

UJI EFEKTIFITAS EKSTRAK RIMPANG KENCUR (*Kaempferia galanga L.*) SEBAGAI ANTIBAKTERI *Lactobacillus acidophilus*

SECARA *IN VITRO*

TUGAS AKHIR

Untuk Memenuhi Persyaratan

Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Gigi



Oleh:

Afifah Ratih Rosavina

NIM. 115070401111007

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2014

HALAMAN PERSETUJUAN

TUGAS AKHIR

UJI EFEKTIFITAS EKSTRAK RIMPANG KENCUR (*Kaempferia galanga L.*) SEBAGAI ANTIBAKTERI *Lactobacillus acidophilus*

SECARA *IN VITRO*

Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Gigi

Oleh:
Afifah Ratih Rosavina
NIM. 115070401111007

Menyetujui untuk diuji:

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof. Dr. dr. Sumarno, DMM, Sp.MK
NIP. 19480706 198002 1 001

drg. Chandra Sari Kurniawati, Sp.KG
NIP. 120879543

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

UJI EFEKTIFITAS EKSTRAK RIMPANG KENCUR (*Kaempferia galanga L.*) SEBAGAI ANTIBAKTERI *Lactobacillus acidophilus*

SECARA *IN VITRO*

Oleh:

Afifah Ratih Rosavina
NIM. 115070401111007

Telah diuji pada

Hari: Senin

Tanggal: 10 November 2014

Penguji I

Dr.dr. Nurdiana, M.Kes
NIP. 19551015 198603 2 001

Penguji II/Pembimbing I

Penguji III/Pembimbing II

Prof. Dr. dr. Sumarno, DMM, Sp.MK
NIP. 19480706 198002 1 001

drg. Chandra Sari Kurniawati, Sp.KG
NIP. 120879543

Mengetahui,
Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Gigi FKUB

Dr. drg. M. Chair Effendi, SU, Sp.KGA
NIP. 19530618 197912 1 005

KATA PENGANTAR

Segala puji hanya bagi Allah SWT yang telah memberi petunjuk dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir dengan judul “Uji Efektifitas Ekstrak Rimpang Kencur (*Kaempferia galanga* L.) Sebagai Antibakteri *Lactobacillus acidophilus* Secara *In Vitro* ”.

Dengan selesainya Tugas Akhir ini, penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada:

1. Dr. dr. Karyono Mintaroem, Sp.PA, dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan saya kesempatan menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. Dr. drg. M. Chair Effendi, SU. Sp.KGA, Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan saya kesempatan menuntut ilmu di Program Studi Pendidikan Dokter Gigi.
3. Prof. Dr. dr. Sumarno, DMM, Sp.MK, sebagai pembimbing pertama yang dengan sabar membimbing dan senantiasa memberi semangat sehingga saya dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
4. drg. Chandra Sari Kurniawati, Sp.KG, sebagai pembimbing kedua yang dengan sabar membimbing dan senantiasa memberi semangat sehingga saya dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
5. Dr. dr. Nurdiana M.Kes, selaku dosen penguji atas kesediaannya memberikan koreksi, saran, dan masukan.
6. Segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir FKUB

7. Para analis laboratorium Mikrobiologi FKUB yang memebantu saya dalam menyelesaikan penelitian ini.
8. Kedua orang tua penulis, yaitu ayah tercinta Sunari dan ibu tercinta Titik Suryohastuti, serta saudara kandung penulis yaitu Rizal Akbarudin Rahman Arief yang selalu membantu serta mendoakan saya.
9. Teman-teman saya, Vonny, Cindy, Martin, Ajeng, Fahri, Chancan, Mbak Efrin, atas semangat dan bantuannya.
10. Kakak tercinta Andi Octafianto yang selalu memberikan dukungan, doa serta membantu menyelesaikan Tugas Akhir ini.
11. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penulisan ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis membuka diri untuk segala saran dan kritik yang membangun.

Akhirnya, semoga Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, 01 November 2014

Penulis

ABSTRAK

Rosavina, Afifah Ratih. 2014. **Uji Efektifitas Ekstrak Rimpang Kencur (*Kaempferia galanga* L.) Sebagai Antibakteri *Lactobacillus acidophilus* Secara In Vitro**. Tugas Akhir, Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Prof. Dr. dr. Sumarno, DMM, Sp.MK. (2) drg. Chandra Sari Kurniawati, Sp.KG.

Lactobacillus acidophilus merupakan bakteri rongga mulut yang menghasilkan zat asam yang dapat menimbulkan karies gigi. Karies gigi merupakan salah satu keadaan patologis dari gigi. Salah satu penggunaan rimpang kencur sebagai bahan baku alternatif pencegahan karies gigi. Rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L.) mengandung zat antibakteri berupa *sineol*, *borneol*, dan *kamfer*. Tujuan penelitian ini adalah untuk membuktikan bahwa ekstrak metanol rimpang kencur memiliki efek antibakteri terhadap *Lactobacillus acidophilus* secara *in vitro*. Penelitian ini merupakan eksperimental laboratorik dengan metode *dilusi* tabung untuk mendapatkan nilai KHM dan KBM. Konsentrasi ekstrak metanol rimpang kencur yang digunakan adalah 17,5%, 18,75%, 20%, 21,25%, dan 22,5%. Penelitian ini menggunakan 5 konsentrasi dengan pengulangan masing-masing konsentrasi 4 kali. Nilai KHM diperoleh dengan cara mengamati perbedaan tingkat kekeruhan tiap konsentrasi larutan ekstrak metanol rimpang kencur. Nilai KBM dapat diperoleh dengan mengamati pertumbuhan bakteri tiap konsentrasi pada media agar. Hasil penelitian menunjukkan Kadar Hambat Minimum (KHM) diperoleh pada konsentrasi 21,25%, sedangkan Kadar Bunuh Minimum (KBM) pada konsentrasi 22,5%. Analisis data menggunakan *oneway* ANOVA menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada perubahan konsentrasi ekstrak metanol rimpang kencur terhadap jumlah koloni *Lactobacillus acidophilus* ($p < 0,01$). Uji korelasi Pearson menunjukkan adanya hubungan yang kuat dan berbanding terbalik antara konsentrasi ekstrak metanol rimpang kencur dengan jumlah koloni *Lactobacillus acidophilus* (-0,934). Uji *regresi* menunjukkan efektifitas ekstrak metanol rimpang kencur terhadap *Lactobacillus acidophilus* sebesar 87,3% ($R^2 = 0,873$). Berdasarkan penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol rimpang kencur mempunyai efek antibakteri terhadap *Lactobacillus acidophilus* secara *in vitro*.

Kata Kunci : *Lactobacillus acidophilus*, ekstrak metanol rimpang kencur, antibakteri, karies gigi

ABSTRACT

Rosavina, Afifah Ratih. 2014. **Efectivity Test of The Greater galingale (*Kaempferia galanga* L.) rhizome Extract As an Antibacterial Agent Against *Lactobacillus acidophilus* In Vitro**. Final Assignment, Dentistry program Medical Faculty of Brawijaya University. Supervisors: (1) Prof. Dr. dr. Sumarno, DMM, Sp.MK (2) drg. Chandra Sari Kurniawati, Sp.KG.

Lactobacillus acidophilus is an oral bacterium that produces acid causing dental caries. Dental caries is one pathological condition that affects the tooth. One use greater galingale rhizome as alternative raw materials prevention of dental caries.. The greater galingale (*Kaempferia galanga* L.) rhizome contain antibacterial substances such as *sineol*, *borneol*, and *chamfer*. The purpose of this study is to prove that the methanol extract of greater galingale rhizome have antibacterial effects against *Lactobacillus acidophilus* in vitro. This is a laboratory experimental study using tube dilution method to find MIC and MBC. The used concentration of methanol extract of greater galingale rhizome are 17,5%, 18,75%, 20%, 21,25%, and 22,5%. This experiment use 5 concentration with 4 repetition for each concentration. MIC values obtained by observing the difference in the level of turbidity of each solution concentration of methanol extract of greater galingale rhizome. MBC value can be obtained by observing the growth of bacteria on an agar medium for each concentration. The result shows the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) is concentration of 21,25%, while the Minimum Bactericidal Concentration (MBC) is concentration of 22,5%. Analyzing oneway ANOVA shows a significant difference in the change of concentration of methanol extract of greater galingale rhizome on the number of colonies of *Lactobacillus acidophilus* ($p < 0.01$). Pearson correlation test shows a strong and inversely relationship between the concentration of methanol extract of greater galingale rhizome and the number of colonies of *Lactobacillus acidophilus* (-0,934). Regresion test show efectivity methanol extract of greater galingale rhizome againts *Lactobacillus acidophilus* is 87,3% ($R\ square = 0.873$). The conclusion from this experiment is methanol extract of greater galingale have antibacterial effects againts *Lactobacillus acidophilus* in vitro.

Key words: *Lactobacillus acidophilus*, methanol extract greater galingale rhizome, antibacterial, dental caries.

DAFTAR ISI

Halaman

Judul	i
Halaman Persetujuan	ii
Halaman Pengesahan	iii
Kata Pengantar	iv
Abstrak	vi
<i>Abstract</i>	vii
Daftar Isi	viii
Daftar Tabel	x
Daftar Gambar	xi
Daftar Lampiran	xii
Daftar Simbol, Singkatan dan Istilah	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Manfaat Ilmiah	4
1.4.2 Manfaat Klinis	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Karies	6
2.1.1 Definisi Karies	6
2.1.2 Etiologi Karies	6
2.1.3 Klasifikasi Karies	8
2.1.4 Patogenesis Karies	10
2.2 Bakteri <i>Lactobacillus acidophilus</i>	10
2.2.1 Taksonomi	10
2.2.2 Morfologi dan Sifat	11
2.2.3 Peran <i>Lactobacillus acidophilus</i> terhadap karies	12
2.2.4 Biofilm	13
2.2.4.1 Struktur Biofilm	13
2.2.4.2 Proses Pembentukan Biofilm	13
2.2.4 Daya Tahan Bakteri <i>Lactobacillus acidophilus</i>	14
2.2.5 Identifikasi Bakteri <i>Lactobacillus acidophilus</i>	14
2.3 Antibakteri	15
2.4 Metode Uji Antibakteri	16
2.4.1 Metode Diusi	16
2.4.1.1 Metode Dilusi Tabung	16
2.4.1.2 Metode Dilusi Agar	16
2.4.2 Metode Difusi	16
2.4.2.1 Metode Difusi Agar	17
2.5 Kencur (<i>Kaempferia galanga</i> L.)	17
2.5.1 Sejarah	17
2.5.2 Taksonomi	18
2.5.3 Sinonim dan nama daerah kencur	18

2.5.4 Karakteristik Tanaman Kencur	19
2.5.5 Kandungan Kimia Kencur	19
2.6 Ekstraksi	21
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1 Kerangka Konsep	23
3.2 Hipotesis Penelitian	24
BAB 4 METODE PENELITIAN	
4.1 Rancangan Penelitian	25
4.2 Sampel Penelitian.....	25
4.3 Variabel Penelitian	25
4.3.1 Variabel Bebas	25
4.3.2 Variabel Tergantung	25
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian	26
4.5 Alat dan Bahan Penelitian	26
4.5.1 Alat dan Bahan untuk Ekstraksi Rimpang Kencur	26
4.5.2 Alat dan Bahan untuk Identifikasi Bakteri	26
4.5.3 Alat dan Bahan untuk Tes Katalase	27
4.5.4 Alat dan Bahan untuk Uji Dilusi Tabung	27
4.6 Definisi Operasional	28
4.7 Estimasi Jumlah Pengulangan	29
4.8 Prosedur Pengambilan dan Pengumpulan data	30
4.8.1 Prosedur Pembuatan Ekstrak Rimpang Kencur	30
4.8.2 Identifikasi Bakteri dengan Pewarnaan Gram	32
4.8.3 Tes Katalase	33
4.8.4 Persiapan Suspensi Uji <i>Lactobacillus acidophilus</i>	33
4.8.5 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Rimpang Kencur terhadap <i>Lactobacillus acidophilus</i>	34
4.9 Kerangka Operasional Penelitian.....	37
4.10 Analisis Data.....	38
BAB 5 HASIL PENELITIAN	
5.1 Hasil Identifikasi Bakteri <i>Lactobacillus acidophilus</i>	39
5.2 Hasil Ekstraksi Metanol Rimpang Kencur	40
5.3 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri dengan Penentuan Nilai KHM	41
5.4 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Menggunakan Metode <i>Dilusi</i> Tabung Untuk Menentukan Nilai KBM.....	42
5.6 Analisis Data	45
BAB 6 PEMBAHASAN	48
BAB 7 PENUTUP	
7.1 Kesimpulan.....	53
7.2 Saran.....	53
DAFTAR PUSTAKA	55
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	59

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 5.1	Hasil Penghitungan Koloni Bakteri yang Tumbuh Pada BHIA.....	44
Tabel 5.2	Hasil Analisis Data dengan Metode <i>Post Hoc</i>	46



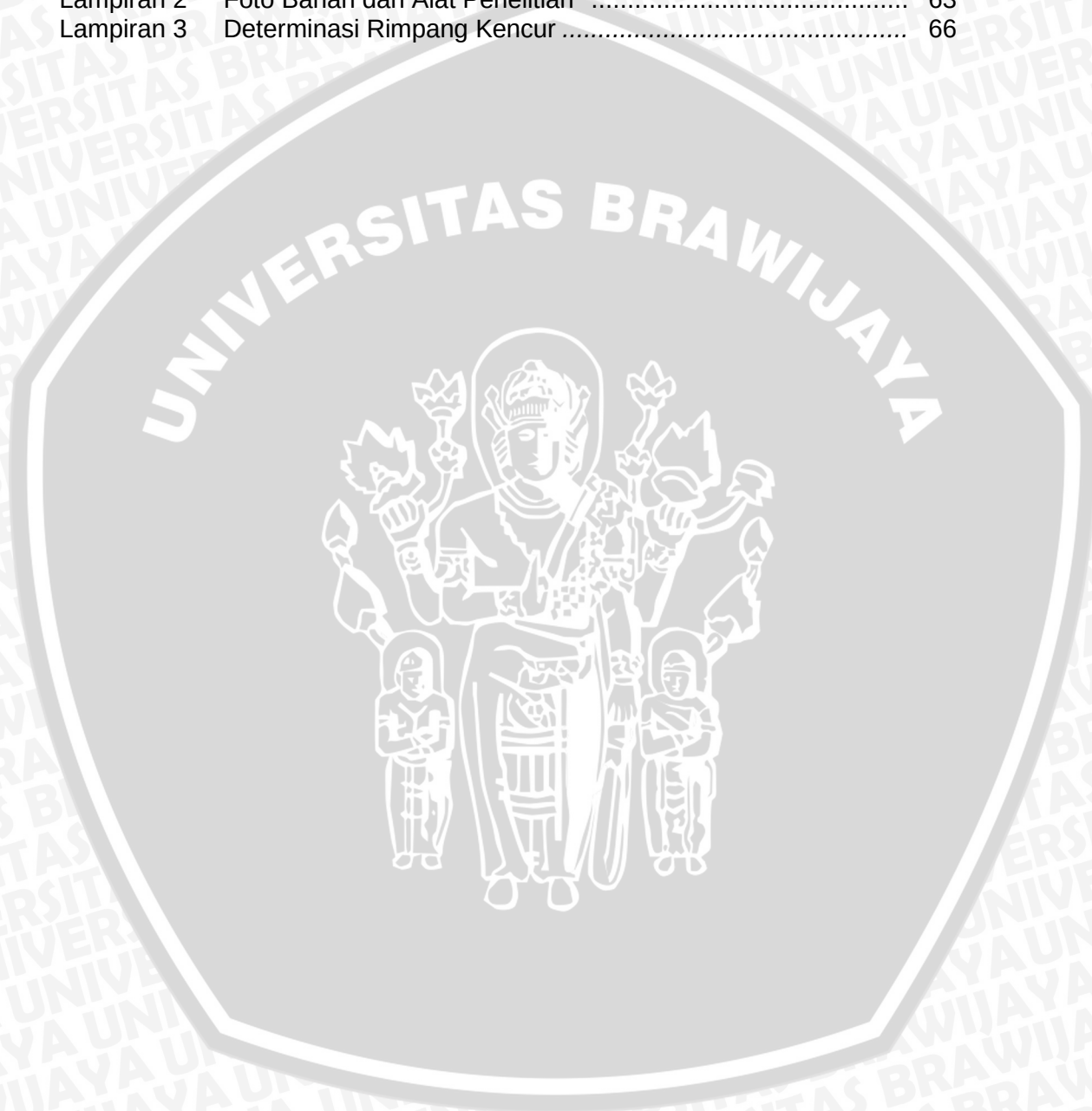
DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Skema Faktor-Faktor Terjadinya Karies.....	8
Gambar 2.2 Karies Berdasarkan Skor ICDAS	9
Gambar 2.3 Bakteri <i>Lactobacillus acidophilus</i>	11
Gambar 2.4 Rimpang Kencur	18
Gambar 4.1 Kerangka Operasional Penelitian.....	37
Gambar 5.1 Gambaran <i>Lactobacillus acidophilus</i> pada Pewarnaan Gram	39
Gambar 5.2 Hasil Tes Katalase Terhadap <i>Lactobacillus acidophilus</i> tidak tampak adanya gelembung udara.....	40
Gambar 5.3 Ekstrak Metanol Rimpang Kencur.....	41
Gambar 5.4 Hasil Uji <i>Dilusi</i> Tabung pada Berbagai Konsentrasi Ekstrak Metanol Rimpang Kencur.....	42
Gambar 5.5 Pertumbuhan Koloni <i>Lactobacillus acidophilus</i> pada BHIA	43
Gambar 5.8 Diagram Pertumbuhan Jumlah Koloni <i>Lactobacillus acidophilus</i> Terhadap Konsentrasi Ekstrak Metanol Rimpang Kencur	45



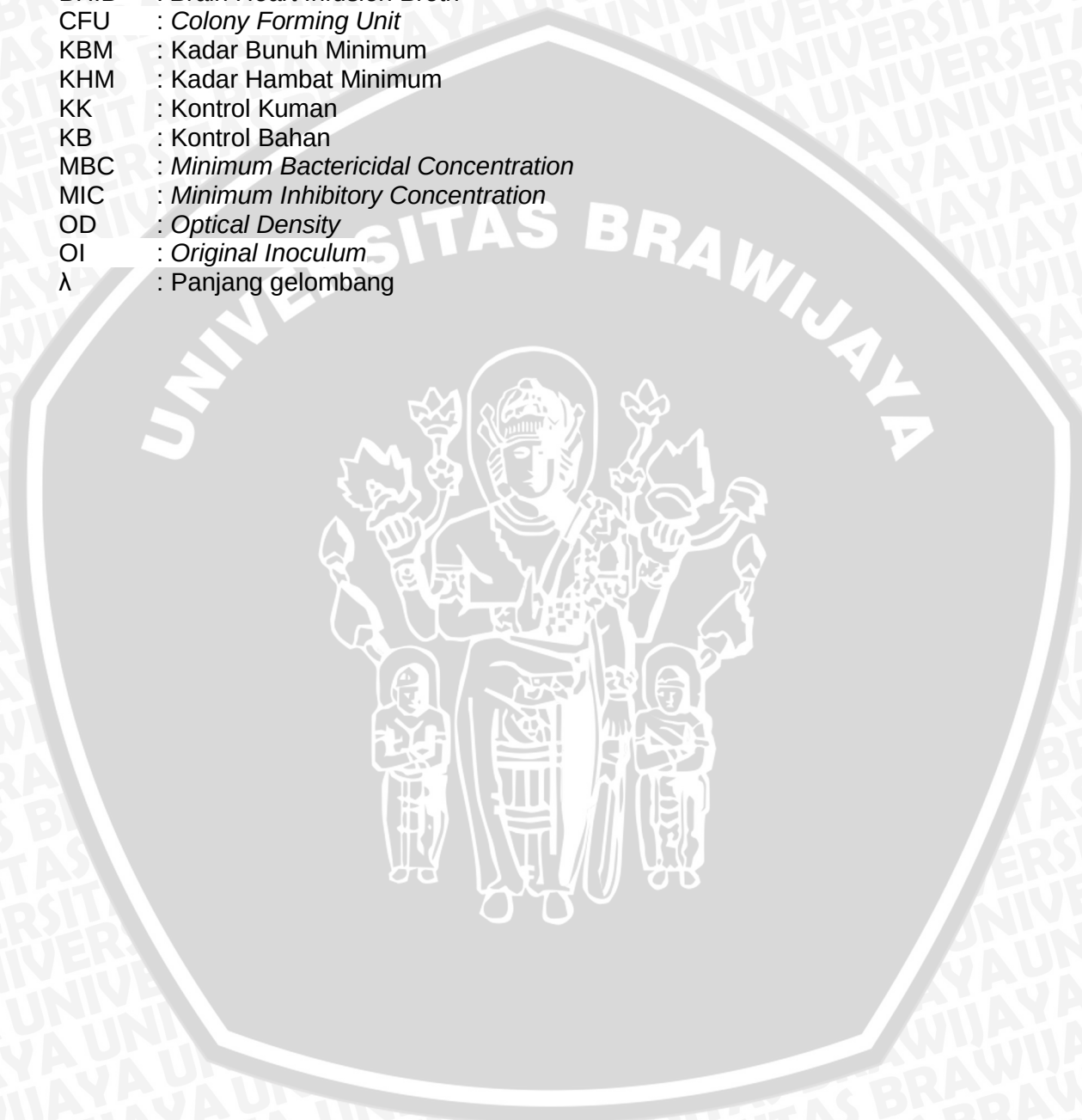
DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Hasil Uji Statistik	60
Lampiran 2 Foto Bahan dan Alat Penelitian	63
Lampiran 3 Determinasi Rimpang Kencur	66



DAFTAR SIMBOL, SINGKATAN, DAN ISTILAH

BHIA	: <i>Brain Heart Infusion Agar</i>
BHIB	: <i>Brain Heart Infusion Broth</i>
CFU	: <i>Colony Forming Unit</i>
KBM	: Kadar Bunuh Minimum
KHM	: Kadar Hambat Minimum
KK	: Kontrol Kuman
KB	: Kontrol Bahan
MBC	: <i>Minimum Bactericidal Concentration</i>
MIC	: <i>Minimum Inhibitory Concentration</i>
OD	: <i>Optical Density</i>
OI	: <i>Original Inoculum</i>
λ	: Panjang gelombang



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 LATAR BELAKANG

Masalah kesehatan gigi yang paling menonjol di Indonesia adalah diakibatkan karena karies. Penyakit karies gigi dialami 90% masyarakat Indonesia (Tjahja, 2006). Karies merupakan suatu penyakit pada jaringan keras gigi yang disebabkan oleh aktivitas jasad renik yang ada dalam suatu karbohidrat yang diragikan. Proses karies ditandai dengan terjadinya demineralisasi pada jaringan keras gigi, diikuti dengan kerusakan bahan organik. Hal ini akan menyebabkan terjadinya invasi bakteri dan kerusakan jaringan pulpa serta penyebaran ke jaringan periapikal dan menimbulkan rasa sakit atau nyeri (Pintauli dan Hamada, 2008).

Lactobacillus acidophilus merupakan mikroorganisme yang terdapat di rongga mulut, vagina, dan saluran pencernaan. Pada rongga mulut bakteri ini merupakan salah satu bakteri yang menyebabkan karies (Todar, 2008). *Lactobacillus acidophilus* dapat memfermentasi karbohidrat dan menghasilkan asam, sehingga pH plak akan menurun. Penurunan pH yang berulang-ulang dalam waktu tertentu akan mengakibatkan demineralisasi permukaan gigi yang rentan dan proses karies pun dimulai. Bakteri *Lactobacillus acidophilus* dikenal sebagai salah satu penyebab karies permukaan akar gigi (Samaranayake, 2006). Karies akar adalah tipe karies yang sering terjadi dan biasanya terbentuk ketika permukaan akar telah terbuka karena resesi gusi (Summit et al, 2001). Banyak penelitian yang telah dilakukan menunjukkan adanya asosiasi antara kehadiran bakteri *Lactobacillus achidophilus* dengan prevalensi karies gigi (Kleinberg I,

2002). Pada orang dewasa bakteri ini sering ditemukan pada lesi karies, terutama pada karies akar (Koll-Klais *et al.*, 2004). Ada banyak spesies *Lactobacillus sp* yang teridentifikasi pada saliva sebagai penyebab karies, namun yang terbanyak yaitu *Lactobacillus acidophilus*. Sifat kariogenik dari *Lactobacillus acidophilus* berhubungan dengan metabolisme sukrosa yaitu karena *Lactobacillus acidophilus* memproduksi exopolysacharides sebagai kunci perlekatan dari biofilm (Badet *et al.*, 2008). Exopolysacharides adalah suatu matrik *extracellular polymeric substance* (EPS) sebagai perantara melekatnya bakteri pada substrat (Hall-Stodley, 2004).

Penggunaan obat tradisional secara umum dinilai lebih aman dibandingkan dengan penggunaan obat modern. Hal ini disebabkan karena obat tradisional memiliki efek samping yang relatif sedikit dari pada obat modern (Oktora, 2011).

Seiring dengan semakin berkembangnya teknologi, beberapa jenis tumbuhan obat kini telah banyak yang diekstraksi dan dipatenkan menjadi fitofarmaka (Utami, 2008). Memanfaatkan tanaman obat atau herbal bukan hanya diminati orang desa maupun masyarakat kelas bawah, namun kini justru dikonsumsi masyarakat luas mulai dari kalangan bawah sampai atas (Harmanto, 2007). Salah satu tumbuhan tradisional yang telah lama digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai obat tradisional adalah kencur (*Kaempferia galanga L.*).

Kencur (*Kaempferia galanga L.*) digolongkan sebagai tumbuhan jenis temu-temuan yang mempunyai daging buah paling lunak dan tidak berserat. Kencur merupakan tumbuhan yang tumbuh subur di daerah dataran rendah atau pegunungan yang tanahnya gembur dan tidak terlalu banyak air. Rimpang

kencur memiliki aroma yang spesifik. Daging buah kencur berwarna putih dan kulit luarnya berwarna coklat. Sel daun kencur dan rimpang kencur mengandung minyak yang disebut atsiri. Selain itu, rimpang kencur juga mengandung senyawa kimia di antaranya kamfer, borneol, sineol dan etil alkohol (Permadi, 2008). Selain itu, rimpang kencur mengandung pati (4,14%), mineral (13,73%), dan minyak atsiri (0,02%) berupa sineol, asam metil kanil dan penta dekan, asam cinnamic, ethyl aster, asam sinamic, borneol, kamphene, paraeumarin, asam anisic, alkaloid, dan gom (Suryo,2010).

Minyak atsiri merupakan minyak yang mudah menguap dan akhir-akhir ini menarik perhatian dunia, hal ini disebabkan karena minyak atsiri yang berasal dari beberapa tanaman bersifat aktif biologis sebagai antibakteri dan antijamur (Elistina, 2005). Beberapa penelitian lain yang dilakukan untuk mengetahui efektivitas antibakteri dari tanaman kencur, antara lain hasil penelitian yang dilakukan Miranti (2009) menunjukkan bahwa adanya pengaruh konsentrasi minyak atsiri kencur (*Kaempferia galanga L.*) dengan basis salep larut air dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara in vitro dengan konsentrasi antara 1% sampai dengan 9%.

Sehubungan dengan ini, penulis tertarik untuk mengetahui efektifitas ekstrak rimpang kencur (*Kaempferia galanga L.*) sebagai antibakteri terhadap *Lactobacillus acidophilus*, yang merupakan bakteri penyebab karies gigi, terutama pada karies akar. Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan bukti ilmiah tentang efek antibakteri dari ekstrak rimpang kencur (*Kaempferia galanga L.*) terhadap penurunan jumlah koloni bakteri dan memberikan sumbangan pada masyarakat tentang obat tradisional yang saat ini masih terbatas cara pemanfaatannya dan hanya berdasarkan data empiris.

1.2 RUMUSAN MASALAH

Dalam penelitian ini penulis mencoba merumuskan permasalahan dalam bentuk pertanyaan :

Apakah ekstrak rimpang kencur mempunyai efek antibakteri terhadap *Lactobacillus acidophilus* secara in vitro?

1.3 TUJUAN

1.3.1 Tujuan umum

Untuk mengetahui efektivitas ekstrak rimpang kencur sebagai antibakteri terhadap *Lactobacillus acidophilus* secara in vitro.

1.3.2 Tujuan Khusus

- (1)) Untuk mengetahui Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) dari ekstrak rimpang kencur terhadap jumlah koloni *Lactobacillus acidophilus*.
- (2) Untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi ekstrak rimpang kencur terhadap penurunan jumlah koloni *Lactobacillus acidophilus*.

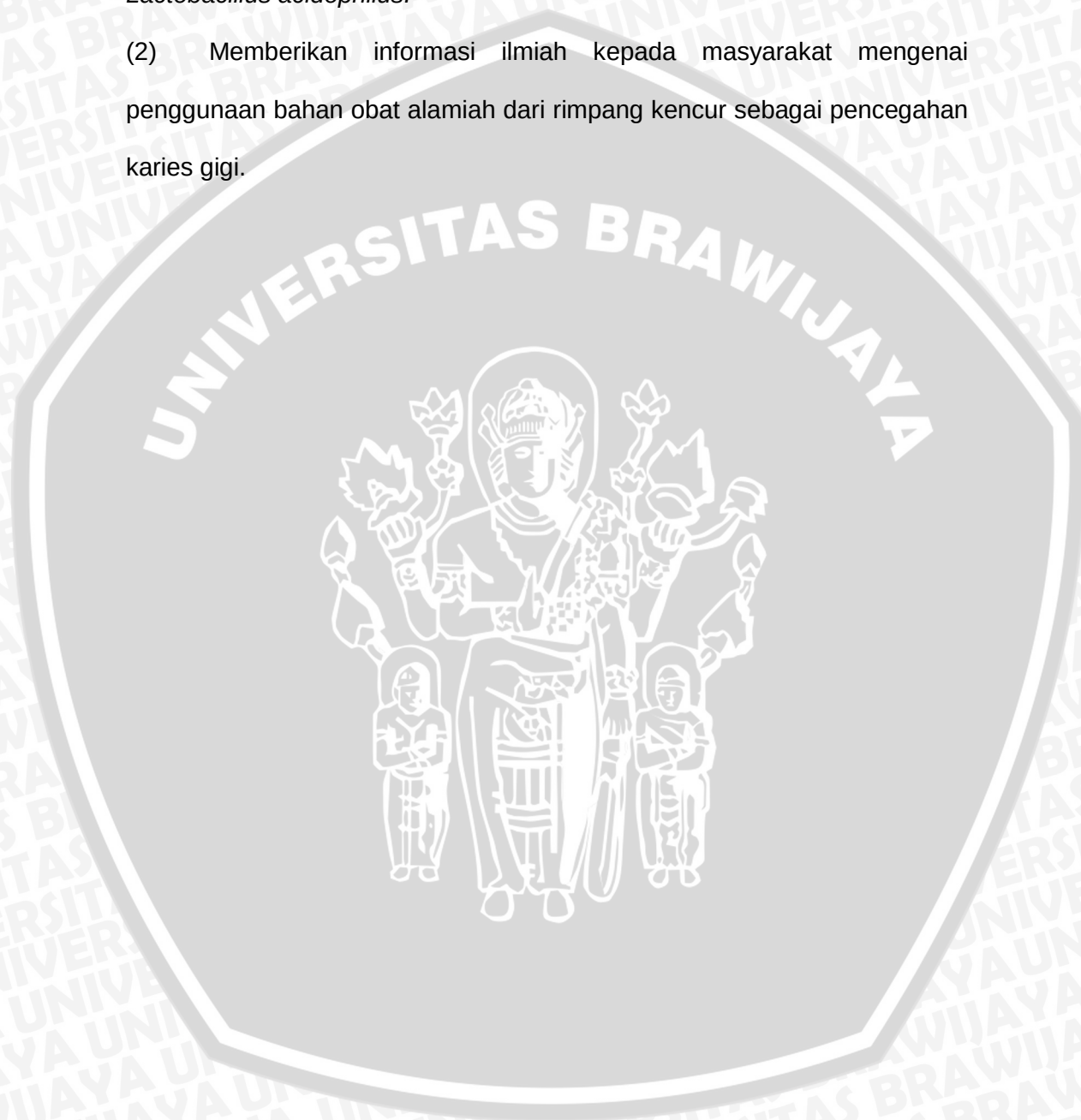
1.4 MANFAAT PENELITIAN

1.4.1 Manfaat Ilmiah

- (1) Sebagai dasar bagi penelitian selanjutnya dalam mengembangkan obat alamiah antibakteri dari rimpang kencur yang efektif dan aman di bidang kedokteran gigi, khususnya sebagai obat pencegah karies gigi yang disebabkan oleh *Lactobacillus acidophilus*.
- (2) Dapat digunakan sebagai dasar penelitian lebih lanjut terhadap manfaat lain dari tanaman kencur.

1.4.2 Manfaat Klinis

- (1) Sebagai upaya preventif untuk karies gigi yang disebabkan *Lactobacillus acidophilus*.
- (2) Memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat mengenai penggunaan bahan obat alamiah dari rimpang kencur sebagai pencegahan karies gigi.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Karies

2.1.1 Definisi Karies

Karies merupakan suatu penyakit pada jaringan keras gigi, yaitu email, dentin dan sementum yang disebabkan aktivitas jasad renik yang ada dalam suatu karbohidrat yang diragikan. Proses karies ditandai dengan terjadinya demineralisasi pada jaringan keras gigi, diikuti dengan kerusakan bahan organik. Hal ini akan menyebabkan terjadinya invasi bakteri dan kerusakan pada jaringan pulpa serta penyebaran infeksi ke jaringan periapikal dan menimbulkan rasa nyeri (Koerniati, 2006).

Karies merupakan suatu kerusakan pada gigi yang disebabkan oleh bakteri. Akibat utama dari karies adalah kerusakan pada lapisan enamel dan dentin sehingga bakteri dapat masuk mencapai pulpa. Kelanjutan akibat karies ini dapat menyebabkan inflamasi pada pulpa dan lebih jauh dapat menyebabkan inflamasi pada jaringan periapikal (Cawson and Odell, 2002).

2.1.2 Etiologi Karies

Karies gigi merupakan penyakit multifaktorial dengan 4 faktor utama yang saling mempengaruhi menurut Alpers (2006) yaitu *host* (air liur dan gigi), agen atau mikroorganisme, substrat atau makanan, dan waktu.

a. *Host* (air liur dan gigi)

Selain kebersihan gigi, air liur dan produksi air liur memainkan peranan yang penting terhadap kemungkinan terjadinya karies. Setiap harinya tidak terhitung banyaknya mikroorganisme yang melewati mulut. Kuman tersebut akan menempel pada permukaan gigi dan bagian

yang tidak dapat dibersihkan dengan air liur. Hal ini terjadi karena air liur kesulitan untuk membersihkan bakteri yang terdapat pada gigi sehingga bakteri tersebut akan diubah menjadi asam yang akan membentuk lubang kecil pada permukaan gigi karena menembus email (Srigupta, 2004).

b. Agen atau mikroorganisme

Mikroorganisme di dalam mulut yang berhubungan dengan penyakit karies antara lain *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Actinomices*. Mikroorganisme ini menempel di gigi bersama dengan plak atau debris (Soden *et al.*, 2009). Selain itu, ada juga penelitian yang menunjukkan adanya *Lactobacillus* pada plak gigi. Pada penderita karies aktif, jumlah *Lactobacillus acidophilus* pada plak gigi berkisar 10^4 - 10^6 sel/mg plak (Pintauli dan Hamada, 2008). *Lactobacillus acidophilus* mampu bersaing dengan bakteri lain sehingga dapat tumbuh baik meskipun terdapat bakteri lainnya, hal ini disebabkan karena bakteri ini menghasilkan bakteriosin yang dapat membunuh bakteri lainnya (Méndez *et al.*, 2009). Salah satu faktor yang dapat mempengaruhi laju *Lactobacillus acidophilus* pada saliva adalah asupan karbohidrat (Badet *et al.*, 2008).

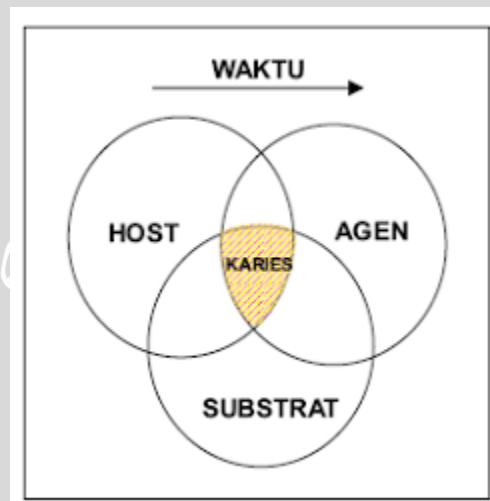
c. Substrat atau makanan

Manusia dalam kehidupan sehari-hari makan-makanan yang bermacam-macam. Makanan seperti nasi, sayuran, kacang-kacangan. Selain itu juga makanan yang lengket seperti roti, biskuit, coklat, permen, manisan buah. Sisa makanan yang tertinggal pada

permukaan gigi bila tidak segera di bersihkan maka akan menimbulkan bakteri sehingga merusak gigi (Srigupta, 2004).

d. Waktu

Lamanya waktu yang dibutuhkan karies untuk berkembang menjadi suatu kavitas cukup bervariasi, diperkirakan 6-48 bulan (Pintauli dan Hamada, 2008).



Gambar 2.1 Skema faktor-faktor terjadinya karies (Srigupta, 2004)

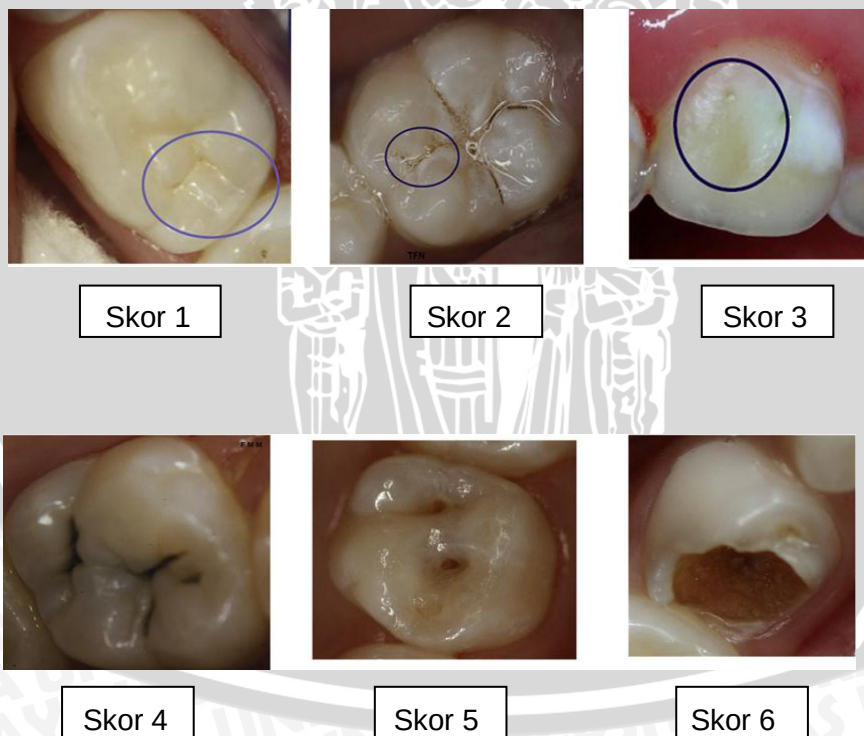
2.1.3 Klasifikasi Karies

Berdasarkan skor ICDAS (*International and Caries Detection Assessment System*) , karies dapat dibagi sebagai berikut :

- a. Skor 0 : Tidak ada atau sedikit perubahan translusensi pada enamel gigi (kondisi gigi dalam keadaan kering).
- b. Skor 1 : Perubahan tampilan awal pada enamel (terlihat

setelah gigi dikeringkan terbatas pada *pit* dan *fissure*).

- c. Skor 2 : Perubahan pada enamel gigi tampak jelas.
- d. Skor 3 : Kerusakan enamel secara lokal ditandai dengan perubahan warna pada enamel gigi (secara klinis tidak ada keterlibatan dentin).
- e. Skor 4 : Terdapat bayangan hitam pada lapisan dentin.
- f. Skor 5 : Lapisan dentin tampak lebih jelas pada kavitas.
- g. Skor 6 : Keterlibatan dentin semakin luas (melibatkan lebih dari setengah permukaan gigi).



Gambar 2.2 Karies berdasarkan skor ICDAS (Braga et al., 2010)

2.1.4 Patogenesis Karies

Permukaan enamel yang bersih dalam beberapa detik ditutupi oleh lapisan molekul terabsorpsi yang terdiri dari glikoprotein dari saliva, dan pelikel yang menjadi tempat awal menempelnya mikroorganisme. Saat mikroorganisme berkembang biak dan melakukan sintesis polisakarida, bakteri-bakteri lain berikatan dengan mikroorganisme tersebut, bukan pada pelikel, sehingga menghasilkan kompleks biofilm dari berbagai spesies berbeda. Perlekatan dari spesies yang berbeda ini memungkinkan untuk terjadinya berbagai interaksi sinergis maupun antagonis (Soames *and* Southam, 2005).

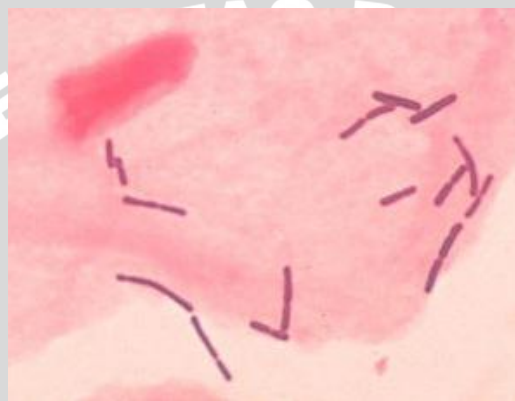
Infeksi bakteri yang kronis dapat menyebabkan demineralisasi gigi sehingga mengakibatkan terjadinya karies. Jenis mikroorganisme penyebabnya adalah mikroorganisme yang mampu memproduksi asam dan dapat bertahan hidup dalam suasana asam. Mikroorganisme yang termasuk dalam jenis mikroorganisme tersebut adalah *Lactobacillus*, *Actinomyces* dan *Streptococcus*. Metabolisme sakarida oleh akumulasi bakteri menghasilkan asam dengan jumlah yang cukup banyak. Produk asam terbanyak yang dihasilkan adalah asam laktat, jika diproduksi dalam jumlah yang cukup dan melekat pada permukaan gigi akan menyebabkan demineralisasi. Hal ini menyebabkan terjadinya lesi karies (Nagel, 2010).

2.2 Bakteri *Lactobacillus acidophilus*

2.2.1 Taksonomi

Kingdom : *Monera*
Division : *Firmicutes*
Class : *Bacilli*

Order : *Lactobacillales*
Family : *Lactobacillaceae*
Genus : *Lactobacillus*
Species : *Lactobacillus acidophilus* (Cahoney, 2008).



Gambar 2.3 Bakteri *Lactobacillus acidophilus* dengan pembesaran 1000x
(Todar, 2008)

2.2.2 Morfologi dan sifat

Lactobacillus acidophilus adalah mikroorganisme yang berbentuk basil, dan terdapat pada rongga mulut, jumlahnya sekitar kurang dari 1% dari jumlah normal flora di rongga mulut. Bakteri ini memiliki kemampuan untuk menghemolisis sel darah merah sampai berbagai tingkat serta menghasilkan berbagai zat ekstraseluler dan enzim. Oleh karena itu, jumlah bakteri *Lactobacillus* dipengaruhi juga oleh aktivitas karies dalam rongga mulut (Samaranayake, 2006).

Bakteri *Lactobacillus acidophilus* merupakan bakteri Gram positif yang tidak berspora dengan selnya berbentuk bacillus (batang) dan bersifat fakultatif anaerob. Bakteri ini dapat memecah glukosa, laktosa atau golongan gula lainnya menjadi asam laktat dan energi melalui proses metabolisme anaerobik dengan bantuan enzim laktat dehidrogenase (Rosiana, 2008).

2.2.3 Peran *Lactobacillus acidophilus* terhadap karies

Bakteri *Lactobacillus acidophilus* ini dapat diisolasi dari permukaan gigi sesegera mungkin, sebelum terjadinya pembentukan karies. Aktivitas *Lactobacillus acidophilus* didukung juga oleh gula yang dikonsumsi oleh manusia, terutama sukrosa. Bahkan setelah beberapa saat dilakukan penyikatan gigi, polisakarida ekstraseluler yang lengket bertahan pada gigi yang memulai pembentukan karies (Samaranayake, 2006).

Lactobacillus acidophilus mampu dengan segera mengubah karbohidrat menjadi asam. Pada suasana asam bakteri akan bertumbuh dengan sangat baik dan menempel pada permukaan gigi dengan menghasilkan polisakarida ekstraseluler. Polisakarida terdiri dari polimer glukosa mengubah matriks gigi berkonsentrasi seperti gelatin dan menyebabkan bakteri lainnya menempel pada permukaan gigi dan plak semakin menebal dan fungsi saliva terhambat (Kidd dan Bechal, 2004).

Bakteri *Lactobacillus acidophilus* menghasilkan asam-asam organik, terutama asam laktat, dengan cara memfermentasikan karbohidrat di permukaan gigi. Penurunan pH hingga dibawah 5,5 mengakibatkan demineralisasi permukaan gigi kemudian terjadi pembentukan lubang kecil yang disebut karies gigi (Sharma dkk., 2011). Banyak penelitian yang telah dilakukan menunjukkan adanya asosiasi antara kehadiran bakteri *Lactobacillus acidophilus* dengan

prevalensi karies gigi (Kleinberg I, 2002). Pada orang dewasa bakteri ini sering ditemukan pada lesi karies, terutama pada karies akar (Koll-Klais *et al.*, 2004).

2.2.4 Biofilm

Biofilm adalah struktur yang sangat kompleks dan merupakan ekosistem koloni bakteri, sedangkan bakteri rongga mulut berinteraksi secara kooperatif dan kompetitif satu sama lain (Hojo, 2009). Biofilm juga merupakan substansi menyerupai perekat yang secara permanen memfiksasi mikroorganisme pada permukaan padat dan sulit dimusnahkan menggunakan antimikrobia (Donlan, 2002).

2.2.4.1 Struktur Biofilm

Biofilm merupakan matriks polisakarida yang menutupi populasi bakteri yang saling melekat satu sama lain dan melekat pada permukaan atau antar permukaan. Polisakarida yang diproduksi oleh mikroba untuk membentuk biofilm termasuk ekstraseluler polimer matriks (EPM) yaitu polisakarida yang dikeluarkan dari dalam sel. Komposisi biofilm terdiri dari sel-sel mikroorganisme, produk ekstraseluler, detritus, polisakarida sebagai bahan pelek, dan air sebagai penyusun utama biofilm (Usha *et al.*, 2010).

2.2.4.2 Proses Pembentukan Biofilm

Tahap dasar pembentukan biofilm ada 4 antara lain : (Usha *et al.*, 2010)

1. Deposisi film

Tahap ini melibatkan adsorpsi molekul anorganik dan organik pada permukaan padat dan mengarah pada pembentukan film. Pembentukan film melibatkan protein dan glikoprotein yang berasal dari saliva dan cairan sulkus gingiva. Pembentukan plak pada permukaan gigi melibatkan mikroorganisme dengan pelikel saliva.

2. Adhesi dan kolonisasi mikroorganisme

Tahap ini melibatkan adhesi dan kolonisasi mikroorganisme, pada tahap ini perlekatanannya diperkuat oleh produksi polimer, dan tahap ini dimulai dari struktur permukaan sel.

3. Pertumbuhan bakteri dan ekspansi bakteri

Tahap ini melibatkan pertumbuhan dan ekspansi bakteri. Monolayer dari mikroorganisme kolonisasi awal menarik kolonisasi sekunder untuk membentuk mikrokoloni.

4. Pelepasan biofilm mikroorganisme

Pelepasan bibit-bibit koloni adalah pelepasan terprogram sel bakteri yang disebabkan oleh hidrolisis lokal matriks polisakarida.

2.2.5 Daya Tahan Bakteri *Lactobacillus acidophilus*

Lactobacillus acidophilus dapat bertahan hidup dalam lingkungan asam, yang disebut juga asidurik. Bakteri ini juga memanfaatkan enzim glukosiltransferase (GTF) dan enzim fruktosiltransferase (FTF). Enzim tersebut berfungsi untuk merubah sukrosa menjadi glukon dan fluktan. Salah satu sifat pada bakteri *Lactobacillus acidophilus* yang membantu bakteri ini untuk bertahan hidup adalah asidogenik. Asidogenik merupakan kemampuan bakteri untuk menghasilkan asam, sehingga pada pH rendah dan tersedia sukrosa, bakteri masih bisa memproduksi asam untuk beberapa saat (Samaranayake, 2006).

2.2.6 Identifikasi Bakteri *Lactobacillus acidophilus*

Teknik untuk mengidentifikasi spesies meliputi fermentasi karbohidrat, hidrolisis arginin dan aktivitas enzim. Tetapi karena metode biokimia tersebut tergantung pada lingkungan terkadang menyebabkan hasil ambigu atau

bahkan kesalahan identifikasi. Metode genotip dianggap lebih dapat diandalkan untuk tujuan identifikasi (Méndez *et al.*, 2009). Menurut Thebaud (2008) identifikasi yang tepat pada *Lactobacillus sp* dalam saliva pasien dengan karies sulit ketika menggunakan metode biokimia, tetapi dengan munculnya alat molekuler, identifikasi menjadi lebih mudah.

Identifikasi isolat *Lactobacillus acidophilus* didasarkan pada bentuk sel batang, pengecatan gram positif, non motil, katalase negatif, tidak membentuk dekstran, kemampuan pembentukan asam dari beberapa sumber karbon, kemampuan tumbuh dalam berbagai pH maupun suhu, model fermentasi glukosa (homofermentatif), tipe peptidoglikan pada dinding sel (Purwandhani dan Rahayu, 2003).

2.3 Antibakteri

Antibakteri merupakan bahan atau senyawa yang khusus digunakan untuk kelompok bakteri. Antibakteri dapat dibedakan berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu antibakteri yang menghambat pertumbuhan dinding sel, antibakteri yang mengakibatkan perubahan permeabilitas membran sel atau menghambat pengangkutan aktif melalui membran sel, antibakteri yang menghambat sintesis protein dan antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat sel (Jawetz *et al.*, 2008).

Antibakteri merupakan zat yang dapat mengganggu pertumbuhan bahkan dapat mematikan bakteri dengan cara mengganggu metabolismenya. Cara kerja antibakteri dapat dibedakan menjadi dua, yaitu bakterisidal dan bakteriostatik. Antibakteri bakteriostatik bekerja dengan cara menghambat perbanyakan populasi bakteri dan tidak mematikannya, sedangkan bakterisidal bekerja dengan membunuh bakteri. Beberapa zat antibakteri bersifat bakteriostatik pada

konsentrasi rendah dan bersifat bakterisidal pada konsentrasi tinggi . Sifat-sifat yang harus dimiliki oleh bahan antibakteri adalah menghambat atau membunuh patogen tanpa merusak hospes, bersifat bakterisidal, tidak menyebabkan resisten pada bakteri, dan tidak bersifat alergenik (Brooks *et al.*, 2007).

2.4 Metode Uji Antibakteri

2.4.1 Metode Dilusi

2.4.1.1 Metode Dilusi Tabung

Cara ini digunakan untuk menentukan KHM (Kadar Hambat Minimal) dan KBM (Kadar Bunuh Minimal) dari bahan antimikroba. Prinsip metode dilusi adalah menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan sejumlah tertentu sel mikroba yang diuji. Kemudian, masing-masing tabung diisi dengan bahan yang telah diencerkan secara serial. Selanjutnya, seri tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan pada tabung. Konsentrasi terendah bahan pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba) adalah KHM dari bahan uji. Kemudian, biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar padat, diinkubasikan dan keesokan harinya diamati ada tidaknya koloni mikroba yang tumbuh. Konsentrasi terendah obat pada biakan padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni mikroba adalah KBM dari bahan terhadap bakteri uji (Madigan, 2003).

2.4.1.2 Dilusi Agar

Metode ini serupa dengan *dilusi* tabung namun perbedaannya pada media yaitu dengan media padat. Pada *dilusi* agar tiap konsentrasi antibakteri dicampur dengan media agar, lalu ditanami suspensi bakteri (Prasetyawan,

2011). Kadar terkecil dari enceran ekstrak yang tidak menunjukkan pertumbuhan koloni adalah sebagai Kadar Hambat Minimum (Gholib, 2008).

2.4.2 Metode Difusi

2.4.2.1 Metode Difusi Agar

Metode difusi agar yang diperkenalkan oleh William Kirby dan Alferd Bauer pada tahun 1966, dengan lempengan (media) agar diinokulasi dengan bakteri uji (Siregar, 2012). Bahan uji dijenuhkan ke dalam cakram kertas. Cakram kertas yang mengandung bahan tertentu ditanam pada media perbenihan agar padat yang telah dicampur dengan mikroba yang diuji, kemudian diinkubasi 35°C selama 18-24 jam. Selanjutnya, diamati adanya zona jernih disekitar cakram kertas yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba. Selama inkubasi, bahan uji berdifusi dari cakram kertas ke dalam agar-agar itu, sebuah zona inhibisi dengan demikian akan terbentuk. Diameter zona sebanding dengan jumlah bahan uji yang ditambahkan ke cakram kertas. Metode ini untuk menguji sensitivitas antibiotik bakteri patogen (Madigan, 2003).

2.5 Kencur (*Kaempferia galanga* L.)

2.5.1 Sejarah

Kencur (*Kaempferia galanga* L.) merupakan tanaman tropis yang banyak tumbuh di berbagai daerah di Indonesia sebagai tanaman yang dipelihara. Tanaman ini banyak digunakan sebagai ramuan obat tradisional dan sebagai bumbu dalam masakan sehingga para petani banyak membudidayakan tanaman kencur. Bagian dari tanaman kencur yang diperdagangkan adalah buah akar yang tinggal di dalam tanah yang disebut dengan rimpang kencur (Barus, 2009).

2.5.2 Taksonomi

Klasifikasi *Kaempferia galanga* L. di dalam dunia botani adalah sebagai berikut :

Kerajaan	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Sub Divisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Monocotyledoneae</i>
Ordo	: <i>Zingiberales</i>
Famili	: <i>Zingiberaceae</i>
Subfamili	: <i>Zingiberoideae</i>
Genus	: <i>Kaempferia</i>
Spesies	: <i>Kaempferia galanga</i> (Barus, 2009).



Gambar 2.4 Rimpang Kencur (Misbahatori, 2013)

2.5.3 Sinonim dan nama daerah kencur

Beberapa nama daerah dari kencur di Indonesia adalah ceuko (Aceh), kencur (Jawa), cekuh (Bali), sukung (Minahasa), cakuru (Makasar), onegai (Buru), bataka (Ternate-Tidore), cikur (Sunda), kencor (Madura), cekor

(Kangean), cekuh (Bali), soku (Bima), humapoto (Gorontalo), ukap (Irian) (Regianto, 2009).

2.5.4 Karakteristik tanaman kencur

Daun kencur berbentuk bulat lebar, tumbuh mendatar di atas permukaan tanah dengan jumlah daun 3 sampai 4 helai. Permukaan daun sebelah atas berwarna hijau sedangkan sebelah bawah berwarna hijau pucat. Panjang daun berukuran 10–12 cm dengan lebar 8–10 cm mempunyai sirip daun yang tipis dari pangkal daun tanpa tulang–tulang induk daun yang nyata (Robijanto, 2011).

Rimpang kencur terdapat di dalam tanah bergerombol dan bercabang–cabang dengan induk rimpang di tengah. Kulit ari berwarna coklat dan bagian dalam putih berair dengan aroma yang tajam. Rimpang yang masih muda berwarna putih kekuningan dengan kandungan air yang lebih banyak dan rimpang yang lebih tua ditumbuhi akar pada ruas–ruas rimpang berwarna putih kekuningan (Barus, 2009).

Bunga kencur berwarna putih berbau harum terdiri dari 4 helai daun mahkota. Panjang 4 cm dan terdapat 4 sampai 12 bunga. Tangkai bunga berdaun kecil sepanjang 2-3 cm, tidak bercabang, dapat tumbuh lebih dari 1 tangkai, panjang tangkai 5-7 cm berbentuk bulat dan beruas–ruas. Putik menonjol keatas berukuran 1-1,5 cm, tangkai sari berbentuk corong pendek (Regianto, 2009).

2.5.5 Kandungan kimia kencur

Sel daun kencur dan rimpang kencur mengandung minyak yang disebut atsiri. Rimpang kencur juga mengandung senyawa kimia di antaranya kamfer, borneol, sineol dan etil alkohol (Permadi, 2008). Selain itu, rimpang kencur mengandung pati (4,14%), mineral (13,73%), dan minyak atsiri (0,02%) berupa

sineol, asam metil kanil dan penta dekaan, asam cinnamic, ethyl aster, asam sinamic, borneol, kamfer, paraeumarin, asam anisic, alkaloid, dan gom (Suryo, 2010).

Minyak atsiri dalam tanaman bersifat sangat kompleks, sehingga analisis campuran kompleks ini dilakukan dengan kromatografi gas (KG) atau teknik kombinasi kromatografi gas-spektrofotometri massa (KG-SM), yang memanfaatkan daya pemisahan KG dengan SM untuk menghasilkan ion molekular dalam komponen campuran tersebut (Heinrich *et al.*, 2009).

Borneol memiliki mekanisme kerja sebagai antibakteri yaitu dengan cara merusak membran sel yang akan menyebabkan denaturasi protein sel dan mengurangi tekanan permukaan sel. Rusaknya dinding sel dan membran sitoplasma akan memudahkan masuknya senyawa antibakteri ke dalam sel dan akan menyebabkan terjadinya proses denaturasi protein sitoplasma sehingga proses metabolisme terganggu. Selain itu, bocornya membran ini akan mengakibatkan sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya akan terhambat atau bahkan mati (Ajizah, 2004).

Sineol memiliki aktivitas antibakteri yaitu dengan mempengaruhi membran sel bakteri sehingga menyebabkan perubahan permeabilitas membran sel dan merusak kemampuan *osmoregulate* dari membran sel. Selanjutnya, akan terjadi kerusakan membran sel hingga menyebabkan kematian bakteri (Carson, 2002). *Kamfer* merupakan komponen utama dari minyak atsiri, yang termasuk dalam golongan monoterpen dari senyawa terpenoid (Setiani, 2010). Monoterpen dapat menyebar ke dalam struktur membran sel bakteri dan menyebabkan terjadinya kerusakan struktur membran sel, sehingga akan menyebabkan larut atau lisisnya membran sel (Tyagi, 2010).

2.6 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan secara kimia dan fisika kandungan zat simplisia menggunakan pelarut yang sesuai. Terdapat tiga golongan pelarut, yaitu pelarut polar, pelarut semipolar, dan pelarut nonpolar. Pelarut polar cocok untuk mengekstrak senyawa-senyawa yang polar dari tanaman. Salah satu contoh pelarut polar adalah air, *metanol*, *etanol* dan *asam asetat*. Pelarut semipolar untuk mendapatkan senyawa-senyawa semipolar dari tumbuhan. Contoh pelarut ini adalah *aseton*, *etil asetat* dan *klorofom*. Pelarut nonpolar untuk mengekstrak berbagai jenis minyak. Contoh pelarut ini adalah heksana (Ditjen POM, 2000).

Menurut Nasution (2011), pembagian metode ekstraksi dibagi menjadi 2 antara lain:

1. Cara dingin

a. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif yang akan larut, karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan di luar sel maka larutan terpekat didesak keluar.

b. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses

terdiri dari tahapan pengembangan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya terusmenerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat).

2. Cara Panas

a. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

b. Sokletasi

Sokletasi adalah ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru dan yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstrak lanjutan dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

c. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan, yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50 °C.

d. Infundasi

Infundasi adalah proses penyarian yang umumnya dilakukan untuk menyari zat kandungan aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Proses ini dilakukan pada suhu 90 °C selama 15 menit.

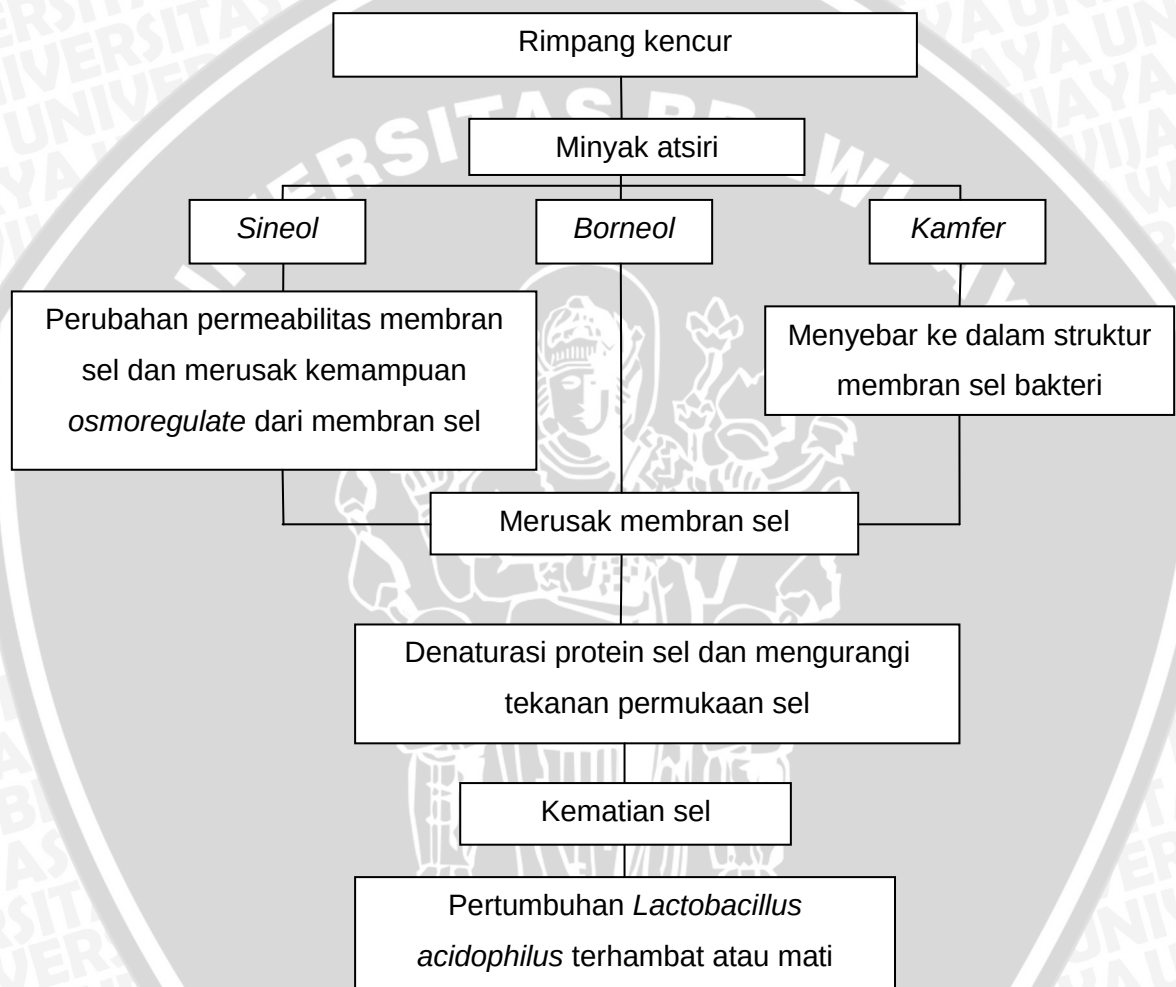
e. Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama dan temperatur sampai titik didih air, yakni 30 menit pada suhu 90-100 °C.

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

Kandungan dalam rimpang kencur adalah minyak atsiri, yang terdiri dari *borneol*, *sineol*, dan *kamfer* (Utami, 2008). *Borneol* ini memiliki efek antibakteri yang kuat (Mahboubi, 2011). *Borneol* memiliki mekanisme kerja sebagai

antibakteri yaitu dengan cara merusak membran sel yang akan menyebabkan denaturasi protein sel dan mengurangi tekanan permukaan sel. Bocornya membran ini akan mengakibatkan sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya akan terhambat atau bahkan mati (Ajizah, 2004). Kebocoran membran sel juga menyebabkan komponen-komponen penting di dalam sel seperti protein, asam nukleat, nukleotida dan lain-lain dapat mengalir keluar, akan menyebabkan inti sel lisis sehingga terjadi kematian sel (Lumongga, 2008).

Sineol memiliki aktivitas antibakteri yaitu dengan mempengaruhi membran sel bakteri sehingga menyebabkan perubahan permeabilitas membran sel dan merusak kemampuan *osmoregulate* dari membran sel. Selanjutnya, akan terjadi kerusakan membran sel hingga menyebabkan kematian bakteri (Carson, 2002). *Kamfer* merupakan komponen utama dari minyak atsiri, yang termasuk dalam golongan monoterpen dari senyawa terpenoid (Setiani, 2010). Monoterpen dapat menyebar ke dalam struktur membran sel bakteri dan menyebabkan terjadinya kerusakan struktur membran sel, sehingga akan menyebabkan larut atau lisisnya membran sel (Tyagi, 2010). Adanya kerusakan membran sel serta gangguan sintesis protein pada bakteri *Lactobacillus acidophilus* maka akan mengalami kematian sel sehingga pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* akan terhambat atau bahkan mati (Nawaekasari, 2012).

3.2 Hipotesis

Ekstrak metanol rimpang kencur mempunyai efek antibakteri terhadap *Lactobacillus acidophilus* secara *in vitro*.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Dalam penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental dengan metode *tube dilution test* untuk mengetahui efektifitas antibakteri berbagai konsentrasi ekstrak rimpang kencur terhadap *Lactobacillus acidophilus* secara *in vitro*.

4.2 Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah bakteri *Lactobacillus acidophilus*, diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas kedokteran Universitas Brawijaya yang telah dikultur .

4.3 Variabel Penelitian

Variabel pada penelitian ini ada dua, yaitu variabel bebas dan variabel tergantung.

4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak rimpang kencur dengan berbagai macam konsentrasi.

4.3.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah pertumbuhan jumlah koloni bakteri *Lactobacillus acidophilus*.

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang dari bulan April 2014 sampai Juli 2014.

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1 Alat dan Bahan untuk Ekstraksi Rimpang Kencur

- a. Gelas ukur atau beaker glass
- b. Timbangan ukur atau neraca analitik
- c. Pisau
- d. Alat penggerus (blender)
- e. 2 kg rimpang kencur
- f. 1 set alat evaporasi
- g. Klem statik
- h. Selang plastik
- i. Kertas saring
- j. *Waterbath*
- k. *Waterpump*
- l. Aquades
- m. Metanol 96%
- n. Oven
- o. Vakum
- p. *Freezer*

4.5.2 Alat dan Bahan untuk Identifikasi Bakteri *Lactobacillus acidophilus*

- a. Isolat bakteri *Lactobacillus acidophilus*

- b. Bahan pewarnaan Gram (kristal violet, lugol, alkohol 96%, safranin)
- c. Minyak emersi
- d. Aquades
- e. Ose
- f. Mikroskop
- g. Api spiritus
- h. Object glass
- i. Kertas penghisap
- j. Kapas

4.5.3 Alat dan Bahan untuk Tes Katalase

- a. Gelas obyek
- b. Pipet
- c. Isolat bakteri *Lactobacillus acidophilus*
- d. Larutan H₂O₂ 3%

4.5.4 Alat dan Bahan untuk Uji Dilusi Tabung

- a. Tabung reaksi
- b. Mikropipet steril
- c. Inkubator
- d. Ose
- e. Ekstrak rimpang kencur
- f. Isolat bakteri *Lactobacillus acidophilus*
- g. Aquades steril
- h. NaCl
- i. Rak tabung reaksi

- j. Spidol
- k. Kertas label
- l. Vortex
- m. Colony counter
- n. Brain Heart Infusion Broth (BHIB)
- o. Brain Heart Infusion Agar (BHIA)
- p. Anaerobic jar
- q. Spektrofotometer

4.6 Definisi Operasional

1. Ekstrak rimpang kencur adalah rimpang kencur yang masih segar yang didapatkan dari Balai Materia Medica UPT Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur, Kota Batu, yang kemudian diiris tipis-tipis, lalu dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 70°C. Setelah proses pengeringan selesai, kemudian rimpang kencur dihaluskan dengan menggunakan blender dan diekstraksi dengan pelarut metanol.
2. *Lactobacillus acidophilus* merupakan mikroorganisme yang terdapat di rongga mulut, vagina, dan saluran pencernaan. Pada rongga mulut bakteri ini merupakan salah satu bakteri yang menyebabkan karies (Todar, 2008). Bakteri *Lactobacillus acidophilus* ini merupakan bakteri Gram positif yang tidak berspora dengan selnya berbentuk bacillus (batang) dan bersifat fakultatif anaerob (Rosiana, 2008). Selain itu, bakteri *Lactobacillus acidophilus* dikenal sebagai salah satu penyebab karies permukaan akar gigi (Samaranayake, 2006).

3. Kadar Hambat Minimal adalah konsentrasi minimal bahan coba yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri setelah diinkubasi 24 jam dan tidak tumbuh koloni bakteri yang diketahui dengan cara mengamati kekeruhan pada media perbenihan dengan menggunakan metode dilusi.
4. Kadar Bunuh Minimal adalah konsentrasi minimal bahan coba yang dapat membunuh bakteri sebesar 99% atau 100% pada media agar.

4.7 Estimasi Jumlah Pengulangan

Dalam penelitian ini banyaknya pengulangan yang dilakukan ditentukan berdasarkan perhitungan rumus Notobroto (2005), maka didapatkan pengulangan :

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

$$5(n-1) \geq 15$$

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20 \rightarrow n \geq 4$$

Keterangan:

p = jumlah perlakuan

n = jumlah pengulangan

Jadi pada penelitian ini masing-masing perlakuan dilakukan 4 kali pengulangan.

4.8 Prosedur Pengambilan dan Pengumpulan Data

Prosedur penelitian terdiri dari prosedur penelitian pendahuluan dan prosedur penelitian sesungguhnya, yaitu berupa prosedur proses pembuatan ekstrak metanol rimpang kencur, pemeriksaan mikroskopik, tes katalase, persiapan suspensi uji *Lactobacillus acidophilus* dan uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol rimpang kencur terhadap *Lactobacillus acidophilus*.

4.8.1 Prosedur Pembuatan Ekstrak Rimpang Kencur

1. Proses ekstraksi

- a. Rimpang kencur segar yang akan digunakan dipilih terlebih dahulu untuk dipisahkan dengan rimpang kencur yang buruk dan rusak, kemudian dilanjutkan pencucian di air mengalir.
- b. Rimpang yang telah bersih sebanyak 2 kilogram diiris tipis-tipis dan dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 70°C.
- c. Setelah kering rimpang kencur diblender sehingga didapatkan serbuk rimpang kencur kemudian ditimbang menggunakan neraca analitik dan didapatkan 200 gram.
- d. Serbuk rimpang kencur dibungkus dengan kertas saring, kemudian dimasukkan kedalam *beaker glass* ukuran 1 liter untuk direndam dengan metanol.
- e. Pelarut metanol dimasukkan ke dalam gelas tersebut sampai serbuk yang ada dalam kertas saring terendam dalam pelarut metanol selama ± 1 minggu (setiap 2 hari sekali dikocok dan dibolak-balik)

- f. Hasil selanjutnya di evaporasi untuk memisahkan pelarut metanol dengan ekstrak rimpang kencur.

2. Proses Evaporasi

- a. *Evaporator* dipasang pada tiang permanen agar dapat tergantung dengan kemiringan 30-40° terhadap meja percobaan.
- b. Hasil rendaman metanol dipindahkan ke labu pemisah ekstraksi.
- c. Labu pemisah ekstraksi dihubungkan pada bagian bawah *evaporator*, pendingin spiral dihubungkan pada bagian atas *evaporator*, lalu penampung metanol dihubungkan pada bagian atas *evaporator*, pendingin spiral dihubungkan dengan vakum dengan selang plastik; pendingin spiral dihubungkan dengan *waterpump* dengan selang plastik.
- d. *Waterpump* ditempatkan dalam bak yang berisi aquades, *waterpump* dihubungkan dengan sumber listrik sehingga aquades akan mengalir memenuhi pendingin spiral (ditunggu hingga air mengalir dengan merata).
- e. Satu set alat evaporasi diletakkan sehingga sebagian labu pemisah ekstraksi terendam aquades pada *waterbath*.
- f. Vakum dan *waterbath* dihubungkan dengan sumber listrik dan suhu pada *waterbath* diatur sekitar 70-80°C (sesuai dengan titik didih metanol)
- g. Biarkan sirkulasi berjalan sehingga hasil evaporasi tersisa dalam labu pemisah ekstraksi selama $\pm$ 2-3 jam.
- h. Dilanjutkan dengan pemanasan dalam oven dengan suhu 50-60°C selama 5 jam.

- i. Hasil akhir inilah yang akan digunakan dalam percobaan. Untuk melarutkan ekstrak tersebut, tambahkan aquades dan aseton $\pm$ 1% atau sampai ekstrak dapat tercampur merata.

4.8.2 Identifikasi Bakteri dengan Pewarnaan Gram

1. Gelas objek dibersihkan dengan kapas, kemudian dilewatkan di atas api untuk menghilangkan lemak dan dibiarkan dingin.
2. Satu ose aquades steril ditetaskan pada gelas objek ditambah sedikit biakan bakteri yang diambil menggunakan ose, selanjutnya disuspensikan dengan aquades pada gelas objek dan diratakan. Untuk sediaan cair tidak perlu disuspensikan dengan aquades.
3. Sediaan dikeringkan di udara, kemudian dilakukan fiksasi dengan cara melewati sediaan di atas api.
4. Sediaan pada gelas objek ditetesi dengan kristal violet selama 1 menit. Sisa kristal violet dibuang dan dibilas dengan air.
5. Sediaan ditetesi dengan lugol selama 1 menit. Sisa lugol dibuang dan dibilas dengan air.
6. Sediaan ditetesi dengan alkohol 96% selama 5-10 detik atau sampai warna cat luntur. Sisa alkohol dibuang dan dibilas dengan air.
7. Sediaan ditetesi safranin selama $\frac{1}{2}$ menit. Sisa safranin dibuang dan dibilas dengan air.
8. Sediaan dikeringkan dengan kertas penghisap.
9. Sediaan dilihat di bawah mikroskop dengan lensa objektif perbesaran 400x.
10. Hasil positif : *Lactobacillus acidophilus* tercat ungu (Gram positif).

4.8.3 Tes Katalase

1. Sediakan pembenihan cair bakteri pada gelas obyek
2. Kemudian sediaan tersebut ditetesi larutan H_2O_2 3%
3. Perhatikan ada tidaknya gelembung udara yang terjadi
4. Hasil untuk *Lactobacillus acidophilus* adalah tes katalase negatif.

4.8.4 Persiapan Suspensi Uji *Lactobacillus acidophilus*

1. Dipersiapkan bakteri *Lactobacillus acidophilus* dari media BHIB yang telah diuji konfirmasi.
2. Ambil 5 koloni ($d \geq 1\text{mm}$) dengan ose kemudian dimasukkan ke dalam 5 ml NaCl 0,85% steril. Kemudian diukur *Optical Density* (OD) atau kepadatan optisnya dengan spektrofotometer pada $\lambda_{\text{maks}} = 650\text{ nm}$. Dari hasil yang diperoleh dibuat suspensi sel yang mengandung 1×10^8 hingga 5×10^8 CFU/ml dengan rumus $n_1 \times v_1 = n_2 \times v_2$ (Murray *et al.*, 1999).
3. Untuk mendapatkan suspensi sel yang mengandung $0,5 \times 10^6$ hingga $2,5 \times 10^6$ CFU/ml dilakukan dengan cara mengambil 1 ml (dari tabung yang mengandung 10^8 CFU/ml) untuk dicampur dengan 9 ml NaCl 0,85% steril. Maka akan didapatkan suspensi sel dengan konsentrasi 10^7 CFU/ml. Proses dilanjutkan sekali lagi hingga mencapai konsentrasi suspensi bakteri yang digunakan untuk tes, yaitu $0,5 \times 10^6$ hingga $2,5 \times 10^6$ CFU/ml (Murray *et al.*, 1999).

4.8.5 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Rimpang Kencur terhadap

Lactobacillus acidophilus

Rangkaian uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol rimpang kencur adalah sebagai berikut:

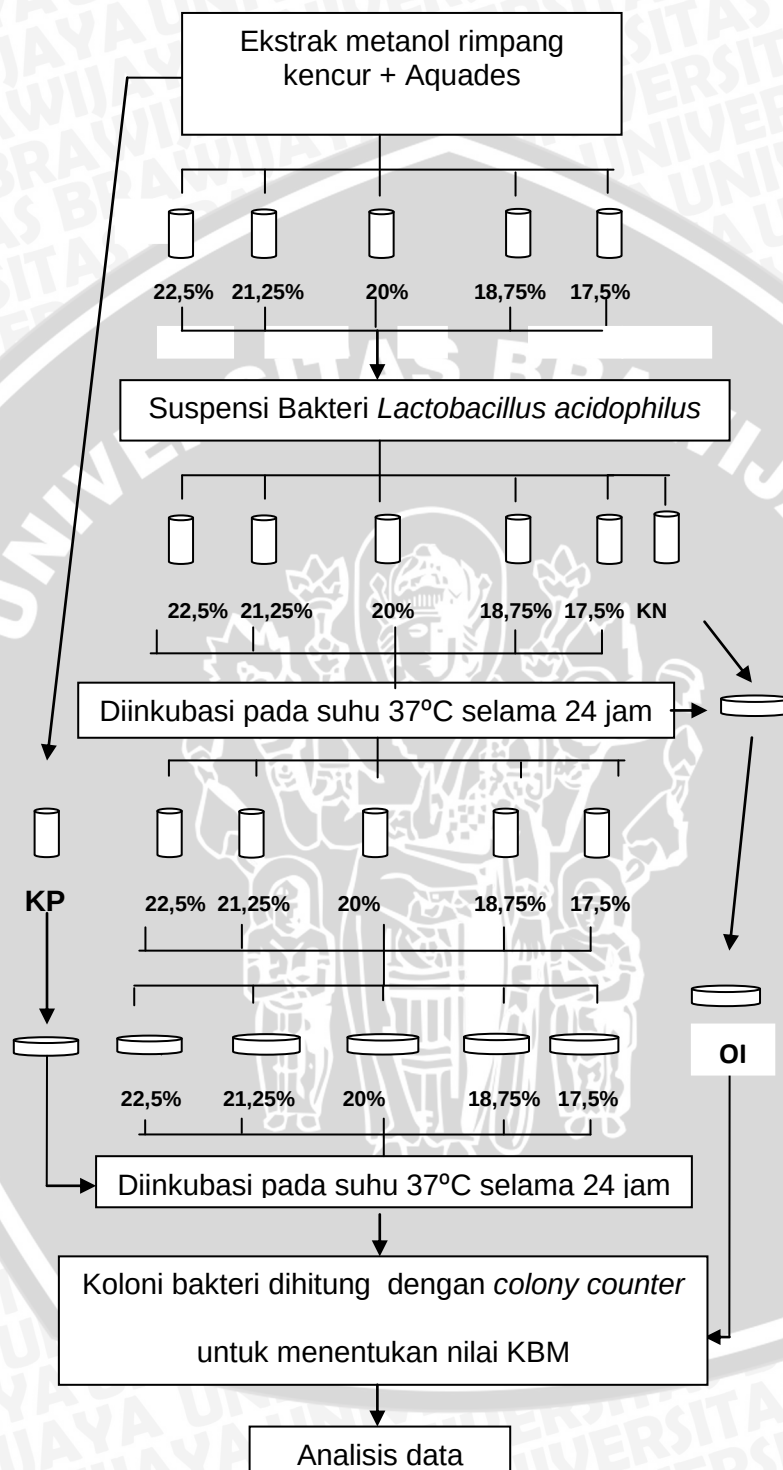
1. Disediakan 7 tabung steril, 5 tabung sebagai uji antibakteri dan 1 tabung sebagai kontrol bakteri (kontrol negatif), dan 1 kontrol bahan (kontrol positif).
2. Dilakukan penelitian pendahuluan digunakan untuk pencarian konsentrasi. Diawali dengan konsentrasi ekstrak 25%; 22,5%; 20%; 17,5%; 15%; 12,5%; 10%, 7,5%, 5%, 2,5% dan 0%. Setelah itu dilakukan perapatan konsentrasi berdasarkan hasil dari penelitian tersebut hingga dicapai ekstrak rimpang kencur dengan konsentrasi 22,5%, 21,25%, 20%, 18,75%, 17,5%.
3. Menyiapkan perbenihan cair perbenihan bakteri dengan konsentrasi $0,5 \times 10^6$ hingga $2,5 \times 10^6$ CFU/ml
4. Pembuatan konsentrasi ekstrak metanol rimpang kencur didapatkan dari metode pengenceran seri dengan cara mencampurkan komposisi sebagai berikut:
 - Kontrol Bahan = 1 ml ekstrak metanol rimpang kencur konsentrasi 100% + 1 ml BHIB
 - Konsentrasi 22,5% = 0,225 ml ekstrak metanol rimpang kencur konsentrasi 100% + 0,775 ml aquades + 1 ml suspensi bakteri *Lactobacillus acidophilus*

- Konsentrasi 21,25% = 0,2125 ml ekstrak metanol rimpang kencur konsentrasi 100% + 0,7875 ml aquades + 1 ml suspensi bakteri *Lactobacillus acidophilus*
 - Konsentrasi 20% = 0,20 ml ekstrak metanol rimpang kencur konsentrasi 100% + 0,80 ml aquades + 1 ml suspensi bakteri *Lactobacillus acidophilus*
 - Konsentrasi 18,75% = 0,1875 ml ekstrak metanol rimpang kencur konsentrasi 100% + 0,8125 ml aquades + 1 ml suspensi bakteri *Lactobacillus acidophilus*
 - Konsentrasi 17,5% = 0,175 ml ekstrak metanol rimpang kencur konsentrasi 100% + 0,825 ml aquades + 1 ml suspensi bakteri *Lactobacillus acidophilus*
 - Kontrol Kuman = 1 ml aquades + 1 ml suspensi bakteri *Lactobacillus acidophilus*
5. Kontrol bakteri (0%) digoreskan pada BHIA sebagai *original inoculum* kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.
 6. Masing-masing tabung di-vortex dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.
 7. Pada hari kedua, semua tabung dikeluarkan dari inkubator. KHM didapatkan dengan cara melihat kejernihan tabung.
 8. Kemudian dari masing-masing tabung dilusi diambil satu ose kemudian diinokulasikan pada media *Brain Heart Infusion Agar* (BHIA). Kemudian diinkubasi 24 jam pada suhu 37°C.
 9. Pada hari ketiga didapatkan data KBM dan dilakukan pengamatan kuantitatif pada masing-masing konsentrasi dengan cara menghitung

jumlah koloni bakteri dengan *colony counter*. KBM ditentukan dari tidak adanya jumlah koloni yang tumbuh pada BHIA atau jumlah koloninya kurang dari 0,1% jumlah koloni di OI.



4.9 Kerangka Operasional Penelitian



Gambar 4.1 Kerangka Operasional Penelitian

Keterangan: KP: Kontrol Bahan, KN: Kontrol Bakteri, OI: Original Inokulum

4.10 Analisis Data

Data berdistribusi normal, analisis data yang digunakan adalah uji statistik parametrik yaitu *one way* ANOVA dan uji korelasi Pearson-regresi linier. Uji statistik *one way* ANOVA dengan derajat kepercayaan 95 % ($\alpha = 0,05$) digunakan untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian berbagai konsentrasi ekstrak metanol rimpang kencur terhadap jumlah koloni bakteri *Lactobacillus acidophilus*. Uji korelasi Pearson digunakan untuk mengetahui kekuatan hubungan antara konsentrasi ekstrak metanol rimpang kencur terhadap jumlah koloni bakteri *Lactobacillus acidophilus* dan uji regresi linier digunakan untuk membuat model persamaan regresi. Analisis data menggunakan program SPSS (*Statistical Product of Service Solution*) for Windows versi 12.0.



BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Identifikasi Bakteri *Lactobacillus acidophilus*

Isolat bakteri *Lactobacillus acidophilus* yang akan digunakan dalam penelitian ini dilakukan uji identifikasi bakteri terlebih dahulu. *Isolat* diidentifikasi dengan pewarnaan Gram dan tes *katalase*. Setelah dilakukan pewarnaan Gram, *Lactobacillus acidophilus* diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x. Hasil pengamatan tersebut menunjukkan gambaran berbentuk batang (basil) berwarna ungu (Gambar 5.1). Hal ini menunjukkan bahwa bakteri yang diidentifikasi adalah bakteri Gram positif.



Gambar 5.1 Gambaran *Lactobacillus acidophilus* Pada Pewarnaan Gram dengan Pembesaran 1000x

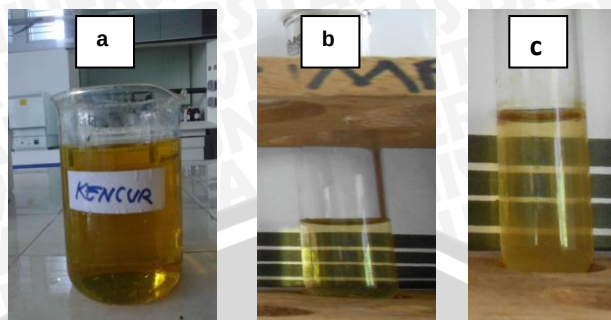
Tes *katalase* dilakukan dengan menyediakan pembenihan cair bakteri *Lactobacillus acidophilus* pada tabung reaksi kemudian ditetesi dengan larutan H_2O_2 3%. *Lactobacillus acidophilus* menunjukkan hasil negatif. Hal tersebut ditandai dengan tidak tampak adanya gelembung udara (Gambar 5.2).



Gambar 5.2 Hasil Tes *Katalase* Terhadap *Lactobacillus acidophilus* Tidak Tampak Gelembung Udara

5.2 Hasil Ekstraksi Metanol Rimpang Kencur

Sebanyak 200 gram rimpang kencur berbentuk serbuk yang dimaserasi menghasilkan 20 ml ekstrak metanol rimpang kencur. Ekstrak metanol rimpang kencur berbentuk cair, pekat, dan berwarna kuning (Gambar 5.3a). Jika dicampurkan dengan aquades, maka akan terlihat bening dan berwarna kuning (Gambar 5.3b). Apabila larutan tersebut dicampurkan dengan *Brain Heart Infusion Broth* dan diinkubasi 18-24 jam pada suhu 37°C , akan didapatkan larutan berwarna kekuningan dan terdapat sedikit bubuk atau endapan di bagian bawah tabung (Gambar 5.3c).



Gambar 5.3 Ekstrak Metanol Rimpang Kencur

Keterangan:

- a = Ekstrak metanol rimpang kencur berbentuk cair, pekat, dan berwarna kuning
- b = Ekstrak metanol rimpang kencur dicampurkan dengan aquades (terlihat bening dan berwarna kuning)
- c = Ekstrak metanol rimpang kencur dicampurkan dengan *Brain Heart Infusion Broth* dan diinkubasi 18-24 jam pada suhu 37°C (larutan berwarna kekuningan dan terdapat sedikit bubuk atau endapan di bagian bawah tabung)

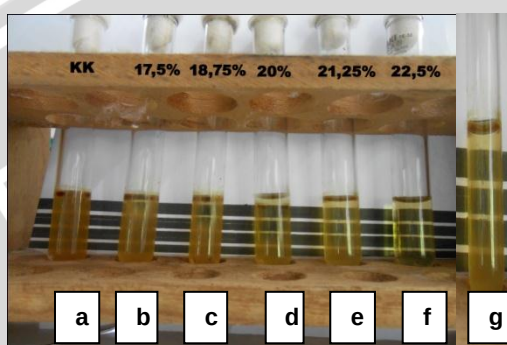
5.3 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri dengan Penentuan Nilai KHM

Sebelum dilakukan penelitian dengan konsentrasi inti, dilakukan penelitian pendahuluan terlebih dahulu. Rentang konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah 25%, 22,5%, 20%, 17,5%, 15%, 12,5%, 10%, 7,5%, 5%, dan 2,5%. Selanjutnya dilakukan dengan rentang konsentrasi yang lebih kecil. Hasil dari penelitian pendahuluan menunjukkan bahwa tidak terdapat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi ekstrak 22,5%, sehingga penelitian inti dilakukan dengan menggunakan lima macam konsentrasi ekstrak rimpang kencur, yaitu 22,5%, 21,25%, 20%, 18,75%, dan 17,5%.

Penentuan nilai KHM menggunakan metode *dilusi* tabung dilakukan dengan cara mengamati perbedaan tingkat kekeruhan larutan ekstrak metanol rimpang kencur dengan konsentrasi 22,5%, 21,25%, 20%, 18,75%, dan 17,5%. Garis-garis hitam yang diletakkan di belakang tabung digunakan untuk membantu menilai kekeruhan. Hasil pengamatan menunjukkan pada konsentrasi

21,25% dapat dilihat kekeruhan sudah terlihat hilang sama sekali (Gambar 5.4).

Jadi ditentukan KHM ekstrak metanol rimpang kencur terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus* berada pada konsentrasi 21,25%.



Gambar 5.4 Hasil Uji *Dilusi* Tabung Pada Berbagai Konsentrasi Ekstrak Metanol Rimpang Kencur

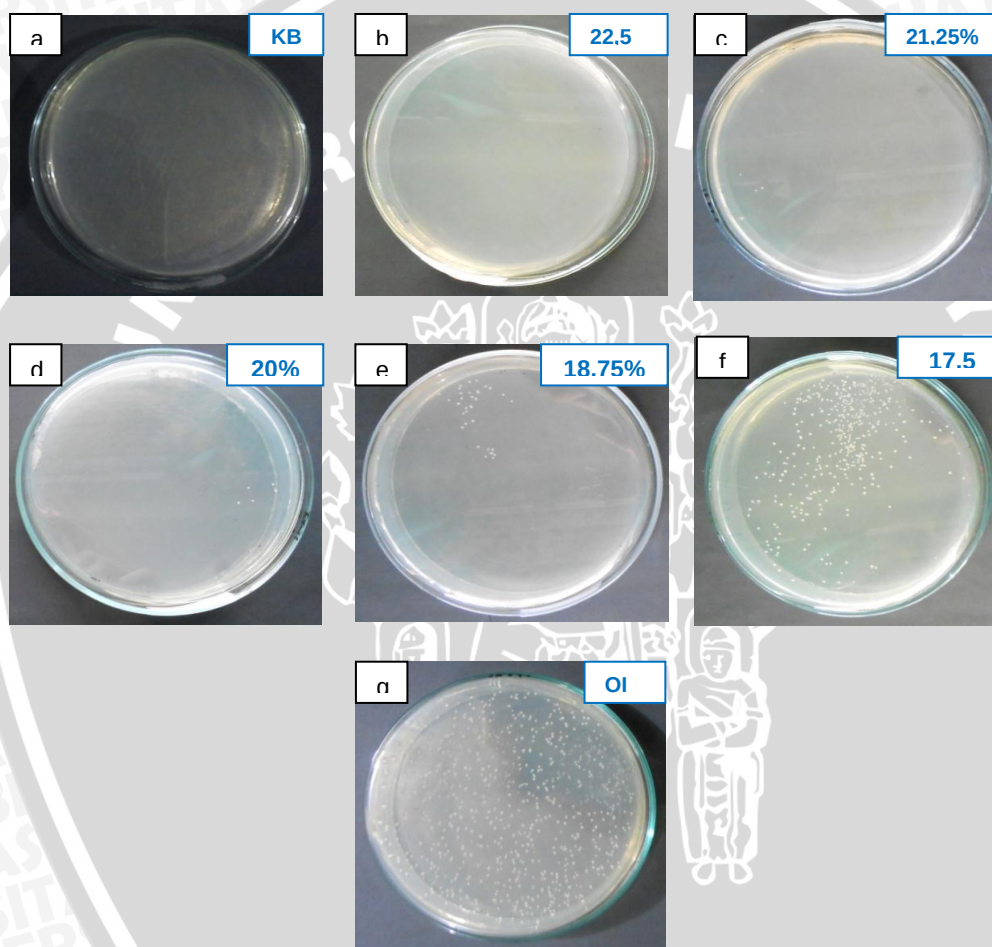
Keterangan:

- a = Kontrol Kuman (KK): campuran *Lactobacillus acidophilus* dan akuades
- b = Campuran bakteri dan ekstrak metanol rimpang kencur konsentrasi 17,5% tampak keruh
- c = Campuran bakteri dan ekstrak metanol rimpang kencur konsentrasi 18,75% tampak keruh
- d = Campuran bakteri dan ekstrak metanol rimpang kencur konsentrasi 20% tampak keruh
- e = Campuran bakteri dan ekstrak metanol rimpang kencur konsentrasi 21,25% tampak kekeruhan hilang/bening
- f = Campuran bakteri dan ekstrak metanol rimpang kencur konsentrasi 22,5% tampak bening
- g = Kontrol Bahan (KB): campuran media BHIB dan ekstrak metanol rimpang kencur konsentrasi 100%

5.4 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Menggunakan Metode *Dilusi* Tabung Untuk Menentukan Nilai KBM

Metode *dilusi* tabung digunakan untuk menentukan nilai KBM. Metode ini dilakukan dengan cara menggoreskan suspensi *Lactobacillus acidophilus* pada BHIA sebagai *original inoculum* (OI) dan menggoreskan masing-masing konsentrasi ekstrak yaitu 100% (KB), 22,5%, 21,25%, 20%, 18,75%, dan 17,5% pada BHIA. Kemudian BHIA diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.

Penghitungan jumlah koloni yang tumbuh pada masing-masing konsentrasi BHIA dihitung menggunakan *colony counter* (Tabel 5.1). Hasil penggoresan pada BHIA dan hasil perhitungan disajikan pada gambar 5.5 di bawah ini:



Gambar 5.5 Pertumbuhan Koloni *Lactobacillus acidophilus* pada BHIA

Keterangan:

- a = Pertumbuhan koloni bakteri pada Kontrol Bahan
- b = Pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi 22,5%
- c = Pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi 21,25%
- d = Pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi 20%
- e = Pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi 18,75%
- f = Pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi 17,5%
- g = Pertumbuhan koloni bakteri pada *Original Inoculum* (OI)

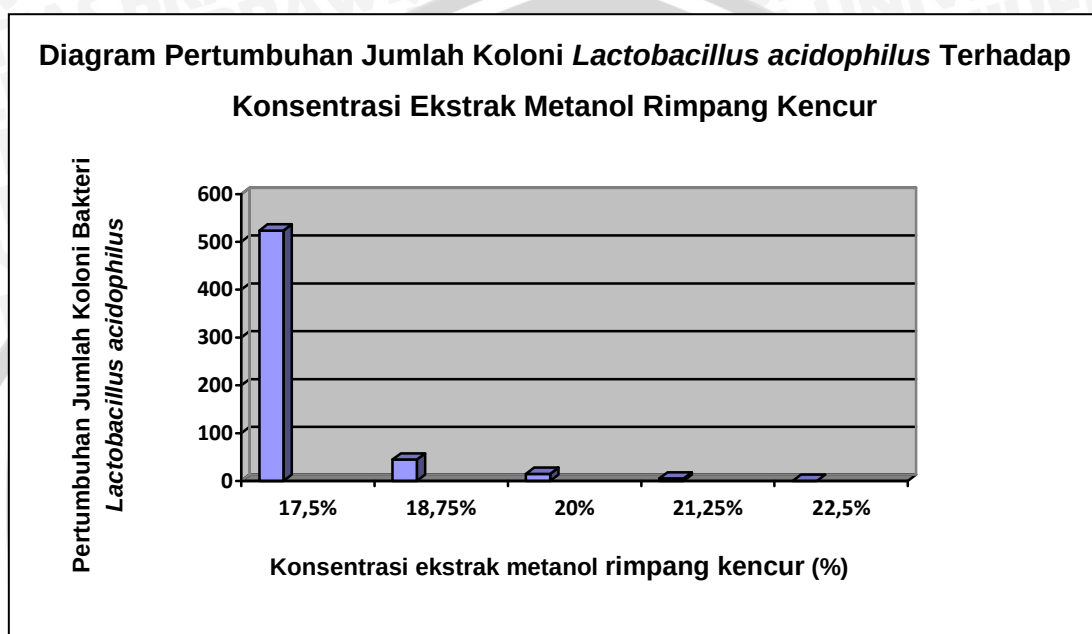
Rerata pertumbuhan koloni *Lactobacillus acidophilus* pada *original inoculum* adalah sebanyak 1034,50 CFU/plate (Gambar 5.5g). Penentuan KBM ekstrak metanol rimpang kencur adalah pertumbuhan koloni yang kurang dari 0,1% *original inoculum*s dimana 0,1% dari 1034,50 adalah 1,0345. Berdasarkan hasil pengamatan tersebut, konsentrasi 22,5% menunjukkan bahwa tidak ada pertumbuhan koloni bakteri pada BHIA atau bisa dikatakan $<1,0345$; sehingga konsentrasi 22,5% bisa ditetapkan sebagai KBM.

Tabel 5.1 Hasil Penghitungan Koloni Bakteri yang Tumbuh Pada BHIA

Konsentrasi	Rerata Jumlah Koloni <i>Lactobacillus acidophilus</i> (CFU/Plate)	Standar Deviasi
100% (KB)	0	0
22,5%	0	0
21,25%	5,25	0,957
20%	14,75	1,258
18,75%	44,75	1,258
17,5%	523,75	26,260
OI	1034,50	24,772

Berdasarkan Tabel 5.1 dibuat diagram yang menunjukkan hubungan pertumbuhan koloni *Lactobacillus acidophilus* dengan berbagai konsentrasi ekstrak metanol rimpang kencur. Berdasarkan diagram tersebut, dapat diamati

bahwa terjadi penurunan jumlah koloni seiring dengan peningkatan konsentrasi (Gambar 5.6).



Gambar 5.6 Diagram Pertumbuhan Jumlah Koloni *Lactobacillus acidophilus* Terhadap Konsentrasi Ekstrak Metanol Rimpang Kencur

Keterangan:

- Rerata jumlah koloni pada konsentrasi 17,5% sebesar 44,75 CFU/plate
- Rerata jumlah koloni pada konsentrasi 18,75% sebesar 36,75 CFU/plate
- Rerata jumlah koloni pada konsentrasi 20% sebesar 11,75 CFU/plate
- Rerata jumlah koloni pada konsentrasi 21,25% sebesar 4,75 CFU/plate
- Rerata jumlah koloni pada konsentrasi 22,5% sebesar 0 CFU/plate (tidak ada pertumbuhan)

5.6 Analisis Data

Analisis data menggunakan program SPSS (*Statistical Product of Service Solution*) for Windows versi 18.0. Penelitian ini menggunakan uji normalitas Kolmogorov-Smirnov, uji *oneway* ANOVA, dan uji korelasi Pearson, dilanjutkan uji regresi. Hasil uji normalitas Kolmogorov-Smirnov menunjukkan bahwa nilai

signifikansi yang didapat sebesar 0,948 pada variabel jumlah bakteri. Nilai signifikansi variabel tersebut lebih besar dari 0,05 ($p > 0,05$) sehingga distribusi data dianggap normal.

Data yang terdistribusi normal kemudian diuji menggunakan statistik parametrik yaitu uji *Oneway ANOVA*. Hasil uji *oneway ANOVA* menunjukkan bahwa nilai signifikansi yang didapat sebesar 0,000 ($p < 0,01$). Berdasarkan hal tersebut, dapat dikatakan bahwa minimal satu dari konsentrasi yang digunakan memberi perbedaan efek yang bermakna dengan konsentrasi yang lain. Setelah dilakukan uji *oneway ANOVA*, analisis dilanjutkan dengan menggunakan *Post Hoc Tukey Test* untuk membandingkan perbedaan antara pemberian dua konsentrasi ekstrak metanol rimpang kencur. Menurut hasil *Post Hoc Tukey Test* (Tabel 5.2), diketahui bahwa ada perbedaan yang signifikan di setiap pasangan kelompok sampel yang ditunjukkan oleh angka signifikansi 0,000. Sedangkan pada konsentrasi 18,75% dengan 22,5% didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,005. Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian setiap pasangan konsentrasi tersebut memberikan perbedaan efek yang bermakna ($p < 0,01$). Hasil uji *Post Hoc Tukey* terhadap konsentrasi 22,5% dengan 21,25% menunjukkan bahwa nilai signifikansi yang didapat adalah 0,995; 22,5% dengan 20% didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,719; 21,25% dengan 20% didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,939; 21,25% dengan 18,75% didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,015; 20% dengan 18,75% didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,090. Hasil ini menunjukkan pemberian kedua konsentrasi tersebut tidak memberikan perbedaan efek yang bermakna.

Tabel 5.2 Hasil Analisis Data dengan Metode *Post Hoc*

Konsentrasi	17,5%	18,75%	20%	21,25%	22,5%
17,5%	-	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
18,75%	0,000*	-	0,090	0,015	0,005
20%	0,000*	0,090	-	0,939	0,719
21,25%	0,000*	0,015	0,939	-	0,995
22,5%	0,000*	0,005*	0,719	0,995	-

Keterangan: * = terdapat perbedaan/bermakna

Nilai signifikansi uji korelasi Pearson yang didapat adalah 0,000 ($p < 0,01$). Hal ini diartikan bahwa terdapat hubungan yang bermakna pada pemberian ekstrak metanol rimpang kencur terhadap pertumbuhan koloni *Lactobacillus acidophilus*. Nilai koefisien korelasi Pearson yang didapat adalah -0,934. Tanda negatif menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang berbanding terbalik, yaitu semakin tinggi konsentrasi ekstrak metanol rimpang kencur maka semakin sedikit jumlah pertumbuhan koloni bakteri *Lactobacillus acidophilus*, begitu juga sebaliknya. Nilai 0.934 menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang kuat antara perlakuan konsentrasi dengan pertumbuhan bakteri (nilai mendekati 1). Berdasarkan hasil uji *regresi*, didapatkan nilai *R Square* (R^2) sebesar 0,873 yang berarti bahwa efektivitas pemberian ekstrak metanol rimpang kencur terhadap penurunan jumlah koloni bakteri *Lactobacillus acidophilus* adalah sebesar 87,3%.

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris secara *in vitro* untuk mengetahui apakah ekstrak metanol rimpang kencur memiliki efek antibakteri terhadap *Lactobacillus acidophilus*. Metode penelitian yang digunakan adalah metode *dilusi* tabung untuk menentukan nilai Kadar Hambat Minimum (KHM) dan nilai Kadar Bunuh Minimum (KBM). KBM didapat dengan cara menggoreskan hasil *dilusi* tabung pada *plate* berisi BHIA (Noor, 2006; Nurhanafi dkk., 2012).

Isolat bakteri *Lactobacillus acidophilus* yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Sebelum digunakan untuk penelitian, bakteri *Lactobacillus acidophilus* diidentifikasi terlebih dahulu untuk memastikan bahwa bakteri tersebut adalah benar *Lactobacillus acidophilus*. Tes yang dilakukan untuk identifikasi adalah tes pewarnaan Gram dan tes *katalase*. Setelah pengecatan Gram, preparat *Lactobacillus acidophilus* diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 400x. Hasilnya menunjukkan bahwa *Lactobacillus acidophilus* berbentuk basil dan berwarna ungu. Warna ungu tersebut menunjukkan bahwa *Lactobacillus acidophilus* adalah bakteri gram positif karena kemampuannya untuk mempertahankan warna kristal violet yang ditetaskan sehingga nampak berwarna ungu saat pengamatan dikarenakan dinding sel kelompok bakteri ini tersusun oleh sebagian besar peptidoglikan, yang mampu mengikat zat warna dan tidak rusak saat dicuci dengan alkohol (Lestari, 2012). Hasil tes *katalase* yang didapat adalah negatif, yaitu *Lactobacillus acidophilus* tidak menimbulkan

gelembung udara. *Lactobacillus* tidak memiliki enzim *katalase* sehingga tidak dapat mengubah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 (Prepinida, 2011). Hasil tes *katalase* dikatakan positif apabila tampak gelembung udara. Berdasarkan hasil dari kedua jenis tes identifikasi ini, dapat dibuktikan bahwa bakteri yang digunakan tersebut adalah benar *Lactobacillus acidophilus*.

Rimpang kencur yang digunakan diperoleh dari Balai Materia Medica, UPT Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur, Kota Batu. Rimpang kencur tersebut kemudian dicuci bersih untuk menghilangkan debu yang menempel, kemudian diiris tipis-tipis dan dikeringkan dengan panas matahari agar kandungan airnya menguap. Kemudian rimpang kencur diblender halus agar bahan aktif lebih mudah terekstrak. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dengan pelarut metanol 96%. Metode maserasi dipilih karena pengerjaannya lebih mudah dan peralatan yang digunakan sederhana, serta proses maserasi sangat menguntungkan dalam ekstraksi senyawa bahan alam karena dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara didalam dan diluar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna (Wullur dkk, 2012). Penggunaan metanol 96% sebagai pelarut yang bersifat polar adalah karena sifatnya yang cocok untuk mengekstrak senyawa-senyawa yang polar dari tanaman (Ditjen POM, 2000).

Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan, maka konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 22,5%, 21,25%, 20%, 18,75%, dan 17,5%. Rentang antara konsentrasi yang digunakan adalah sebanyak 1,25% dengan tujuan meminimalkan kesalahan dalam pengukuran ekstrak.

Nilai KHM ekstrak metanol rimpang kencur terhadap *Lactobacillus acidophilus* adalah konsentrasi 21,25% yang didapatkan dengan cara mengamati perbedaan tingkat kekeruhan larutan ekstrak metanol rimpang kencur pada setiap konsentrasi dan nilai KBM adalah konsentrasi 22,5% yang diperoleh dengan penghitungan jumlah koloni yang tumbuh pada masing-masing konsentrasi BHIA dihitung menggunakan *colony counter*. Kemampuan ekstrak metanol rimpang kencur dalam menghambat pertumbuhan atau membunuh *Lactobacillus acidophilus* diperkirakan oleh karena zat-zat aktif yang terkandung di dalamnya, yaitu *kamfer*, *borneol*, dan *sineol* (Utami, 2008).

Borneol sebagai bakterisidal adalah efeknya yang kuat dalam menyebabkan kerusakan pada membran sel bakteri, baik pada bakteri gram positif maupun gram negatif, sehingga menyebabkan kebocoran protein (Oyedemi *et al.*, 2009). *Borneol* memiliki mekanisme kerja sebagai antibakteri yaitu dengan cara merusak membran sel yang akan menyebabkan denaturasi protein sel dan mengurangi tekanan permukaan sel. Rusaknya dinding sel dan membran sitoplasma akan memudahkan masuknya senyawa antibakteri ke dalam sel dan akan menyebabkan terjadinya proses denaturasi protein sitoplasma sehingga proses metabolisme terganggu. Bocornya membran ini akan mengakibatkan sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya akan terhambat atau bahkan mati (Ajizah, 2004).

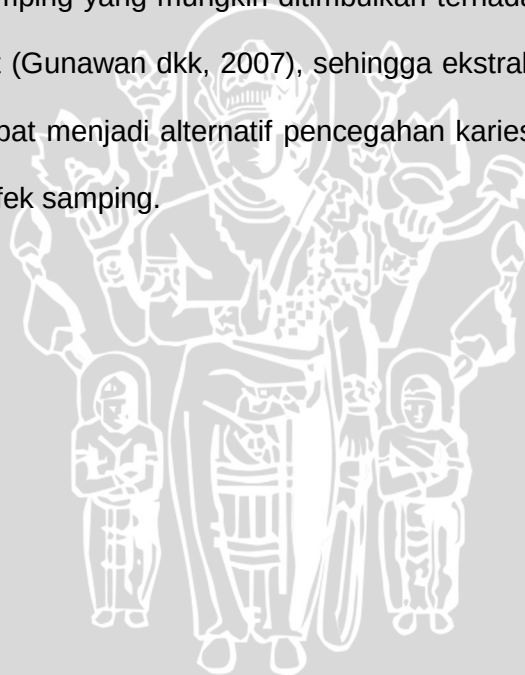
Sineol juga memiliki aktivitas antibakteri yaitu dengan mempengaruhi membran sel bakteri sehingga menyebabkan perubahan permeabilitas membran sel dan merusak kemampuan *osmoregulate* dari membran sel. Kerusakan membran sel dapat menyebabkan kebocoran sehingga komponen-komponen penting di dalam sel, sehingga dapat menyebabkan sel lisis (Carson, 2002).

Kamfer merupakan golongan monoterpen. Mekanisme monoterpen sebagai antimikrobal adalah kemampuannya melakukan interaksi dengan membran sel mikroba (Setiani, 2010). Monoterpen dapat menyebar ke dalam struktur membran sel bakteri dan menyebabkan terjadinya kerusakan struktur membran sel, sehingga akan menyebabkan larut atau lisisnya membran sel (Tyagi, 2010).

Berdasarkan hasil penelitian, yaitu adanya penurunan jumlah koloni *Lactobacillus acidophilus* seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak metanol rimpang kencur sehingga diperoleh nilai KHM dan KBM, kemudian diperkuat dengan hasil analisis statistik yang mempunyai nilai kemaknaan yang tinggi dan data mengenai kandungan bahan aktif ekstrak metanol rimpang kencur yang mampu menghambat pertumbuhan/membunuh *Lactobacillus acidophilus*, maka dapat dikatakan bahwa ekstrak metanol rimpang kencur memiliki efek antibakteri terhadap *Lactobacillus acidophilus* secara *in vitro*. Hal ini menunjukkan bahwa hipotesis penelitian yang telah disusun dapat diterima.

Pada penelitian ini dalam metode pembuatan ekstrak yang digunakan (maserasi) tidak dapat menunjukkan proporsi jumlah bahan aktif yang terkandung di dalam ekstrak tersebut. Lama penyimpanan ekstrak dapat mempengaruhi sensitivitas ekstrak sebagai antibakteri. Semakin lama ekstrak disimpan, sensitivitas ekstrak biasanya akan menurun (Sagala, 2013), sehingga perlu dilakukan standarisasi dalam pemilihan bahan yang digunakan (rim pang kencur), alat ekstraksi, serta lamanya masa simpan (jangka waktu penyimpanan ekstrak yang masih dapat digunakan sebagai antibakteri) sehingga apabila dilakukan penelitian yang sama di tempat yang berbeda akan didapatkan hasil yang sama.

Aplikasi klinis yang memungkinkan dari penelitian ini adalah penggunaan ekstrak metanol rimpang kencur secara oral dalam bentuk zat herbal yang terkandung dalam obat kumur untuk pencegahan karies gigi akibat infeksi *Lactobacillus acidophilus*. Berdasarkan hasil penelitian ini, efektifitas antibakteri ekstrak metanol rimpang kencur terhadap *Lactobacillus acidophilus* secara *in vitro* sudah terbukti, namun penggunaan secara klinis masih memerlukan penelitian lebih lanjut melalui pengujian pada hewan coba maupun pengujian pada manusia. Pengujian tersebut bertujuan untuk mengetahui dosis efektif, toksisitas dan efek samping yang mungkin ditimbulkan terhadap tubuh manusia akibat pemberian obat (Gunawan dkk, 2007), sehingga ekstrak metanol rimpang kencur diharapkan dapat menjadi alternatif pencegahan karies gigi yang murah, efektif dan minimum efek samping.



BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

- Ekstrak metanol rimpang kencur mempunyai efek antibakteri terhadap *Lactobacillus acidophilus*.
- Nilai Kadar Hambat Minimum (KHM) ekstrak metanol rimpang kencur terhadap *Lactobacillus acidophilus* adalah konsentrasi 21,25%, sedangkan nilai Kadar Bunuh Minimum (KBM) adalah 22,5%.
- Semakin tinggi konsentrasi ekstrak metanol rimpang kencur maka semakin sedikit jumlah pertumbuhan koloni *Lactobacillus acidophilus*.

7.2 Saran

Berdasarkan kekurangan yang ada pada penelitian ini, maka perlu diadakan penelitian yang lebih lanjut sebagai berikut:

- Penelitian lanjutan mengenai efektivitas antibakteri ekstrak metanol rimpang kencur terhadap *Lactobacillus acidophilus* secara *in vivo* pada hewan coba dan *clinical trial* pada manusia.
- Penelitian lanjutan untuk mengetahui bagaimana pengaruh ekstrak rimpang kencur terhadap flora normal dalam rongga mulut.

- c. Penelitian lanjutan mengenai kemungkinan ekstrak metanol rimpang kencur dalam menghambat bakteri lain selain *Lactobacillus acidophilus*.
- d. Penelitian lanjutan menggunakan metode selain maserasi dengan pelarut metanol untuk mengambil zat aktif antibakteri yang spesifik pada rimpang kencur.
- e. Penelitian lanjutan sebagai pencegahan karies gigi dengan penggunaan rimpang kencur selain dalam bentuk ekstrak melainkan dalam bentuk dekok rimpang kencur.



DAFTAR PUSTAKA

- Ajizah, Aulia. 2004. Sensitivitas *Salmonella Typhimurium* Terhadap Ekstrak Daun *Psidium guajava* L. Jurnal Bioscientie. VOL 1 NO.1: 31-8. Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Lambung Mangkurat.
- Alpers, Ann. 2006. Buku Ajar Pediatrika. Jakarta, EGC.
- Badet MC, Richard B, Dorignac G. 2008. An *in vitro* study of the pH-lowering potential of salivary lactobacilli associated with dental caries. *J Appl Microbiol*; 90(6): 1015–1018.
- Barus, Rosbina. 2009. Amidasi Etil P.Metoksisinamat yang Diisolasi dari Kencur (*Kaempferia galanga* L.). Tesis. Sumatera Utara: USU Repository.
- Braga, M, Fausto, M, Ekstrand, R. 2010. *Detection Activity Ssessment and Diagnosis of Dental Caries Lesion. Departement pediatric dentistry. Brazil. Dent Clin N Am* 54: 479-493.
- Brooks, G. F, Carroll, K. C, Butel, J. S, Morse, S. A. 2007. *Jawetz, Melnick, and Adelberg's Medical Microbiology 24th Edition*. USA.
- Cahoney. 2008. Classification of *Lactobacillus acidophilus*. <http://cahoney-l-acidophilus.pbworks.com/w/page/6327452/Classification/>, diakses tanggal 24 November 2013.
- Carson, C. 2002. *Mechanism of Action of Melaleuca alternifolia (Tea Tree) Oil on Staphylococcus aureus Determined by Time-Kill, Lysis, Leakage, and Salt Tolerance Assays and Electron Microscopy*; 46 (6): 1914-1920.
- Cawson, R.A., Odell, E. W. 2002. *Cawson's Essentials of Oral Pathology and Oral Medicine. Seventh Edition*. Churchill Livingstone: London.
- Choma, Irena. 2005. *The Use of Thin-Layer Chromatography with Direct Bioautography for Antimicrobial Analysis*. LCGC Europe. Vol. 18, Issue 9.
- Ditjen POM. 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Cetakan Pertama. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Halaman 3-5, 10-11.
- Donlan RM, Costerton JW. 2002. *Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms*. *Clin Microbial Rev*.
- Elistina, M. D. 2005. Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Dari Daun Sirih (*Piper betle* L). *Skripsi*. Jurusan Kimia. FMIPA. Universitas Udayana. Denpasar.
- Gunawan, GS., Setiabudy, R., Nafrialdi. 2007. *Farmakologi dan Terapi*. Departemen Farmakologi dan Terapeutik Edisi 5. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. Hal. 1-23.
- Harmanto, N. 2007. Herbal untuk Keluarga Jus Herbal Segar dan Menyehatkan. Jakarta: PT Elex Media Komputindo.
- Hall-Stodley. 2004. *Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases*. *Nat Rev Microbiol*.
- Heinrich, M., Barnes, J., Gibbson, S., Williamson, E. 2009. *Farmakognosis dan Fitoterapi*. EGC. Jakarta.
- Hojo K, Nagaoka S, Ohsima T, Maeda N. 2009. *Bacterial interactions in dental biofilm development*. *Jun Dent Res*. 88(11).
- Jawetz, Melnick, Adelberg. 2008. Mikrobiologi Kedokteran. (H. Hartanto, C. Rachman, A. Dimanti, A. Diani). Jakarta : EGC.p.199-200 : 233.
- Kidd EAM, Bechal SJ. 2004. *Dasar-dasar Penyakit Karies dan Penanggulangannya*. EGC : Jakarta.

- Koerniati, Isnindiah. 2006. Perkembangan Perawatan Gigi Masa Depan. Padang: Andalas University press.
- Koll-Klais P, Mandar R, Leibur E, Kjaeldgaard M. 2004. *High Levels of Salivary Lactobacilli in Estonian Schoolchildren*. *Eur J Paediatr Dent*. 5(2): p.107-109.
- Kleinberg I. 2002. *A Mixed-Bacteria Ecological Approach To Understanding The Role of The Oral Bacteria in Dental Caries Causation*. SAGE. 13(2): 109.
- Lumongga, F. 2008. Apoptosis. Fakultas Kedokteran. Universitas Sumatera Utara.
- Madigan. 2003. *Biology of Microorganism*. 10th ed. New York; Southern Illinois University Carbondale.
- Mahboubi, M. 2011. *Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities of Dittrichia graveolens (L.) Greuter Essential Oil*. Iran: Medicinal Plants Research Center of Jundi Shapour.
- Méndez C. R, Badet C, Yanez A, Dominguez M. L, 2009. *Identification of Oral Strains of Lactobacillus species Isolated from Mexican and French Children*. *Journal of Dentistry and Oral Hygiene Vol. I*, pp. 009-016.
- Miranti, L. 2009. Pengaruh Konsentrasi Minyak Atsiri Kencur (*Kaempferia galanga L.*) dengan Basis Salep Larut Air Terhadap Sifat Fisik Salep dan Daya Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. Skripsi. Diterbitkan oleh Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah. Surakarta.
- Misbahatori, Dedi. 2013. Kencur. Obat Penyakit.
- Nagel R. 2010. *Cure Tooth Decay: Heal and Prevent Cavities with Nutrition*. 2nd Edition. D. D. S. Timothy Gallagher: Sunnyvale. CA.
- Nasution, S. 2011. Metode Analisis Kandungan Kimia Organik. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Nawaekasari, Mega. 2012. Efek Senyawa Polifenol Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma cacao L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Lactobacillus acidophilus*. Skripsi. Diterbitkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Neal, MJ. 2002. Obat Penurun Lipid. *At a glance farmakologi medis*. Jakarta: EMS.
- Noor SM, Poeloengan M, Yulianti T. 2006. *Analisis Senyawa Kimia Sekunder Dan Uji Daya Anti Bakteri Ekstrak Daun Tanjung (Mimusops Elengi L) Terhadap salmonella typhi dan Shigella boydii*. Makalah disajikan dalam Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. <http://peternakan.litbang.deptan.go.id/fullteks/semnas/pro06-148.pdf>
- Notobroto. 2005. Dasar-dasar Metodologi Penelitian Klinis Edisi 7. Jakarta: CV. Sagung Seto.
- Nurhanafi F, Murwani S, Winarso D. 2012. *Perbandingan Potensi Antimikroba Ekstrak n-Heksana Daun Kelor (Moringa oleifera) dengan Kulit Biji (Pericarp) Jambu Mete (Anacardium occidentale) terhadap Bakteri Pseudomonas aeruginosa secara in vitro*. Jurnal Penelitian. Tidak diterbitkan, Program Studi Pendidikan Dokter Hewan, Universitas Brawijaya, Malang. <http://pkh.ub.ac.id/wp-content/uploads/2012/10/0811313011-Faris-Nurhanafi.rev.pdf>
- Oktora, L. 2011. Pemanfaatan Obat Tradisional dengan Pertimbangan Manfaat dan Keamanannya. Majalah Ilmu Kefarmasian. Universitas Jember. Vol. III. No. 1.

- Permadi, A. 2008. Membuat Kebun Tanaman Obat. Pustaka Bunda. Jakarta.
- Pintauli, S, Hamada, T. 2008. Menuju Gigi dan Mulut Sehat Pencegahan dan Pemeliharaan. Medan: USU Press.
- Prepinida I. 2011. *Perbandingan Daya Hambat Ekstrak Siwak (Salvadora persica) Dan Larutan Kumur Komersil Terhadap Pertumbuhan Bakteri Mulut*. Skripsi. Tidak diterbitkan, Institus Pertanian Bogor, Bogor.
<http://dosen.narotama.ac.id/wp-content/uploads/2012/03/Perbandingan-Daya-Hambat-Ekstrak-Siwak-Salvadora-persica-Dan-Larutan-Kumur-Komersil-Terhadap-Pertumbuhan-Bakteri-Mulut.pdf>
- Purwandhani SN., Rahayu ES. 2003. Isolasi dan seleksi *Lactobacillus* yang berpotensi sebagai agensia probiotik. *Agritech* 23 (2): 67-74.
- Regianto, H. 2009. Minyak Atsiri Rimpang Kencur (*Kaempferia galanga L.*) Karakterisasi Simplisia, Isolasi, dan Analisis Komponen Minyak Atsiri Secara GC-MS. Sumatera Utara: USU Repository.
- Robijanto, B. 2011. Semi Sintesis N, N-Bis(2-Hidroksietil)-3-(4-Metoksifenil) Akrilamida dari Etil P- Metoksisinamat Hasil Isolasi Rimpang Kencur (*Kaempferia galanga L.*) Melalui Amidasi Dengan Dietanolamin. Sumatera Utara: USU Repository.
- Rosiana, A. D. 2008. Pengaruh Asam-asam Organik terhadap Pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* dan *Lactobacillus casei* (bakteri asam laktat). Departemen Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Surabaya.
- Sagala AR. 2013. *Uji Efek Ekstrak Etanol Gel Lidah Buaya (Aloe Vera) Sebagai Antimikroba Terhadap Bakteri Escherichia coli Secara In Vitro*. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
- Samaranayake L. 2006. *Essential Microbiology for Dentistry*. Churchill Livingstone. London.
- Setiani, LM, 2010. Uji Bioaktivitas minyak Atsiri Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoaria (Bergroscoe)* terhadap *Agrobacterium tumefaciens* A-208. Universitas Udayana.
- Sharma, TR, Agrawal, S, 2011. *Multiple Biological Activities of Aloe Barbadensis (Aloe vera): An overview*. Asian journal of Pharmacy and Life Science. 1: (2).
- Siregar, AF, 2012. Potensi Antibakteri Ekstrak Rumput Laut Terhadap Bakteri Penyakit Kulit *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Micrococcus luteus*. Journal Of Marine Research. Vol.1: (2)
- Soames, J. V., Southam, J. C. 2005. *Oral Pathology, Fourth Edition*, Oxford University Press: London.
- Soden, R. I., Botero, T. M., Hanks, C. T., Nor J. E., 2009. *Angiogenic signaling triggered by cariogenic bacteria in pulp cells*. 835-840.
- Srigupta, A. A. 2004. Perawatan Gigi dan Mulut, Cetakan Pertama, Penerbit Prestasi Pustaka Publisher. Jakarta.
- Summit, JB., J. William R, and Richard S. 2001. *Fundamentals of Operative Dentistry: A contemporary Approach. 2nd edition*. Carol Stream, Illinois, Quintessence Publishing Co, Inc.
- Suryo, Joko. 2010. Herbal Penyembuh Gangguan Pernapasan. Yogyakarta: B First.
- Thebaud, NB. 2008. *Ecology of Lactobacillus in the Oral Cavity: A Review of Literature*, *The Open Microbiology Journal*, 2: 38-48.

Tjahja, N. 2006. Gambaran karies Gigi Permanen Di Beberapa Puskesmas kota dan Kabupaten Bandung, Sukabumi serta Bogor Tahun 2002. Puslitbang Biomedis dan Farmasi.

Todar K. 2008. *The Normal Bacterial Flora of Humans*, (online), www.textbookofbacteriology.net/normalflora.html, diakses tanggal 30 Desember 2013 pukul 20.00 WIB.

Tyagi, A.K, Malik, A. 2010. *Liquid and Vapour-phase Antifungal Activities of Selected Essential Oils Against Candida albicans: Microscopic Observations and Chemical Characterization of Cymbopogon citratus*, 10:65, (online), <http://www.biomedcentral.com/1472-6882/10/65>, diakses tanggal 30 November 2013 pukul 20.00 WIB.

Utami P. 2008. Buku Pintar Tanaman Obat. Jakarta: PT. Agromedia Pustaka.

Wullur AC, Schaduw J, Wardhani ANK. 2012. Identifikasi Alkaloid Pada Daun Sirsak (*Annona muricata* L.). *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 3(2): 54-56. <http://ejurnal.poltekkesmanado.ac.id/index.php/iif/article/view/29/48>



PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Afifah Ratih Rosavina

NIM : 115070401111007

Program Studi : Program Studi Pendidikan Dokter Gigi

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya,

menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri. Apabila dikemudian hari dapat dibuktikan bahwa tugas akhir ini adalah jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 01 November 2014

Yang membuat pernyataan,

Afifah Ratih Rosavina

NIM. 115070401111007

Lampiran 1. Hasil Uji Statistik

1. Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		
		Jumlah
N		24
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	270.50
	Std. Deviation	397.538
Most Extreme Differences	Absolute	.381
	Positive	.381
	Negative	-.248
Kolmogorov-Smirnov Z		.461
Asymp. Sig. (2-tailed)		.984

a. Test distribution is Normal.
b. Calculated from data.

2. Oneway ANOVA

ANOVA^b

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	3173422	1	3173421.869	151.305	.000 ^a
	Residual	461422.1	22	20973.733		
	Total	3634844	23			

a. Predictors: (Constant), DK

b. Dependent Variable: Jumlah

3. Post Hoc Test

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Jumlah

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
22.5%	21.25%	-5.250	10.438	.995	-38.42	27.92
	20%	-14.750	10.438	.719	-47.92	18.42
	18.75%	-44.750*	10.438	.005	-77.92	-11.58
	17.5%	-523.750*	10.438	.000	-556.92	-490.58
	OI	-1034.500*	10.438	.000	-1067.67	-1001.33
21.25%	22.5%	5.250	10.438	.995	-27.92	38.42
	20%	-9.500	10.438	.939	-42.67	23.67
	18.75%	-39.500*	10.438	.015	-72.67	-6.33
	17.5%	-518.500*	10.438	.000	-551.67	-485.33
	OI	-1029.250*	10.438	.000	-1062.42	-996.08
20%	22.5%	14.750	10.438	.719	-18.42	47.92
	21.25%	9.500	10.438	.939	-23.67	42.67
	18.75%	-30.000	10.438	.090	-63.17	3.17
	17.5%	-509.000*	10.438	.000	-542.17	-475.83
	OI	-1019.750*	10.438	.000	-1052.92	-986.58
18.75%	22.5%	44.750*	10.438	.005	11.58	77.92
	21.25%	39.500*	10.438	.015	6.33	72.67
	20%	30.000	10.438	.090	-3.17	63.17
	17.5%	-479.000*	10.438	.000	-512.17	-445.83
	OI	-989.750*	10.438	.000	-1022.92	-956.58
17.5%	22.5%	523.750*	10.438	.000	490.58	556.92
	21.25%	518.500*	10.438	.000	485.33	551.67
	20%	509.000*	10.438	.000	475.83	542.17
	18.75%	479.000*	10.438	.000	445.83	512.17
	OI	-510.750*	10.438	.000	-543.92	-477.58
OI	22.5%	1034.500*	10.438	.000	1001.33	1067.67
	21.25%	1029.250*	10.438	.000	996.08	1062.42
	20%	1019.750*	10.438	.000	986.58	1052.92
	18.75%	989.750*	10.438	.000	956.58	1022.92
	17.5%	510.750*	10.438	.000	477.58	543.92

*. The mean difference is significant at the .05 level.

4. Uji Korelasi Pearson

Correlations

		DK	Jumlah
DK	Pearson Correlation	1	-.934**
	Sig. (2-tailed)	.	.000
	N	24	24
Jumlah	Pearson Correlation	-.934**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	.
	N	24	24

**. Correlation is significant at the 0.01 level

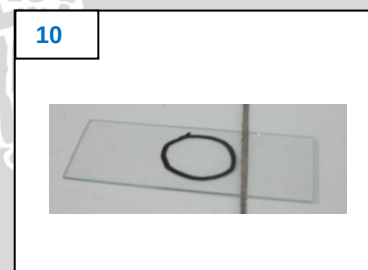
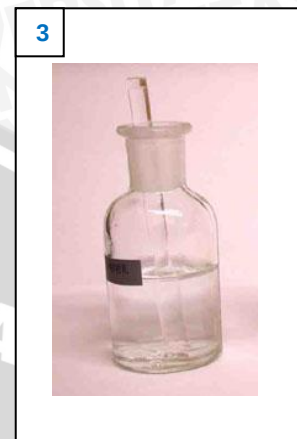
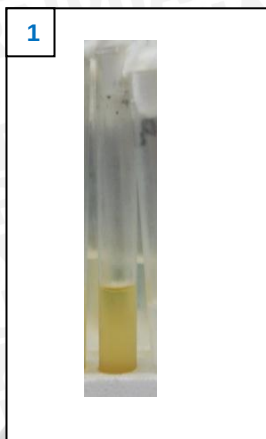
5. Uji Regresi

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.934 ^a	.873	.867	144.823

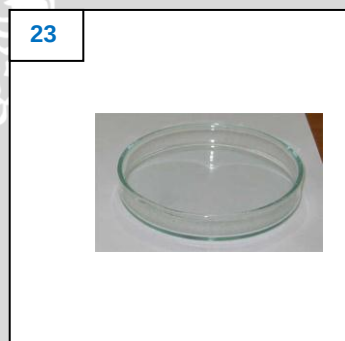
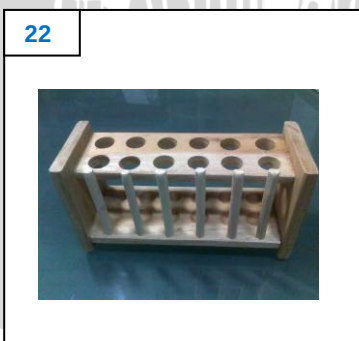
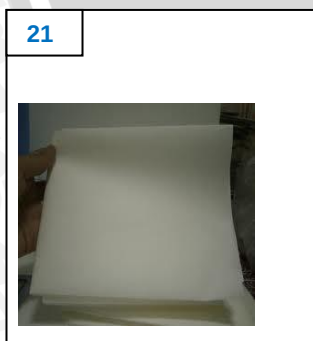
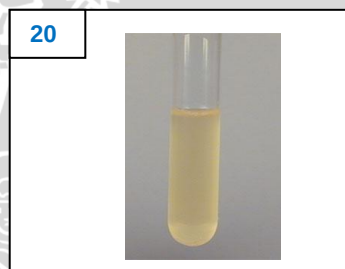
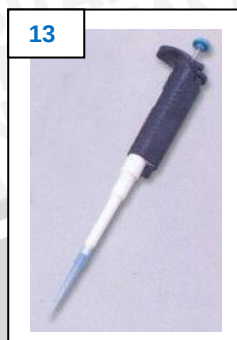
a. Predictors: (Constant), DK

Lampiran 2. Foto Bahan dan Alat Penelitian



Keterangan:

- 1 = Isolat *Lactobacillus acidophilus*
- 2 = Pewarna Gram (kristal violet, lugol, alkohol 96%, safranin)
- 3 = Minyak emersi
- 4 = Ose
- 5 = Kertas penghisap
- 6 = Mikroskop
- 7 = Tabung reaksi
- 8 = Bunsen brander
- 9 = Object glass
- 10 = Object glass



Keterangan:

11 = H₂O₂ 3%

12 = Pipet

13 = Mikropipet

14 = Tip Mikropipet

15 = Inkubator

16 = Rimpang Kencur (*Kaempferia galanga* L.)

17 = Timbangan

18 = Hasil Ekstrak metanol Rimpang Kencur

19 = BHIA

20 = BHIB

21 = Kertas saring

22 = Rak Tabung Reaksi

23 = Petridisk



Keterangan:
 28 = Laminary cabinet
 29 = Vortex

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



Lampiran 3. Determinasi Rimpang Kencur (*Kaempferia galanga* L.)

DINAS KESEHATAN PROPINSI JAWA TIMUR
UPT MATERIA MEDICA
Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396 Batu (65313)
KOTA BATU

Nomor : 074 / 224 / 101.8 / 2014
Sifat : Biasa
Perihal : Determinasi Tanaman KENCUR

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : AFIFAH RATIH ROSAVINA
NIM : 115070401111007
Fakultas : Jurusan Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

1. Perihal determinasi tanaman kencur

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas : Liliopsida (berkeping satu / monokotil)
Sub Kelas : Commelinidae
Ordo : Zingiberales
Famili : Zingiberaceae (suku jahe-jahean)
Genus : *Kaempferia*
Spesies : *Kaempferia galanga* L.
Sinonim :
Nama daerah : Kencur (Indonesia, Jawa), Cikur (Sunda), Ceuko (Aceh), Kencor (Madura), Cekuh (Bali), Kencur, Sukung (Minahasa), Asauli, sauleh, soul, umpa (Ambon), Cekir (Sumba)

Kunci determinasi : 1b-2b -3b - 4b - 6b - 7b -9b -10b - 11b- 12b -13b -14a- 15a-109a- 110b-111b-112a -113b-116a -119b-120b-128b-129a-130b-132a

2. Morfologi : Habitus Semak, tahunan, tinggi + 20 cm. Batang Semu, pendek, membentuk rimpang, coklat keputih-putihan. Daun Tunggal, bentuk lonjong, panjang 7-15 cm, lebar 2-8 cm, ujung runcing, pangkal berlekuk, tepi rata, hijau Bunga Tungga), bentuk terompet, panjang 2,5-5 cm. benang sari panjang ± 4 mm, kuning, putik putih, putik keunguan. Akar Serabut, coklat kekuningan

3. Nama Simplisia : *Kaempferiae Rhizoma* / Rimpang Kencur.

4. Kandungan kimia : Rimpang Kencur mengandung pati (4,14 %), mineral (13,73 %), dan minyak atsiri (0,02 %) berupa sineol, asam metil kanil dan penta dekan, asam cinnamic, ethyl aster, asam sinamic, borneol, kamphene, paraeumarin, asam anisic, dan alkaloid.

5. Penggunaan : Penelitian

6. Daftar Pustaka :
- Anonim, <http://www.tanaman.obat.com/> / Kencur, Diakses tanggal 9 Januari 2009
- Anonim, <http://www.warintek.ristek.go.id/> / Kencur, Diakses tanggal 3 Nopember 2010
- Anonim, <http://www.plantamor.com/> / Kencur, Diakses tanggal 11 Desember 2010
- Tjitrosoepomo, Gembong, 2005, Taksonomi Tumbuhan Obat- Obatn, Gajah mada university Press, Yogyakarta
- Steenis, CGGJ Van Dr, *FLORA*, 2008, Pradnya Paramita, Jakarta.
- Syamsuhidayat, Sri sugati, Hutapea, Johny Ria. 1991, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia I*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia : Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan.

Demikian determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 23 Juni 2014
Kepala UPT Materia Medica Batu


Drs. Husin RM, Apt. MKes.
NIP. 1961111021991031003