat, H. 2015. Identifikasi Morfologi dan Uji Aktivitas Antimikroba Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Dari Fermentasi Buah Markisa (*Passiflora sp.*). *EKSAKTA: Journal of Sciences and Data Analysis*, 15(1-2), pp.75-84.
- Hidayat, B., Yusro, F. and Mariani, Y. 2019. The Kemampuan Ekstrak Kulit Kayu Dua Species *Macaranga* dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Enterococcus faecalis*. *BORNEO AKCAYA*, 5(2), pp.95-109.
- John, G., Kumar, K.P., Gopal, S.S., Kumari, S. and Reddy, B.K. 2015. *Enterococcus faecalis*, a nightmare to endodontist: A systematic review. *African journal of microbiology research*, 9(13), pp.898-908.
- Jorgensen, J.H. and Turnidge, J.D. 2015. Susceptibility test methods: dilution and disk diffusion methods. In *Manual of Clinical Microbiology*, Eleventh Edition (pp. 1253-1273). American Society of Microbiology.
- Katrin, D., Idiawati, N. and Sitorus, B. 2015. Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak daun malek (*Litsea graciae* Vidal) terhadap

- bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 4(1), pp.7-12.
- Khusuma, A., Safitri, Y., Yuniarni, A. and Rizki, K. 2019. Uji Teknik Difusi Menggunakan Kertas Saring Media Tampung Antibiotik dengan *Escherichia Coli* Sebagai Bakteri Uji. *Jurnal Kesehatan Prima*, 13(2), pp.151-155.
- Kuntari, L.M., Hadriyanto, W. and Mulyawati, E. 2014. Perbedaan Daya Antibakteri Klorheksidin 2% dan Berbagai Konsentrasi Sodium Hipoklorit Kombinasi Omeprazole 8, 5% terhadap *Enterococcus Faecalis*. *Jurnal Kedokteran Gigi*, 5(2), pp.139-149.
- Kurnia, D. and Ratnapuri, P.H. 2019. Aktivitas Farmakologi Dan Perkembangan Produk Dari Lidah Buaya (*Aloe vera L.*). *Jurnal Pharmascience*, 6(1), pp.38-49.
- Mahor, G. and Ali, S.A. 2016. Recent update on the medicinal properties and use of *Aloe vera* in the treatment of various ailments. *Biosci Biotechnol Res Commun*, 9(2), pp.277-292.
- McCabe, J. F., Walls, A. W. G. 2014. Bahan Kedokteran Gigi, Edisi 9. Jakarta: EGC.
- Mubarak, Z., Chismirina, S. and Daulay, H.H. 2016. Aktivitas antibakteri ekstrak Propolis Alami dari Sarang Lebah Terhadap Pertumbuhan *Enterococcus faecalis*. *Journal of Syiah Kuala Dentistry Society*, 1(2), pp.175-186.
- Narayanan LL, Vaishnavi C. 2010. Endodontic microbiology. *Conserv Dent*;13(4):233-239. doi:10.4103/0972-0707.73386.
- Nonong, Y.H., Mieke, H.S., Ratna, I. and Selly, P. 2016. Antibacterial test between *Aloe vera* and chlorhexidine based on the number of colony of *Streptococcus mutans* ATCC 25 175 in vitro. *IJSR*, 5(1), pp.1379-85.
- Noorhamdani, P.N. and Annie, M. 2012. Ekstrak Metanol Kulit Pisang Ambon Muda (*Musa paradisiaca L.*) Sebagai Antimikroba Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Secara In Vitro. *Mikrobiologi FKUB*, 2(3), pp.73-80.
- Nugraeni, Y., Riawan, W., Permatasari, N., Widjajanto, E. and Dradjat, R.S. 2017. Modulation of endogenous stem cells markers in the periodontal ligament of dental rat post traumatic avulsion following *Aloe vera* gel exposure.

- Medicinal Plants-International Journal of Phytomedicines and Related Industries, 9(4), pp.225-230.
- Nugraeni, Y., Wibi, R., Nur, P., Edy, W. and Respati, S.D. 2019. Effect of Aloe vera gel on the expression of FGF-2, TGF- $\beta$ , Smad3 in the root surface of rat teeth after Traumatic avulsion. Research Journal of Pharmacy and Technology, 12(9), pp.4405-4409.
- Owuama, C.I. 2017. Determination of minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) using a novel dilution tube method. African Journal of Microbiology Research, 11(23), pp.977-980.
- Pandya, D. 2016. Benefical Role of Aloe Vera in Oral Cavity-a Review. International Journal of Medical and Applied Sciences, 5(2), p. 36-45.
- Pasril, Y. and Yuliasanti, A. 2014. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum*) terhadap Bakteri Enterococcus Faecalis sebagai Bahan Medikamen Saluran Akar dengan Metode Dilusi Anti-Bacterial Power of Red Batel Leaves (*Piper Crocatum*) to Enterococcus Faecalis Bacteria as Medi. Insiiva Dental Journal: Majalah Kedokteran Gigi Insiiva, 3(1), pp.88-95.
- Patel, S., Duncan, H. F. 2013. Pitt Ford Problem-Based Learning dalam Endodontologi. Jakarta: EGC.
- Prabhakar, J., Senthilkumar, M., Priya, M.S., Mahalakshmi, K., Sehgal, P.K. and Sukumaran, V.G. 2010. Evaluation of antimicrobial efficacy of herbal alternatives (Triphala and green tea polyphenols), MTAD, and 5% sodium hypochlorite against Enterococcus faecalis biofilm formed on tooth substrate: an in vitro study. Journal of Endodontics, 36(1), pp.83-86.
- Primasari. M. 2019. Efek Terapi Gel Lidah Buaya (*Aloe Vera*) dalam Penyembuhan Luka. Medical Review MEDICINUS, 32(3).
- Purnamaningsih, N., Kalor, H. and Atun, S. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) Terhadap Bakteri Escherichia Coli ATCC 11229 Dan *Staphylococcus Aureus* ATCC 25923. *Jurnal Penelitian Saintek*, 22(2), pp.140-147.

- Rahardjo, M., Koendhori, E.B. and Setiawati, Y. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Lidah Buaya (Aloe vera) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*, 17(2), pp.65-70.
- Ravishankar, P., Lakshmi, T. and Kumar, A.S. 2011. Ethno-botanical approach for root canal treatment-an update. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 3(10), p.1511.
- Rodriguez-Gonzalez, V.M., Femenia, A., González-Laredo, R.F., Rocha-Guzman, N.E., Gallegos-Infante, J.A., Candelas-Cadillo, M.G., Ramirez-Baca, P., Simal, S. and Rossello, C. 2011. Effects of pasteurization on bioactive polysaccharide acemannan and cell wall polymers from *Aloe barbadensis* Miller. *Carbohydrate Polymers*, 86(4), pp.1675-1683.
- Rusmiany, P. and Ernawati, K. 2017. November. Pengembangan Lidah Buaya (Aloe vera) sebagai Obat Sterilisasi Saluran Akar Gigi. Seminar Nasional Riset Inovatif (Vol. 5, pp. 607-612).
- Sajjad, A. and Subhani Sajjad, S. 2014. Aloe vera: An ancient herb for modern dentistry—A literature review. *Journal of Dental Surgery*.
- Salah, F., El Ghoul, Y., Mahdhi, A., Majdoub, H., Jarroux, N. and Sakli, F. 2017. Effect of the deacetylation degree on the antibacterial and antibiofilm activity of acemannan from *Aloe vera*. *Industrial crops and products*, 103, pp.13-18.
- Sangur, R., Bajwa, W., Mahajan, T. and Banerjea, A. 2016. Aloe Vera: An Ancient Option for Modern Day Dental Problems- A. *International Journal of Contemporary Medical Research*, 8(3), p. 2351.
- Santoso, M.L., Sudirman, A., Setyowati, L. 2012. Konsentrasi hambat minimum larutan propolis terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*. *Jurnal PDGI*, 61(3), pp.100-1.
- Sierra-García, G. D., Castro-Ríos, R., González-Horta, A., Lara-Arias, J., & Chávez-Montes, A. 2014. Acemannan, an extracted polysaccharide from *Aloe vera*: A literature review. *Natural product communications*, 9(8), 1934578X1400900836.
- Simões, J., Nunes, F. M., Domingues, P., Coimbra, M. A., & Domingues, M. R. 2012. Mass spectrometry characterization





- Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas Brawijaya  
Repository Universitas Brawijaya  
*Journal of Pharmaceutical and Medical Research*, 4(7), pp.820-831.
- Tamara, R., Rochyani, L. dan Teguh, P.B. 2015. Daya hambat ekstrak teripang emas (*Stichopus hermanii*) terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*. DENTA Jurnal Kedokteran Gigi, 9(1), pp.37-47.
- Torabinejad, M., Walton, R. and Fouad, A. 2015. Endodontic Principles and Practice, 5<sup>th</sup> Edition. Elsevier Saunders.
- Ummamie, L., Rastina, R. dan Erina, E. 2017. Isolasi dan Identifikasi *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* pada Keumamah di Pasar Tradisional Lambaro, Aceh Besar.
- JURNAL ILMIAH MAHASISWA VETERINER, 1(3), pp.574-583.
- Widiana, R. 2012. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak Daun Teh (*Camellia sinensis L.*) pada *Escherichia coli* dan *Salmonella sp.* Jurnal Pelangi, 4(2).
- Yuarifka, I.S., Waluyo, L. and Susetyarini, R.E. 2016. Effect of Different Concentration Gel Leaf Extract, Aloe (Aloe vera L) Against Bacterial Growth Inhibition Zone *Vibrio harveyi* In vitro. *Research Report*, (2).