



**EFEKTIVITAS EKSTRAK KULIT PISANG KEPOK
KUNING (*Musa paradisiaca L. var bluggoe*) SEBAGAI
ANTIBAKTERI *Porphyromonas gingivalis***

SKRIPSI

**UNTUK MEMENUHI PERSYARATAN
MEMPEROLEH GELAR SARJANA KEDOKTERAN GIGI**

Oleh:

ARUM ANUGRAH DESTYAWATI

155070400111024

**PROGRAM STUDI SARJANA KEDOKTERAN GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN	xv

Bab

I.	PENDAHULUAN	1
1.1	Latar Belakang	1
1.2	Rumusan Masalah.....	3
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 akademik.....	4
1.4.2	Manfaat Praktis	5
II.	TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	7
2.1.1	Taksonomi.....	7
2.1.2	Morfologi	8
2.1.3	Metabolisme.....	8
2.1.4	Mekanisme Perlekatan Pada Inang	9
2.1.5	Uji Identifikasi	11
2.1.6	Media Pertumbuhan Bakteri	14
2.2	Penyakit Periodontal	15
2.2.1	Gingivitis.....	15
2.2.2	Periodontitis	16
2.3	Klorheksidine.....	21

2.4	Pisang Kepok Kuning	24
2.4.1	Deskripsi	24
2.4.2	Taksonomi	24
2.4.3	Morfologi	25
2.4.4	Komponen Antibakteri Kulit Pisang.....	28
2.5	Penentuan Aktivitas Antibakteri.....	30
2.5.1	Metode Difusi	30
2.5.2	Metode Dilusi.....	31
2.6	Metode Ekstraksi	33
2.6.1	Maserasi	33
2.6.2	Perkolasi.....	33
2.6.3	Sokletasi.....	34
2.6.4	Reflux dan Destilasi Uap	34
III.	KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS	35
3.1	Kerangka Konsep Penelitian.....	35
3.2	Hipotesis Penelitian	36
IV.	METODE PENELITIAN	37
4.1	Rancangan dan Desain Penelitian.....	37
4.2	Populasi dan sampel penelitian	37
4.2.1	Populasi Penelitian	37
4.2.2	Sampel Penelitian	37
4.3	Variabel Penelitian.....	39
4.3.1	Variabel Bebas.....	39
4.3.2	Variabel Terikat	39
4.4	Lokasi dan Waktu Penelitian	39
4.4.1	Lokasi Penelitian.....	39
4.4.2	Waktu Penelitian	39
4.5	Bahan dan alat /Instrumen Penelitian	39
4.5.1	Alat dan Bahan Untuk Ekstraksi Kulit Pisang Kepok	39
4.5.2	Alat dan Bahan Untuk Identifikasi Bakteri dengan Pewarnaan Gram	39
4.5.3	Alat dan Bahan Untuk Tes Oksidase	40
4.5.4	Alat dan Bahan Untuk Tes Katalase	40
4.5.5	Alat dan Bahan Untuk Uji Biokimia Indole	40
4.5.6	Alat Untuk Uji Daya Antimikroba Ekstrak	40

	Kulit Pisang Kepok	40
4.6	Definisi Operasional	41
4.7	Prosedur Penelitian/Pengumpulan Data.....	42
	4.7.1 Persiapan Ekstrak Kulit Pisang Kepok	42
	4.7.2 Tes Identifikasi Bakteri.....	44
	4.7.3 Persiapan Suspensi Uji <i>Porphyromonas</i> <i>gingivalis</i>	46
	4.7.4 Uji Daya Antibakteri Ekstrak Metanol Kulit Pisang Kepok terhadap <i>Porphyromonas gingivalis</i>	47
4.8	Alur penelitian	49
4.9	Analisis Data.....	50
V.	HASIL DAN ANALISIS DATA	51
	5.1 Hasil Identifikasi Bakteri <i>Porphyromonas</i> <i>gingivalis</i>	51
	5.1.1 Hasil pewarnaan gram	51
	5.1.2 Hasil Tes Katalase	52
	5.1.3 Hasil Tes Oksidase.....	52
	5.1.4 Hasil Identifikasi Biokimia Indole dan Uji Motilitas	53
5.2	Hasil Ekstraksi Kulit Pisang kepek Kuning	53
5.3	Uji Pendahuluan Dengan Metode Difusi Tabung .	54
5.4	Hasil Uji Aktivitas Bakteri dengan penentuan Nilai KHM	55
5.5	Hasil Uji Aktivitas Bakteri dengan penentuan Nilai KBM	57
5.6	Analisis Data.....	60
	5.6.1 Analisis Data Kadar Hambat minimum dengan Melihat Kekeruhan Tabung	60
	5.6.2 Analisis Data Kadar Bunuh minimum dengan Melihat Pertumbuhan Koloni	64
VI.	PEMBAHASAN.....	69
VII.	PENUTUP	77
	7.1 Kesimpulan	77
	7.2 Saran	77
	DAFTAR PUSTAKA	79
	LAMPIRAN.....	87

DAFTAR GAMBAR

No	Judul Gambar	Halaman
2.1	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	8
2.2	<i>Catalase test</i>	12
2.3	<i>Oxidase test</i>	14
2.4	Gambaran Klinis Periodontitis Kronis	18
2.5	Tanaman Pisang.....	26
2.6	Pisang Kepok Kuning.....	27
3.1	Kerangka Konsep Penelitian	35
4.1	Alur Penelitian.....	48
5.1	Gambaran Isolat Bakteri pada Pewarnaan Gram.....	51
5.2	Hasil Tes Katalase	52
5.3	Hasil Tes Oksidase	53
5.4	Hasil Tes Indole.....	52
5.5	Hasil Dilusi Tabung Uji Pendahuluan	54
5.6	Hasil Uji Pendahuluan	55
5.7	Hubungan Peningkatan Konsentrasi Ekstrak Kulit Pisang Kepok Kuning dengan Tingkat Kekeruhan	56
5.8	Hasil Uji Perapatan	57
5.9	Hasil Uji Pengulangan.....	58
5.10	Grafik Rerata Jumlah Koloni Bakteri.....	59

DAFTAR TABEL

No	Judul Tabel	Halaman
2.1	Taksonomi <i>Porphyromonas gingivalis</i>	7
2.2	Taksonomi Pisang Kepok (<i>Musa paradisiaca</i> l.var <i>Bluggoe</i>)... ..	25
2.3	Hasil Uji Fitokimia Kulit Pisang Kepok	28
4.1	Pembagian Kelompok Perlakuan	38
4.2	Definisi Operasional	42
5.1	Skor Kekeruhan Ekstrak	56
5.2	Perhitungan Koloni Bakteri yang tumbuh pada BHI-A	58
5.3	Hasil Uji Normalitas dan Kruskal wallis Kekeruhan Tabung	61
5.4	Hasil Uji Mann Whitney	62
5.5	Hasil Uji Mann Spearman	63
5.6	Hasil Uji Normalitas dan Kruskal wallis Kekeruhan Tabung	64
5.7	Hasil Uji Mann Whitney	65
5.8	Hasil Uji Mann Spearman	66

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Alat dan Bahan Penelitian	87
Lampiran 2 Determinasi Tanaman Pisang Kepok	89
Lampiran 3 Keterangan Ekstraksi	90
Lampiran 4 Hasil Analisis Data	91

DAFTAR SINGKATAN DAN ISTILAH

KHM	: Kadar Hambat Minimum
KBM	: Kadar Bunuh Minimum
MIC	: <i>Minimum inhibitory concentration</i>
MBC	: <i>Minimum bactericidal concentration</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
PMN	: <i>Polymorphonuclear neutrophilic</i>
TNF α	: <i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i>
pH	: <i>Potensial Hydrogen</i>
SRP	: <i>Scaling and Root Planning</i>
GCF	: <i>Gingival Crevicular Fluid</i>

repository.ub.ac.id

EFEKTIVITAS EKSTRAK KULIT PISANG KEPOK KUNING (*Musa paradisiaca L. Var bluggoe*) SEBAGAI ANTIBAKTERI *Porphyromonas gingivalis*

ABSTRAK

Penyakit periodontal dialami hampir 90% masyarakat di Indonesia. Periodontitis kronis adalah penyakit periodontal yang paling sering terjadi dengan mikroorganisme yang paling banyak adalah *Porphyromonas gingivalis*. Kulit pisang kepok kuning (*Musa Paradisiaca L. Var. Bluggoe*) memiliki kandungan flavonoid, tannin dan terpenoid yang mampu menghambat dan membunuh pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. **Tujuan:** untuk membuktikan bahwa ekstrak kulit pisang kepok kuning (*Musa paradisiaca L. var. bluggoe*) efektif sebagai antibakteri *Porphyromonas gingivalis*. **Metode:** Penelitian ini adalah *true eksperimental* dengan pendekatan *post test only control group*. Sampel dibagi menjadi 2 kelompok kontrol dan 6 kelompok perlakuan (5%, 7.5%, 10%, 12.5%, 15%, 17.5%). **Hasil:** Kadar hambat Minimum (KHM) didapatkan hasil pada konsentrasi 10%. Kadar Bunuh minimum (KBM) ditentukan dengan menghitung jumlah koloni dan didapatkan pada konsentrasi 17,5%. Hasil uji statistika kekeruhan tabung menunjukkan terdapat perbedaan yang berarti pada setiap konsentrasi ekstrak (Kruskal wallis, $p= 0,011$), dan terdapat hubungan antara variabel konsentrasi dengan kekeruhan tabung (Spearman, *correlation coeficient* = 0,790). Hasil uji statistika pertumbuhan koloni menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna pada setiap konsentrasi ekstrak (Kruskal wallis, $p=0,005$), dan terdapat hubungan antara variabel konsentrasi dengan pertumbuhan koloni bakteri (Spearman, *correlation coeficient* = -0,977). **Kesimpulan:** Ekstrak kulit pisang kepok kuning (*Musa paradisiaca L. var. bluggoe*) efektif sebagai antibakteri *Porphyromonas gingivalis*.

Kata Kunci : Kadar bunuh minimum, kadar hambat minimum, kulit pisang kepok kuning, *Porphyromonas gingivalis*.

The Effect of Extract Skin Kepok Kuning Banana (Musa Paradisiaca L. Var. Bluggoe) As Antibacterial of Porphyromonas gingivalis

ABSTRACT

The prevalence of Periodontal disease reach almost 90% in Indonesian community. Chronic periodontitis is the most common periodontal disease with the dominant microorganism is *Porphyromonas gingivalis*. The skin Kepok Kuning Banana contain flavonoid, tannin, and terpenoid which can inhibit and stop the growth of *Porphyromonas gingivalis*. **Objectives:** to know the Effect of Extract Skin Kepok Kuning Banana (*Musa Paradisiaca L. Var. Bluggoe*) As Antibacterial of *Porphyromonas gingivalis*. **Method:** This study is true experimental with the post test only control group. The samples were divided into 2 groups, control, and 6 groups treatment (5%, 7.5%, 10%, 12.5%, 15%, 17.5%). **Result:** Minimum inhibitory concentration (MIC) at concentration of 10%. Minimum bactericidal concentration (MBC) was determined by counting using colony counter and the result of MBC is 17,5%. The statistical test result of tube turbidity showed a significant difference in each extract concentration (Kruskal wallis, $p= 0,011$), and there was a relationship between concentration variables with tube turbidity (Spearman, correlation coefficient = 0,790). The statistical test result of tube of Colony growth showed a significant difference in each extract concentration (Kruskal wallis, $p= 0,005$), and there was a relationship between concentration variables with the Colony growth (Spearman, correlation coefficient = -0,977). **Conclusion:** the extract Skin Kepok Kuning Banana (*Musa Paradisiaca L. Var. Bluggoe*) has effect As Antibacterial of *Porphyromonas gingivalis*.

Keyword : Minimum inhibitory concentration, minimum bactericidal concentration, skin lepok kuning banana, *Porphyromonas gingivalis*

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit periodontal menempati peringkat kedua masalah kesehatan gigi dan mulut yang banyak di derita masyarakat di dunia setelah karies gigi. Berdasarkan Data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2013 prevalensi penyakit periodontal di Indonesia adalah 25,9% (Afrianti dkk., 2018) Terdapat beberapa jenis penyakit periodontal, salah satu jenis penyakit periodontal adalah periodontitis.

Periodontitis adalah penyakit inflamasi dari jaringan penyangga gigi yang disebabkan oleh mikroorganisme spesifik yang menyebabkan kerusakan progresif pada ligamen periodontal dan tulang alveolar ditandai dengan bertambahnya kedalaman probing dan terjadi resesi gingiva. Periodontitis dibagi menjadi tiga yaitu periodontitis kronis, periodontitis agresif, serta periodontitis sebagai manifestasi penyakit sistemik. Periodontitis kronis adalah periodontitis yang paling sering terjadi. Mikroorganisme yang banyak dijumpai pada periodontitis kronis adalah *Porphyromonas gingivalis* (Newman *et al.*, 2015).

Menurut Aliabsyah (2016) klorhexidine merupakan obat kumur yang direkomendasikan dan menjadi *gold standart* pada perawatan periodontal. Namun, masyarakat kini lebih menyukai obat herbal dalam mengobati penyakit. Menurut

WHO negara-negara di Afrika, Asia, dan Amerika Latin menggunakan obat herbal sebagai pengobatan, dan di Indonesia prevalensi penggunaan obat herbal pada tahun 2012 mencapai 41,7% (Ismail, 2015).

Indonesia merupakan negara yang memiliki banyak jenis buah-buahan, salah satunya adalah pisang. Menurut Badan Pusat Statistik (2017) pisang merupakan buah utama yang dikonsumsi penduduk Indonesia, dapat dilihat dari rata-rata konsumsinya dalam seminggu pisang memiliki nilai paling besar dibandingkan komoditi lainnya yaitu sebesar 0,113 kg perorang. Pada tahun 2003 Indonesia termasuk dalam 6 enam negara penghasil pisang di dunia dengan hasil produksi 4.311.959 ton. Dengan kontribusi terbesar adalah Kabupaten Malang dengan hasil produksi sebesar 710.040 ton (Kementerian Pertanian, 2014). Pisang dapat dikonsumsi langsung atau juga dapat diolah menjadi berbagai macam kudapan, seperti kolak, pisang goreng dan kudapan yang lainnya. Pemanfaatan pisang seringkali menyisakan limbah kulit pisang yang belum dimanfaatkan secara optimal (Saraswati, 2015). Salah satu jenis pisang yang sudah dikenal masyarakat Indonesia adalah pisang kepok kuning (*Musa paradisiaca L. var. bluggoe*).

Menurut Saraswati (2015) kulit pisang memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan daging buahnya. Senyawa antioksidan yang terdapat pada kulit pisang yaitu katekin, gallokatekin, dan epikatekin yang

merupakan golongan senyawa flavonoid. Kulit pisang kepok kuning kuning (*Musa paradisiaca L. var. blugoe*) positif terkandung flavonoid, tannin dan terpenoid. Flavonoid merupakan senyawa antibakteri yang mempunyai kemampuan mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel (Heni dkk., 2015). Sedangkan terpenoid bekerja dengan cara berinteraksi dan merusak porin yang mengakibatkan masuknya senyawa yang akan mengurangi permeabilitas bakteri sehingga bakteri kekurangan nutrisi dan mati (Heni dkk., 2015). Sampai saat ini belum ada penelitian lebih lanjut terkait ekstrak kulit pisang kepok kuning (*Musa paradisiaca L. var. Blugoe*) terhadap *Porphyromonas gingivalis*. Sehingga peneliti tertarik melakukan penelitian terkait ekstrak kulit pisang kepok kuning (*Musa paradisiaca L. var. Blugoe* yang diharapkan dapat digunakan sebagai salah satu alternatif antibakteri pada *Porphyromonas gingivalis*.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak kulit pisang kepok kuning (*Musa paradisiaca L. var. blugoe*) efektif sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Membuktikan bahwa ekstrak kulit pisang kepok kuning (*Musa paradisiaca L. var. bluggoe*) efektif sebagai antibakteri *Porphyromonas gingivalis*

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Menentukan Kadar Hambat Minimum (KHM) ekstrak kulit pisang kepok kuning (*Musa paradisiaca L. var. bluggoe*) terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis*
2. Menentukan Kadar Bunuh Minimum (KBM) ekstrak kulit pisang kepok kuning (*Musa paradisiaca L. var. bluggoe*) terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis*
3. Menentukan hubungan konsentrasi ekstrak ekstrak kulit pisang kepok kuning (*Musa paradisiaca L. var. bluggoe*) dengan kekeruhan tabung dan pertumbuhan koloni bakteri *Porphyromonas gingivalis*

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai dasar penelitian lebih lanjut dalam pengembangan antibakteri *Porphyromonas gingivalis* dari ekstrak kulit pisang kepok kuning (*Musa paradisiaca L. var. bluggoe*).

1.4.2 Manfaat Praktis

1. Menambah pengetahuan masyarakat mengenai manfaat pisang kepok kuning (*Musa paradisiaca L. var. bluggoe*).
2. Menjadi pertimbangan bagi perusahaan obat maupun tenaga kesehatan untuk menciptakan suatu obat alternatif dengan memanfaatkan kulit pisang sebagai antibakteri *Porphyromonas gingivalis*



BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1 *Porphyromonas gingivalis*

2.1.1 Taksonomi

Porphyromonas gingivalis adalah bakteri nonsakarolitik, melanogenik, dan bagian dari koloni bakteri *Black-pigmented Gram-negative anaerobes*. Bakteri *Porphyromonas gingivalis* banyak ditemukan pada plak gigi dan mampu menyebabkan perubahan patologik jaringan periodontal dengan pengaktifan respon imun, *inflammatory host*, dan secara langsung mempengaruhi sel-sel periodonsium (Kusumawardhani dkk., 2010)

Taksonomi *Porphyromonas gingivalis* menurut Kusumawardhani (2010) tampak pada tabel 2.1

Tabel 2.1 Taksonomi *Porphyromonas gingivalis*
(Kusumawardhani dkk., 2010)

Kingdom	<i>Bacteria</i>
Phylum	<i>Bacteroidates</i>
Class	<i>Bacteroidates</i>
Ordo	<i>Bacteroidales</i>
Family	<i>Porphiromonadaceae</i>
Genus	<i>Porphyromonas</i>
Spesies	<i>Porphyromonas gingivalis</i>

2.1.2 Morfologi

Porphyromonas gingivalis tumbuh dalam media kultur membentuk koloni berdiameter 1-2 mm, konveks, halus dan mengkilat, yang bagian tengahnya menunjukkan gambaran lebih gelap karena produksi protoheme, yaitu suatu substansi yang menyebabkan warna khas koloni ini (Kusumawardhani dkk., 2010)



Gambar 2.1 *Black pigmented colony Porphyromonas gingivalis*
(How *et al.*, 2016)

2.1.3 Metabolisme

Dalam metabolismenya *Porphyromonas gingivalis* termasuk dalam bakteri nonsakarolitik, melanogenik, *black-pigmented gram negative anaerob*. Bakteri *Porphyromonas gingivalis* banyak ditemukan pada plak gigi dan menyebabkan perubahan patologik jaringan periodontal dengan mengaktifasi respon imun dan inflamatori, sehingga secara langsung

mempengaruhi sel-sel periodonsium. *Porphyromonas gingivalis* memproduksi berbagai faktor virulensi yang bersifat patogenik yaitu lipopolisakarida dan hidrogen sulfida yang mampu menginduksi hospes untuk melepaskan IL-1 dan TNF- α (Kusumawardani dkk., 2010)

2.1.4 Mekanisme Perlekatan Pada Inang

Untuk melekat pada inang, *Porphyromonas gingivalis* membutuhkan bakteri pendahulu yang terdapat pada plak seperti *Streptococcus*, hal ini bertujuan untuk mendapatkan kondisi lingkungan yang adekuat dan memfasilitasi kolonisasi *Porphyromonas gingivalis* melalui penyediaan area perlekatan antar spesies dan substrat untuk pertumbuhan, serta penurunan tekanan oksigen hingga level yang rendah yang dibutuhkan untuk pertumbuhan dan pertahanannya sebagai bakteri anaerob obligat (Pratiwi, 2012)

Menurut Pratiwi (2012) perlekatan *Porphyromonas gingivalis* dibantu faktor virulensi yang berhubungan dengan destruksi jaringan dan mekanisme pertahanan terhadap inang, meliputi:

1. *Fimbrae*

Fimbrae berperan sebagai perantara utama dalam perlekatan bakteri ke substrat yang tersedia, selain itu juga *fimbrae* memiliki sifat kemotaktik dan induksi sitokin yang juga terlibat dalam patogenesis. *Fimbrae* pada permukaan bakteri sering disebut sebagai hidrofobin yang bertanggung jawab terhadap interaksi antara bakteri dengan sel hospes

2. Protease

Protease terutama arginin spesifik yang disebut sebagai *gingipain* mampu mendegradasi molekul inang seperti imunoglobulin, komplemen, protein sekunder hemin, kolagenase, hemolisin, dan protein jaringan ikat inang, serta memiliki peran dalam jalur tidak langsung untuk menghancurkan dan mendegradasi inhibitor yang dihasilkan sel inang untuk mengatur protease sel inang yang terlibat dalam inflamasi. *Gingipain* dapat mengubah kondisi lingkungan mulut dengan meningkatkan pH sehingga menjadi lingkungan yang ideal untuk pertumbuhan bakteri gram negatif, sehingga terjadi ketidakseimbangan flora normal rongga mulut.

3. Hemaglutinin

Hemaglutinin berperan dalam menginisiasi kolonisasi dengan cara memperantarai pengikatan bakteri dengan reseptor (biasanya oligosakarida) pada sel hospes. *Porphyromonas gingivalis* membutuhkan hemin untuk pertumbuhan maka ikatannya dengan eritrosit sel tubuh manusia juga memberikan fungsi nutrisi. Hemaglutinin dan fimbriae mempunyai arti sebagai adhesin untuk perlekatan bakteri gram negatif pada sel hospes

4. Kapsular polisakarida

Kapsular polisakarida memiliki peran menghambat fagositosis oleh sel imun inang serta berperan penting dalam perlekatan sel bakteri

Untuk memudahkan bakteri penetrasi ke jaringan dan mengganggu aktivitas sel tubuh, maka bakteri menghasilkan produk akhir metabolik meliputi butirrat dan propionat yang memiliki berat molekul rendah (Pratiwi, 2012).

Mekanisme perlawanan bakteri terhadap sel inang yaitu dihasilkannya asam suksinat yang akan menghambat kemotaksis netrofil, dengan cara menurunkan pH intrasel pada netrofil serta menghambat pergerakan respon PMN terhadap peptide kemotaktik dengan cara mendepolarisasi membran PMN (Pratiwi, 2012)

2.1.5 Uji Identifikasi *Porphyromonas gingivalis*

1. Uji Biokimia menggunakan Indole dan Uji Motilitas

Uji biokimia adalah suatu cara atau perlakuan yang dilakukan untuk mengidentifikasi dan mendeterminasi suatu biakan murni bakteri hasil isolasi menurut fisiologisnya (Tille, 2015). Karakterisasi biokimia isolat dapat diidentifikasi menggunakan *Microbact Identification System*. Terdapat serangkaian uji yang terdapat dalam uji biokimia. Salah satunya yaitu uji indol, lactose, dan sorbitol. *Porphyromonas gingivalis* akan menunjukkan hasil positif pada uji indole dan negatif pada uji motilitas (Al-Khafagee dkk., 2013).

2. Tes Katalase

Katalase adalah sebuah enzim yang diproduksi oleh mikroorganisme yang hidup dalam lingkungan kaya oksigen untuk menetralkan toksik serta efek bakteriosidal dari aktivitas

metabolisme H_2O_2 . Enzim Katalase mampu memecah H_2O_2 menjadi oksigen dan air. Untuk mengetahui kemampuan enzim katalase dari bakteri, isolat bakteri dicampur larutan H_2O_2 3%, kemudian diamati. Bakteri yang positif menghasilkan gelembung menandakan kemampuan bakteri menghasilkan enzim katalase semakin tinggi, yaitu bakteri aerob dan anaerob fakultatif (Acharya, 2013). *Porphyromonas gingivalis* termasuk dalam anaerob obligat, sehingga hasil dari Tes Katalase *Porphyromonas gingivalis* adalah negatif



Gambar 2.2 *Catalase test* (Acharya, 2013)

3. Uji morfologi koloni dan Mikroskopik

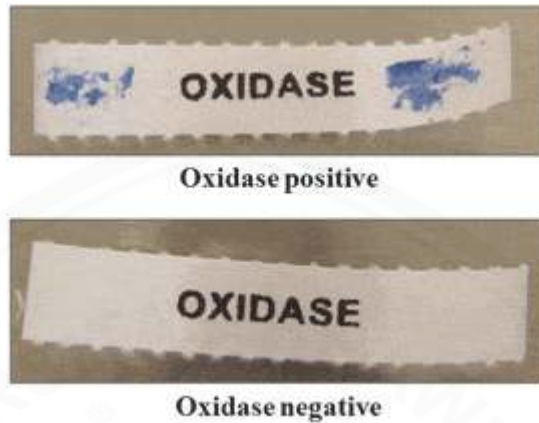
Hasil uji morfologi koloni dan mikroskopik *Porphyromonas gingivalis* yaitu merupakan *coco-bacilli* gram negatif, berpigmen hitam kecoklatan, dan tumbuh dalam media kultur *blood* agar membentuk koloni korveks, halus mengkilat, serta berdiameter 1-2 mm. Koloni berwarna hitam kecoklatan (Kusumawardani dkk., 2010).

4. Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram memiliki tujuan untuk menentukan suatu bakteri termasuk dalam bakteri gram negatif atau gram positif. Bakteri digolongkan menjadi dua yakni yang dapat menyerap warna violet atau biru tua diidentifikasi sebagai bakteri gram positif, dan bakteri yang menyerap warna merah diidentifikasi sebagai gram negatif (Kismiyati dkk., 2009). Hasil dari pewarnaan gram menunjukkan bahwa *Porphyromonas gingivalis* berbentuk batang dan berwarna merah muda. Sehingga *Porphyromonas gingivalis* teridentifikasi sebagai bakteri gram negatif (Fitriyana., dkk 2013).

5. Uji oksidase

Uji oksidase memiliki tujuan untuk mengetahui ada tidaknya enzim *cytochrome c oxidase* pada bakteri dengan menggunakan *strip oxidase* yang dapat dilihat dari perubahan warna yang terjadi pada strip oksidase (Kismiyati dkk., 2009). Hasil uji oksidase bernilai positif apabila ditandai dengan perubahan warna *strip oksidase* menjadi warna biru, bernilai negatif apabila tidak berwarna (Anggraini dkk., 2016). Bakteri yang menunjukkan hasil positif pada tes oksidase adalah bakteri aerob, dan anaerob fakultatif (Acharya, 2012). *Porphyromonas gingivalis* termasuk dalam anaerob obligat, sehingga hasil dari tes oksidase *Porphyromonas gingivalis* adalah negatif



Gambar 2.3 *Oxidase test* (Acharya, 2012)

2.1.6 Media Pertumbuhan Bakteri

Menurut Hasanah (2002) pertumbuhan mikroorganisme membutuhkan media. Bahan pertumbuhan mikroorganisme terdiri atas campuran nutrisi, yang nantinya nutrisi ini akan dimanfaatkan mikroorganisme untuk menyusun komponen selnya. Media pertumbuhan juga dapat dimanfaatkan untuk mengisolasi mikroorganisme, identifikasi serta pembuatan kultur murni. Berdasar bentuk. Beberapa medium yang biasa digunakan untuk menumbuhkan mikroba adalah

1. *Brain Heart Infussion* (BHI)

Brain Heart Infussion (BHI) adalah media pertumbuhan mikroba dalam bentuk cair maupun agar. Bahan utama terdiri dari beberapa jaringan hewan, pepton, buffer pospat, dan dekstroza.

2. Nutrient agar

Nutrient agar adalah media untuk pertumbuhan mikroorganisme yang tidak selektif, dalam hal ini yaitu mikroorganisme heterotrof. Media ini dibuat dari pepton, ekstrak daging, serta agar. Nutrient agar adalah media yang umum dalam mikrobiologi, dan dapat digunakan juga untuk mengisolasi organisme dalam kultur murni.

3. Mac Conkey agar

Mac conkey agar adalah media selektif yang paling sering digunakan. Media ini terbuat dari zat kristal violet untuk hambat pertumbuhan bakteri gram positif, dan jamur serta memungkinkan beberapa amcam bakteri gram negatif tumbuh.

2.2 Penyakit periodontal

Penyakit periodontal adalah penyakit yang terjadi pada jaringan periodontal. Jaringan periodontal merupakan jaringan penyangga gigi yang terdiri dari gingiva, ligamen periodontal, sementum, dan tulang alveolar (Newman *et al.*, 2015). Secara klinis penyakit periodontal ditandai timbulnya inflamasi pada gingiva seperti adanya pembengkakan gingiva, tepi gingiva yang kemerahan, dan pendarahan pada probing di daerah poket atau sulkus gingiva (Lastianny, 2012)

2.2.1 Gingivitis

Gingivitis merupakan peradangan gingiva tanpa terjadi kehilangan perlekatan dan kerusakan tulang alveolar. Gingivitis ditandai dengan kemerahan pada gingiva, pembesaran gingiva,

pendarahan gingiva, perubahan kontur gingiva serta peningkatan *gingival crevicular fluid* (GCF). Gingivitis adalah penyakit yang bersifat reversibel, sehingga jika gingivitis tidak dirawat, maka dalam beberapa tahun gingivitis akan berkembang menjadi periodontitis (Sunarto, 2014).

2.2.2 Periodontitis

Periodontitis adalah suatu penyakit inflamasi pada jaringan penyangga gigi disebabkan oleh suatu mikroorganisme spesifik yang menyebabkan kerusakan progresif pada ligamen periodontal, tulang alveolar, disertai dengan peningkatan kedalaman probing, dan resesi gingiva. Gambaran klinis yang membedakan periodontitis dan gingivitis adalah kehilangan perlekatan (*attachment lost*) (Newman *et al.*, 2015).

1. Periodontitis Kronis

1) Definisi

Periodontitis kronis adalah penyakit peradangan kronis pada jaringan periodontal disebabkan bakteri spesifik yang mampu menimbulkan respon inflamasi gingiva dan berlanjut pada struktur penyangga gigi (Suwandi, 2010). Periodontitis kronis merupakan periodontitis yang paling sering ditemui. Prevalensi paling banyak pada orang dewasa, tetapi tidak jarang juga ditemui pada anak-anak. Rata-rata usia penderita periodontitis kronis adalah 35 tahun. Karakteristik dari periodontitis kronis adalah progresifitasnya lambat hingga sedang, kalkulus biasa ditemukan pada pasien penderita periodontitis kronis.

Poket pada periodontitis kronis adalah poket infraboni dan supraboni. Poket infraboni adalah poket dengan dasar poket terletak pada apikal tulang alveolar. Sedangkan pada poket supraboni dasar poket terletak pada bagian koronal dari puncak tulang alveolar. Periodontitis kronis disebut *localized* apabila area gigi yang terkena $\leq 30\%$, dan disebut *generalized* apabila melibatkan lebih dari 30% area gigi. (Newman *et al.*, 2015)

2) Etiologi

Penyebab periodontitis kronis terdiri dari dua bagian yaitu faktor lokal dan sistemik. Faktor lokal berpengaruh pada keberadaan plak yang berperan sebagai pencetus terjadinya penyakit. Plak gigi merupakan lapisan masa lunak yang menempel pada permukaan gigi. Akumulasi plak dipengaruhi oleh faktor *oral hygiene* dan anatomi gigi. Proses pembentukan plak terbagi menjadi tiga tahap. Tahap pertama diawali dengan pembentukan pelikel yang merupakan masa tipis protein saliva yang menempel pada permukaan gigi sesaat setelah permukaan gigi dibersihkan. Pelikel berfungsi sebagai lapisan pelindung yang membasahi permukaan jaringan dan mencegah dari kerusakan jaringan, namun pelikel ini juga menjadi media tempat melekatnya bakteri pada permukaan gigi (Sunarto, 2014)

Tahapan selanjutnya adalah kolonisasi awal bakteri. Beberapa jam setelah pembersihan gigi, bakteri sudah

melekat pada permukaan pelikel melalui molekul spesifik yang terdapat pada permukaan bakteri yang disebut sebagai adhesin. Kolonisasi bakteri pada awalnya didominasi oleh bakteri gram positif fakultatif. Bakteri melekat pada pelikel dan bakteri lainnya menggunakan struktur seperti rambut yang disebut dengan fimbriae. Tahapan selanjutnya setelah kolonisasi awal adalah terjadi kolonisasi sekunder dan maturasi plak. Pada proses ini bakteri tidak melekat secara langsung pada permukaan gigi, bakteri melekat pada sel bakteri lain yang sebelumnya telah melekat pada plak. Proses pelekatan ini disebut sebagai koagregasi. Bakteri yang termasuk dalam perlekatan sekunder ini adalah *Porphyromonas gingivalis* (Sunarto, 2014)



Gambar 2.4 Gambaran klinis periodontitis kronis

(Newman *et al.*, 2015)

Berdasarkan penelitian Mahalaksmi (2012) pada populasi 128 orang penderita periodontitis kronis diketahui bahwa bakteri yang paling dominan pada periodontitis kronis adalah *Porphyromonas gingivalis* dengan prevalensi sebesar 80,5% (Alibsyah dkk., 2016)

3) Patogenesis

Bakteri dapat menyebabkan dekstruksi jaringan tulang secara tidak langsung. Secara normal, pada tulang terjadi proses remodelling. Pada saat terjadi peradangan pada periodontal, faktor lokal seperti IL-1, PGE2, dan TNF α yang dikeluarkan oleh sel-sel inflamasi, akan menghambat osteoblas dan menstimulasi osteoklas. Pada periodontitis sel sel infiltrat dan degradasi kolagen bekerja ke arah apikal di dekat permukaan akar mengarah ke sementum. Perlahan-lahan osteoblas di puncak alveolar akan menghilang, kemudian sebagian besar osteoklas akan meresopsi puncak tulang. Sehingga *principal fibers* dari periodonsium akan menghilang (Sunarto, 2014)

Pada saat inflamasi terus berkembang pada jaringan periodontal, osteoklas mulai meresopsi tulang alveolar. Proses resopsi ini adalah mekanisme perlindungan untuk mencegah invasi bakteri ke tulang, meskipun pada akhirnya dapat menyebabkan kegoyangan gigi, atau bahkan menyebabkan kehilangan gigi. Proses resorpsi tulang alveolar terjadi secara bersamaan dengan kerusakan ligamen periodontal dari jaringan yang mengalami

inflamasi. Terdapat dua faktor yang mempengaruhi hilangnya tulang alveolar yaitu : (1) konsentrasi mediator inflamasi pada gingiva harus cukup untuk mengaktivasi jalur resorpsi; (2) mediator inflamasi harus mampu menembus menuju tulang alveolar (Newman *et al.*, 2015)

Beberapa pola kerusakan tulang diantaranya pola kerusakan tulang secara horizontal, defek vertikal atau angular, dan defek tulang pada septum interdental yang terdiri dari crater dan infrabony. Pada pola kerusakan tulang horizontal terjadi penurunan tinggi tulang alveolar sehingga margin tulang akan membentuk horizontal. Pola kerusakan tulang defek vertikal atau angular terjadi dalam arah oblique. Sedangkan pola kerusakan tulang crater adalah kerusakan tulang yang membentuk cekungan pada tulang interdental yang dibatasi oleh dinding fasial dan lingual (Newman *et al.*, 2015).

4) Perawatan

Tujuan utama perawatan periodontitis adalah menghilangkan patogen periodontal. Penghilangan patogen periodontal ini dapat melalui beberapa cara, yang pertama dengan cara kimiawi yaitu dengan pemberian obat-obatan, dan cara kedua secara mekanik dengan *scaling and root planing* (SRP). *Scaling and root planing* (SRP) adalah salah satu perawatan di bidang periodontal yang bertujuan menghilangkan deposit keras dan lunak serta bakteri yang menempel pada permukaan gigi dan di dalam subgingiva

sehingga mampu mengeliminasi bakteri (Andriani, 2012). Selain SRP, klorheksidine merupakan perawatan *gold standart* dalam perawatan periodontal (Aliabsyah dkk., 2016).

2. Periodontitis agresif

Periodontitis agresif berbeda dari periodontitis kronis berdasarkan progresifitasnya, tidak adanya akumulasi plak dan kalkulus, dan adanya riwayat keluarga yang juga mengalami periodontitis agresif (Newman *et al.*, 2015)

3. Periodontitis Sebagai Manifestasi Penyakit Sistemik

Periodontitis sebagai manifestasi penyakit sistemik berhubungan dengan beberapa penyakit kelainan darah seperti *acquired neutropenia*, leukimia, serta kelainan genetik seperti *down syndrome*, *cohen syndrome*, dan lain sebagainya (Newman *et al.*, 2015).

2.3 Klorheksidine

Klorhexidine glukonat adalah obat antimikroba spektrum luas yang efektif terhadap berbagai kategori mikroba meliputi bakteri, dan virus (Lakhani *et al.*, 2016). Klorheksidine adalah obat kumur yang direkomendasikan dan menjadi *gold standart* pada perawatan periodontal (Aliabsyah dkk., 2016). *American Dental Assosiation* telah menyatakan bahwa klorheksidine merupakan agen antimikroba dan anti gingivitis (Lakhani *et al.*, 2016).

1. Karakteristik

Klorheksidine adalah agen antimikroba basa kuat pada tingkat pH di atas 3,5 dengan muatan positif, sehingga mampu mencegah pembentukan plak. Klorheksidine dapat bersifat bakteristatik atau bakteriosida tergantung pada dosis yang digunakan (Lakhan *et al.*, 2016)

2. Mekanisme kerja

Mekanisme kerja klorheksidine efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif dan positif. Molekul klorheksidine memiliki muatan positif (kation) sedangkan sebagian besar muatan molekul bakteri adalah negatif (anion), sehingga terjadi perlekatan yang erat antara klorheksidine dan bakteri. Klorheksidine akan menyebabkan perubahan permeabilitas bakteri sehingga menyebabkan keluarnya sitoplasma sel dan komponen sel yang lain yang menyebabkan kematian bakteri (Sinaredi dkk., 2014).

3. Sediaan

1) Obat kumur

Obat kumur klorheksidin tersedia dalam konsentrasi 0.1% dan 0.2%. Terdapat perbedaan hasil dari klorheksidin konsentrasi 0.1% dan 0.2 %, pada klorhexidin 0.2% memiliki efek yang lebih baik dibandingkan konsentrasi 0.1% dalam hal pengurangan pendarahan pada gingiva, namun klorheksidin dengan konsentrasi 0.2% memiliki kekurangan yaitu memiliki efek pewarnaan gigi lebih tinggi dibandingkan konsentrasi 0.1% (Najafi *et al.*, 2012).

2) Gel

Gel klorheksidine tersedia dalam konsentrasi 1%, 0,2%, dan 0,12%. Penggunaan gel klorheksidine sehari sekali memiliki efek terapeutik seperti mengurangi bau mulut (Lakhan *et al.*, 2016)

3) Spray

Spray klorheksidine tersedia konsentrasi 0,1% dan 0,2%. Keefektivitasan kedua konsentrasi ini dalam penghambatan pembentukan plak hampir sama dengan obat kumur klorheksidine konsentrasi 0,2%. Penggunaan spray klorheksidine biasanya diperuntukkan bagi pasien yang memiliki cacat fisik dan mental (Lakhan *et al.*, 2016).

4) Varnish

Varnish klorheksidine biasanya digunakan untuk profilaksis terhadap pasien karies akar (Lakhan *et al.*, 2016).

5) Chip

Chip klorheksidine adalah chip gelatin kecil yang nantinya akan dimasukkan pada poket periodontal yang memiliki kedalaman >5 mm karies akar (Lakhan *et al.*, 2016).

4. Efek samping

- Perubahan warna pada gigi
- Perubahan warna bahan restoratif menjadi kuning
- Perubahan warna lidah menjadi kuning

Sampai saat ini tidak ada laporan kasus toksisitas sistemik yang disebabkan oleh aplikasi topikan atau tertelannya klorheksidine. (Lakhan *et al.*, 2016).

2.4 PISANG KEPOK KUNING

2.4.1 Deskripsi

Pisang (*Musa parasidiaca*) adalah salah satu komoditas buah unggulan di Indonesia. Hal ini mengacu pada besarnya luas panen dan produksi pisang yang selalu menempati posisi pertama. Selain besarnya luas panen dan produksi pisang, Indonesia juga merupakan salah satu sentra primer keragaman pisang. Lebih dari 200 jenis pisang terdapat di Indonesia, yang memberikan peluang untuk pemanfaatan dan komersialisasi pisang sesuai kebutuhan konsumen (Departemen Pertanian, 2005).

Secara umum pisang dibagi menjadi 3 bagian yaitu pisang serat (*Noe.Musa textiles*), pisang hias (*Heliconia indica Lamk*), dan pisang buah (*Musa paradisiaca L.*) (Suyanti dan Supriyadi, 2008). Di Filipina pisang kepok disebut sebagai pisang saba, sedangkan di Malaysia disebut sebagai pisang nipah, karena bentuk buahnya yang agak pipih, kadang pisang kepok juga disebut sebagai pisang gepeng (Suyanti dan Supriyadi, 2008).

2.4.2 Taksonomi

Menurut Suyanti dan Supriyadi (2008), tanaman pisang kepok kuning diklasifikasikan sebagai berikut.

Tabel 2.2 Taksonomi Pisang Kepok kuning (*Musa paradisiaca* L. Var *Bluggoe*)

Divisio	<i>Magnoliophyta</i>
Classis	<i>Liliopsida</i>
Ordo	<i>Zingiberales</i>
Familia	<i>Musaceae</i>
Genus	<i>Musa</i>
Species	<i>Musa paradisiaca</i> L. var. <i>Bluggoe</i>

2.4.3 Morfologi

Pisang memiliki beberapa bagian, diantaranya daun, batang pisang dan akar. Pohon pisang berakar rimpang, akar ini tumbuh ke bawah tanah hingga mencapai kedalaman 75-150 cm. Sedangkan akar yang berada di samping umbi batang tumbuh ke arah samping dan mendatar. Pada perkembangannya akar samping mampu tumbuh hingga mencapai 4- 5 meter (Suyanti dan Supriadi, 2008)

Batang pisang sendiri sebenarnya terletak pada dasar tanah yakni berupa umbi batang. Pada bagian atas umbi batang terdapat titik tumbuh yang menghasilkan daun yang pada saatnya nanti akan tumbuh bunga pisang atau jantung pisang. Batang semu adalah bagian yang tumbuh tegak di atas tanah dan seringkali dianggap sebagai batang pisang. Batang semu pisang ini terdiri dari pelepah daun panjang yang saling menutupi dengan kuat dan kompak sehingga dapat berdiri tegak seperti batang tanaman.

Batang semu tanaman pisang ini dapat tumbuh mencapai 3,5-7.5 meter tergantung dari jenis pisang (Suyanti dan Supriadi, 2008).



Gambar 2.5 Tanaman Pisang (Dinas Ketahanan Pangan, Pertanian, dan Perikanan Kota Sukabumi, 2016)

Daun pisang berbentuk lanset memanjang yang letaknya tersebar dengan bagian bawah daun tampak berlilin. Daun ini diperkuat oleh tangkai daun yang panjangnya antara 30-40 cm. Daun pisang tidak memiliki tulang pada tepi tepinya. Hal ini menyebabkan daun pisang mudah robek ketika terkena hembusan angin yang kencang (Suyanti dan Supriadi, 2008).

Bunga pisang disebut juga jantung pisang karena bentuknya yang menyerupai jantung. Bunga pisang tergolong berkelamin satu, yakni berumah satu dalam satu tandan. Daun penumpu bunga biasanya berjejal rapat dan tersusun secara spiral. Daun pelindung yang berwarna merah tua, berlilin, mudah rontok dan memiliki ukuran panjang 10-25 cm. Bunga tersebut

tersusun dalam dua baris melintang, yaitu bunga betina letaknya di bawah bunga jantan. Benang sari yang berjumlah 5 pada bunga betina memiliki bentuk yang tidak sempurna. Pada bunga betina terdapat bakal buah yang berbentuk persegi, sedangkan pada bunga jantan tidak terdapat bakal buah (Suyanti dan Supriadi, 2008).



Gambar 2.6 Pisang Kepok kuning (Suyanti dan Supriadi, 2008)

Biasanya, setelah bunga tumbuh, maka akan terbentuk suatu kesatuan bakal buah yang disebut sebagai sisir. Sisir pertama yang terbentuk akan terus terus memanjang membentuk sisir kedua, ketiga dan seterusnya. Pada pisang kepok kuning, bentuk buahnya agak pipih, sehingga kadang disebut juga sebagai pisang gepeng. Apabila sudah matang, warna kulit buah pisang kepok kuning akan berwarna kuning penuh. Berat tiap tandan pisang kepok kuning mencapai 14-22 kg dengan jumlah sisir 10-16 yang masing masing sisir terdiri dari 12 -20 buah (Suyanti dan Supriadi, 2008).

2.4.4 Komponen antibakteri kulit pisang

Menurut Supriyanti pada tahun 2015, untuk mengetahui kandungan antimikroba pada kulit pisang maka dilakukan dengan uji fitokimia. Uji fitokimia merupakan uji kualitatif yang didasarkan pada perubahan warna atau terbentuknya suatu endapan. Pada uji fitokimia sampel diberikan tanda positif (+) jika sampel teridentifikasi mengandung jenis golongan senyawa metabolit yang diuji. Sebaliknya sampel diberi tanda negatif (-) jika sampel tidak mengandung golongan stabilis yang diuji

Tabel 2.3 Hasil Pengujian Fitokimia Kulit Pisang Kepok kuning (Supriyanti dkk., 2015)

Jenis uji	Hasil
Alkaloid	(-)
Flavonoid	(+)
Antosianin	(-)
Steroid	(-)
Tanin	(+)
Saponin	(-)
Terpenoid	(+)

1. Flavonoid

Flavonoid adalah senyawa antibakteri yang mempunyai kemampuan mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel. Mekanisme penghambatannya dengan cara

merusak dinding sel yang terdiri atas lipid dan asam amino yang akan beraksi dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid mampu membentuk senyawa kompleks dengan protein melalui ikatan hidrogen sehingga struktur tersier protein terganggu dan protein tidak dapat berfungsi lagi sehingga terjadi kerusakan atau denaturasi protein dan asam nukleat. Denaturasi tersebut menyebabkan koagulasi protein serta mengganggu metabolisme dan fisiologis bakteri (Heni dkk., 2015)

2. Tannin

Sebagai antibakteri, Tannin memiliki kemampuan menginaktifkan adhesin mikroba, enzim, dan juga mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel. Secara umum kandungan tannin pada kulit pisang lebih banyak pada kulit buah pisang yang belum matang daripada kulit buah pisang yang telah matang. Hal ini dikarena pada kulit buah pisang yang telah matang terjadi peningkatan etanol 70 kali lipat sehingga mampu menurunkan kadar tannin (Dinastutie dkk., 2015)

3. Terpenoid

Menurut Cowan, mekanisme kerja senyawa terpenoid sebagai zat antibakteri yaitu melibatkan kerusakan membran oleh senyawa lipofilik. Terpenoid mampu bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, yang kemudian membentuk ikatan polimer yang kuat dan merusak porin, sehingga mengurangi permeabilitas

dinding sel dalam bakteri, kemudian sel bakteri kekurangan nutrisi, dan pada akhirnya menyebabkan pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Heni dkk, 2015)

2.5 Penentuan Aktivitas Antibakteri

Uji kepekaan antibakteri dapat dilakukan dengan metode penyebaran (*diffusion method*) dan metode pengenceran (*dilution method*)

2.5.1 Metode Difusi

Metode difusi merupakan salah satu metode yang paling sering digunakan. Menurut Kusmiyati dan Agustini (2007) difusi dapat dilakukan dengan tiga cara yaitu metode silinder, metode lubang atau sumuran, dan metode cakram.

1. Metode Difusi Silinder

Metode silinder dilakukan dengan meletakkan beberapa silinder yang terbuat dari gelas atau besi yang tahan karat di atas media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri. Tiap silinder ditempatkan sedemikian rupa hingga berdiri di atas media agar, kemudian diisi dengan larutan yang telah diuji dan diinkubasi. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat adanya atau tidaknya daerah hambatan di sekeliling silinder.

2. Metode Difusi Sumuran

Metode difusi sumuran dibuat dengan membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi bakteri. Jumlah dan letak lubang dapat disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian

lubang diisi dengan larutan yang akan diuji. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling lubang.

3. Metode Difusi Cakram Kertas

Metode cakram kertas dilakukan dengan cara meletakkan cakram kertas yang telah direndam dalam larutan uji di atas media padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Setelah diinkubasi pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya hambatan disekeliling cakram.

2.5.2 Metode Dilusi

Menurut Soleha (2015) metode dilusi cair terdiri dari dua teknik pengerjaan yaitu teknik dilusi cair dan teknik dilusi agar. Kedua teknik ini bertujuan untuk menentukan aktivitas mikroba secara kuantitatif dan nantinya akan didapatkan nilai konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang disebut MIC (*Minimal inhibitory concentration*).

1. Metode Dilusi Tabung

Metode dilusi cair terdiri dari makrodilusi dan mikrodilusi. Pada prinsipnya sama hanya berbeda pada volume yaitu apabila volume yang digunakan lebih dari 1 ml maka termasuk makrodilusi, dan apabila volume yang digunakan 0,05 ml sampai 0,1 ml termasuk dalam mikrodilusi (Soleha, 2015)

Dilusi tabung dikerjakan dengan menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan sejumlah tertentu sel mikroba yang diuji. Kemudian masing – masing tabung

diisi dengan antimikroba 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 antimikroba pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih, yang kemudian di simpulkan sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM) dari antimikroba. Biakan dari seluruh tabung yang jernih di inokulasikan dengan media agar padat lalu diinkubasikan dan keesokan harinya diamati ada tidaknya koloni bakteri yang tumbuh. Kadar Bunuh Minimal (KBM) dilihat dari ada tidaknya pertumbuhan koloni bakteri pada biakan padat dengan konsentrasi terendah bahan uji (Hertanti dkk., 2015).

2. Metode Dilusi Agar

Metode dilusi agar pada prinsipnya sama dengan dilusi tabung. Hal yang membedakan adalah dilusi agar menggunakan medium padat. Antimikroba dicampurkan dalam cawan petri yang berisi agar yang masih cair, kemudian agar dibiarkan mengeras dan disimpan dalam kulkas dengan suhu 5° Celcius sampai siap dipakai. Inokulum bakteri diteteskan pada agar pada hari dilaksanakannya perlakuan sekitar 0,001 ml dengan menggunakan pipet. Inkubasi cawan petri pada suhu 35° selama 16-18 jam kemudian dapat dilihat hasilnya terdapat pertumbuhan bakteri atau tidak (Hertanti dkk., 2015).

2.5 Metode Ekstraksi

2.5.1 Maserasi

Maserasi merupakan metode ekstraksi yang sering digunakan. Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Kerugian utama dari metode maserasi adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar serta memungkinkan beberapa senyawa hilang. Pada sisi lain metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa yang memiliki sifat termolabil (Mukhariani, 2014).

2.5.2 Perkolasi

Pada metode perkolasi serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam perkolator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya). Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah. Kelebihan dari metode perkolasi adalah sampel senantiasa dialiri pelarut baru. Tetapi metode perkolator memiliki kerugian yaitu jika sampel perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Selain itu metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan memakan banyak waktu (Mukhariani, 2014).

2.5.3 Sokletasi

Metode sokletasi dilakukan dengan cara menempatkan serbuk dalam sarung selulosa (dapat digunakan kertas saring) dalam klonsong yang ditempatkan labu dan dibawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam labu dan suhu pemanas diatur di bawah suhu reflux. Keuntungan metode sokletasi adalah proses ekstraksi yang kontinu, sampel terekstrasi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehigga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Metode sokletasi memiliki kerugian yaitu senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus menerus berada pada titik didih (Mukhariyani, 2014).

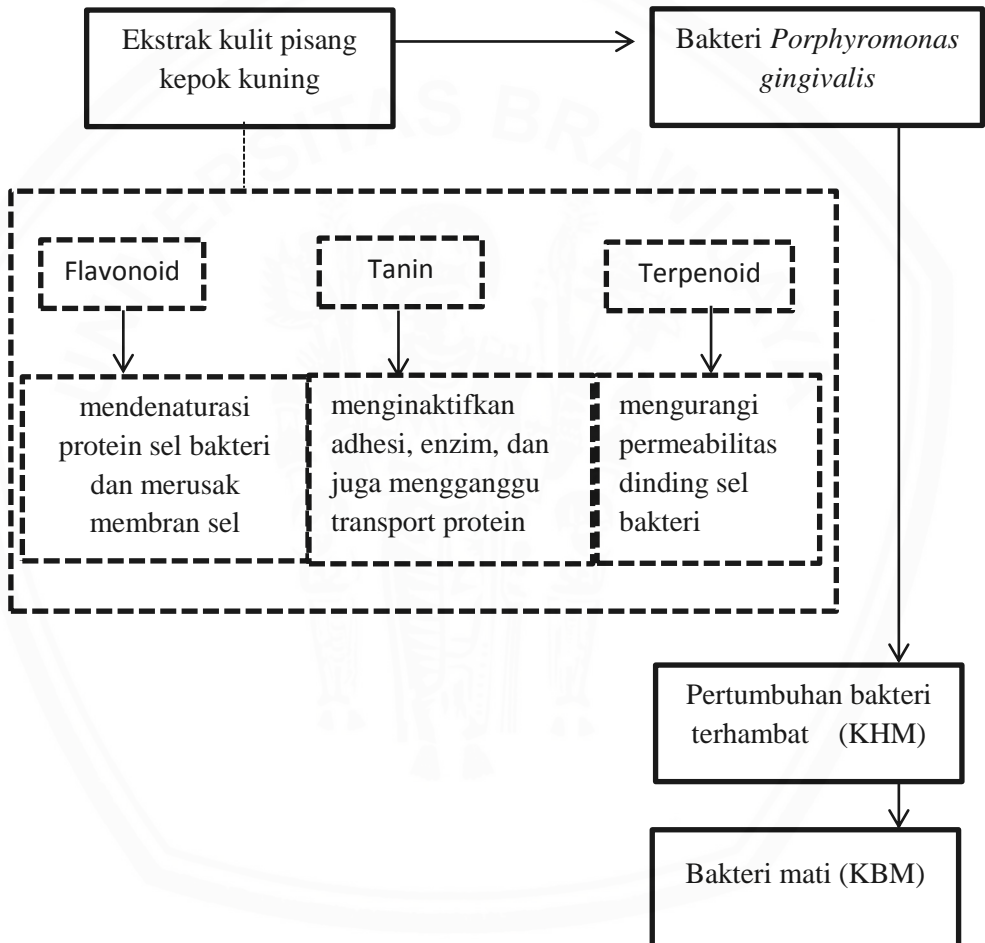
2.5.4 Reflux dan Destilasi Uap

Pada metode reflux, sampel dimasukkan bersama pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap terkondensasi dan kembali ke dalam labu. Destilasi uap memiliki proses yang sama dan biasanya digunakan untuk mengekstraksi minyak esensial (campuran berbagai senyawa menguap). Selama pemanasan, uap terkondensi dan destilat (terpisah sebagai dua bagian yang tidak saling bercampur) ditampung dalam wadah yang terhubung dengan kondensor. Kerugian dari metode ini adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terintegrasi (Seidel V, Mukhariyani, 2014).

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 KERANGKA KONSEP



3.1 Kerangka KONSEP Peneliti (Heni dkk., 2015; Dinastutie dkk., 2015)

Porphyromonas gingivalis adalah mikroorganisme penyebab penyakit periodontal yang banyak ditemukan dalam plak gigi yang mampu menyebabkan perubahan patologik jaringan periodontal..

Ekstrak kulit pisang kepok kuning (*Musa paradisiaca L. var. Bluggoe*) mengandung senyawa flavonoid, tannin, dan terpenoid. Senyawa flavonoid berfungsi sebagai antibakteri yang mampu mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel.

Senyawa tannin mampu meninaktifkan adhesin mikroba, enzim dan ganggu transport protein. Sedangkan senyawa terpenoid sebagai zat antibakteri memiliki mekanisme kerja dengan merusak membran dan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri sehingga bakteri kekurangan nutrisi dan pada akhirnya akan mati.

Ekstrak kulit pisang kepok kuning (*Musa paradisiaca L. var. Bluggoe*) yang diberikan kepada koloni bakteri *Porphyromonas gingivalis* akan menghambat pertumbuhan dan menyebabkan kematian dari *Porphyromonas gingivalis*

3.2 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah ekstrak kulit pisang kepok kuning (*Musa paradisiaca L. var. Bluggoe*) efektif sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Desain penelitian yang dilakukan adalah *true eksperimental* dengan pendekatan *post test only control group*. Pada desain ini responden dipilih secara acak dan diberi perlakuan serta terdapat kelompok pengontrol (Noor, 2011).

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian adalah sediaan bakteri *Porphyromonas gingivalis* yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

4.2.2 Sampel Penelitian

Untuk menghitung jumlah pengulangan menggunakan rumus Federer yaitu

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

Keterangan :

n = banyak pengulangan

t = jumlah perlakuan 17,5%, 15%, 12,5%, 10%, 7,5%, dan 5% konsentrasi ekstrak kulit pisang kepok, kontrol negatif, serta kontrol positif

Karena jumlah perlakuan (t) adalah 7 maka :

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

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

$$7n - 7 \geq 15$$

$$7n \geq 21$$

$$n \geq 3 = 3 \text{ kali pengulangan}$$

Jadi pada penelitian ini dibutuhkan 3 kali jumlah pengulangan

Tabel 4.1 Pembagian Kelompok Perlakuan

Nama Kelompok	Perlakuan yang diberikan
Kontrol negatif	<i>Porphyromonas gingivalis</i> + akuades steril
Kontrol positif	<i>Porphyromonas gingivalis</i> + klorheksidine <i>gluconate</i> 0,2%
Kelompok A	<i>Porphyromonas gingivalis</i> + ekstrak kulit pisang kepok dengan konsentrasi 17,5%
Kelompok B	<i>Porphyromonas gingivalis</i> + ekstrak kulit pisang kepok dengan konsentrasi 15%
Kelompok C	<i>Porphyromonas gingivalis</i> + ekstrak kulit pisang kepok dengan konsentrasi 12,5%
Kelompok D	<i>Porphyromonas gingivalis</i> + ekstrak kulit pisang kepok dengan konsentrasi 10%
Kelompok E	<i>Porphyromonas gingivalis</i> + ekstrak kulit pisang kepok dengan konsentrasi 7,5 %
Kelompok F	<i>Porphyromonas gingivalis</i> + ekstrak kulit pisang kepok dengan konsentrasi 5 %

4.3 Variabel penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak kulit pisang kepok dengan konsentrasi 17,5%, 15%, 12.5%, 10%, 7,5%, dan 5%

4.3.2 Variabel Terikat

Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* setelah pemberian ekstrak kulit pisang kepok kuning

4.4 Lokasi dan waktu penelitian

4.4.1 Lokasi penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, dan Materia Medica Batu

4.4.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Agustus – September 2018

4.5 Bahan dan Alat / Instrumen Penelitian

4.5.1 Alat dan bahan untuk Ekstraksi Kulit Pisang Kepok

Alat yang digunakan untuk ekstraksi kulit pisang kepok adalah labu *Erlenmeyer*, timbangan, kertas saring, rotary evaporator, corong pemisah. Bahan yang digunakan adalah kulit pisang kepok muda (mentah), pelarut metanol

4.5.2 Alat Dan Bahan Untuk Identifikasi Bakteri Dengan Pewarnaan Gram

Alat untuk identifikasi bakteri antara lain ose, mikroskop dengan pembesaran 1000x, bunsen, kertas penghisap, gelas objek. Bahan-

bahan yang digunakan untuk identifikasi pewarnaan gram adalah isolat *Porphyromonas gingivalis*, kristal violet, lugol, alkohol 70%, safranin.

4.5.3 Alat Dan Bahan Untuk Tes Oksidase

Alat yang digunakan untuk tes oksidase adalah ose dan *Oxidase test strip*. Bahan yang digunakan untuk tes oksidase adalah isolat *Porphyromonas gingivalis*

4.5.4 Alat Dan Bahan Untuk Tes Katalase

Alat yang digunakan untuk tes katalase adalah *object glass*, dan pipet. Bahan yang digunakan untuk tes katalase adalah isolat bakteri *Porphyromonas gingivalis*, larutan H₂O₂ 3%

4.5.5 Alat dan bahan Uji Biokimia Menggunakan Indole

Alat yang digunakan antara lain Nutrient Agar, mikropipet, dan *holding tray*, ose. Bahan yang digunakan adalah isolat bakteri *Porphyromonas gingivalis*, reagen Kovac

4.5.6 Alat untuk Uji Daya Antimikroba Ekstrak Kulit Pisang Kepok terhadap *Porphyromonas gingivalis*

Alat yang digunakan untuk uji daya antimikroba ekstrak kulit pisang kepok terhadap *Porphyromonas gingivalis* adalah Ose, tabung steril, rak tabung, *anaerobic jar*, inkubator. Bahan yang digunakan adalah ekstrak kulit pisang dengan konsentrasi 17,5%, 15%, 12,5%, 10%, 7,5%, dan 5% aquadest, suspensi *Porphyromonas gingivalis*, BHI-A.

4.6 Definisi istilah/Operasional

Tabel 4.2 Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi operasional	Hasil ukur	Skala
1	Ekstrak kulit pisang kepok kuning	Kulit pisang kepok yang dikeringkan lalu diekstrak dengan metode maserasi dengan pelarut metanol sehingga didapatkan ekstrak dengan konsentrasi 100%. Setelah itu dilakukan pengenceran dengan aquadest untuk mendapatkan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25 %	mL	Ratio
2	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i> dikultur dalam medium BHI-B lalu dilakukan uji identifikasi. Kemudian ditentukan KHM dengan kekeruhan	KHM : • Jernih = 0 • Mulai jernih=1 • Keruh=2 KBM: :	Ratio

		tabung dan KBM dengan menghitung menggunakan <i>colony counter</i>	Jumlah koloni ≤ 0.1 OI	
--	--	--	-----------------------------	--

4.7 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian terdiri atas pembuatan ekstrak kulit pisang kepok dengan metode maserasi, prosedur identifikasi bakteri *Porphyromonas gingivalis* yaitu pewarnaan gram, tes oksidase, tes katalase, dan uji biokimia menggunakan *MicrobactTM Kit*, kemudian dilanjutkan pembuatan suspensi bakteri *Porphyromonas gingivalis*, dan uji daya antimikroba ekstrak kulit pisang kepok terhadap *Porphyromonas gingivalis*.

4.7.1 Persiapan ekstrak kulit pisang kepok

Pembuatan ekstrak kulit pisang kepok diawali dengan menimbang serbuk kulit pisang kepok sebanyak 500 gr, lalu melakukan pembasahan dengan pelarut metanol 600 mL. Setelah itu dimasukkan bahan yang telah dibasahi dengan pelarut ke dalam toples, diratakan dan ditambahkan pelarut metanol sampai bahan terendam, total yang digunakan sebanyak 750 mL. Tutup toples dengan rapat selama 24 jam dan dishaker digital 50 rpm. Saring ekstrak dengan penyaring kain. Tampung dengan erlenmeyer. Lalu melakukan remaserasi pada ampas dengan cara memasukkan kembali dalam toples dan ditambahkan pelarut sampai terendam (minimal 5 cm diatas permukaan serbuk).

Kemudian biarkan semalam atau 24 jam dan di shaker. Remaserasi menggunakan pelarut metanol 96% sebanyak 750 mL. Hasil ekstrak cair pertama sampai dengan terakhir, dijadikan satu dan diuapkan dengan *rotary evaporator*. Diperlukan waktu 1,5 jam untuk evaporasi. Ekstrak cair yang dihasilkan dievaporasi/diuapkan diatas *water bath* selama 1 jam. Dari hasil serbuk kulit pisang kepok 500 gram dan diekstraksi menggunakan pelarut metanol sebanyak 2,1 liter dihasilkan ekstrak cair sebanyak 30 mL

Cara perhitungan dan pembuatan konsentrasi ekstrak yaitu (Yacob dan Endriani, 2010) :

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

Keterangan :

M_1 = konsentrasi ekstrak 1

M_2 = konsentrasi ekstrak 2

V_1 = Volume ekstrak 1

V_2 = Volume ekstrak 2

- Ekstrak kulit pisang kepok dengan konsentrasi 17,5% :
0,875 mL ekstrak kulit pisang kepok 20% + 0,125 mL *aquadest*
- Ekstrak kulit pisang kepok dengan konsentrasi 15% :
0,75 mL ekstrak kulit pisang kepok 20% + 0,25 mL *aquadest*

- Ekstrak kulit pisang kepok dengan konsentrasi 12,5% :
0,625 mL ekstrak kulit pisang kepok 20% + 0,375 mL *aquadest*
- Ekstrak kulit pisang kepok dengan konsentrasi 10% :
0,5 mL ekstrak kulit pisang kepok 20% + 0,5 mL *aquadest*
- Ekstrak kulit pisang kepok dengan konsentrasi 7,5% :
0,375 mL ekstrak kulit pisang kepok 20% + 0,625 mL *aquadest*
- Ekstrak kulit pisang kepok dengan konsentrasi 5% :
0,25 mL ekstrak kulit pisang kepok 20% + 0,75 mL *aquadest*

4.7.2 Tes identifikasi bakteri

Tes yang digunakan untuk mengidentifikasi bakteri *Porphyromonas gingivalis* antara lain tes pewarnaan gram untuk menentukan bakteri gram positif atau negatif, tes oksidase, tes katalase, dan tes biokimiawi

1. 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 aquadest pada gelas objek dan diratakan. Untuk sediaan cair tidak perlu disuspensikan dengan aquadest

- 3) Sediaan dikeringkan di udara kemudian di fiksasi dengan cara melewatkan 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 satu menit. Sisa lugol dibuang dan dibilas dengan air
- 6) Sediaan ditetesi dengan alkohol 70% selama 5-10 detik atau sampai warna cat luntur. Sisa alkohol dibuang dan dibilas dengan air
- 7) Sediaan ditetesi safranin selama 0,5 menit. Sisa safranin dibuang dan dibilas dengan air
- 8) Sediaan dikeringkan dengan kertas penghisap
- 9) Sediaan dilihat di bawah mikroskop dengan lensa objektif pembesaran 1000x
- 10) Hasil positif : *Porphyromonas gingivalis* tercat merah (gram negatif)

2. Tes katalase

- 1) Gunakan *loop* atau stick kayu steril untuk memindahkan sejumlah kecil pertumbuhan koloni di permukaan *glass slide* yang bersih
- 2) Letakkan setetes H₂O₂ 3% di *slide* dan campurkan
- 3) Tunggu 5-10 detik, dan amati apakah terbentuk gelembung
- 4) Hasil positif: *Porphyromonas gingivalis* tidak terbentuk gelembung udara

3. Tes oksidase

- 1) Siapkan *oxidase test strip*
- 2) Ambil 1 ose bakteri *Porphyromonas gingivalis*
- 3) Goreskan 1 ose *Porphyromonas gingivalis* pada *oxidase test strip*
- 4) tunggu 10 detik, amati perubahan warna
- 5) hasil positif : *Porphyromonas gingivalis* tidak ada perubahan warna (tidak menghasilkan enzim sitokrom oksidase)

4. Uji Biokimia Menggunakan Uji Indole

- 1) Menyiapkan Kultur murni *Porphyromonas gingivalis* 18-24 jam untuk diidentifikasi
- 2) Inokulasi *Porphyromonas gingivalis* pada *nutrient agar* menggunakan ose
- 3) Inkubasi pada suhu 37⁰ C selama 24 jam
- 4) Setelah diinkubasi, tambahkan 0,2 ml reagen *Kovac*.
- 5) Hasil positif : *Porphyromonas gingivalis* tumbuh lurus tidak bercabang, dan terbentuknya cincin merah pada lapisan atas media

4.7.3 Persiapan suspensi Uji *Porphyromonas gingivalis*

1. Persiapan bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Bakteri di inkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰ C. Inkubasi dilakukan pada *anaerobic jar*
2. Beberapa koloni bakteri diambil dengan menggunakan ose lalu diambil dan dimasukkan ke dalam NaCl lalu diinkubasi selama 2-4 jam pada suhu 37⁰C pada *anaerobic jar*

3. Larutan diencerkan dengan memasukkan ke dalam BHI-B (*Brain Heart Infusion*) hingga diperoleh jumlah yang sesuai dengan jumlah larutan Brown III dengan konsentrasi 10^8 CFU/ml. Larutan diencerkan lagi hingga mencapai 10^6 CFU/ml

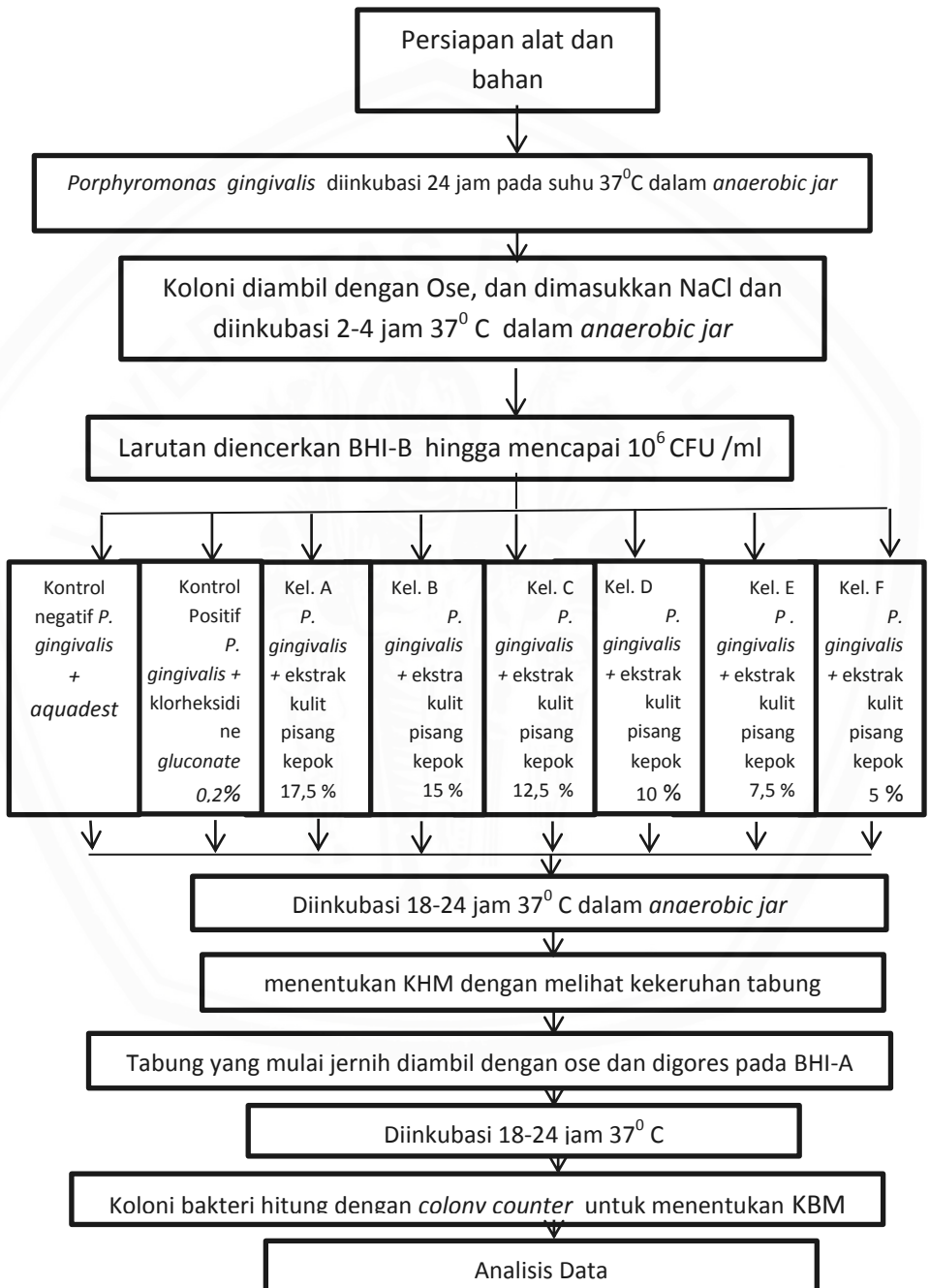
4.7.4 Uji daya antibakteri ekstrak metanol kulit pisang kepok terhadap *Porphyromonas gingivalis*

1. Disediakan 8 tabung steril, masing masing tabung diisi dengan aquadest, klorheksidine *gluconate* 0,2%, ekstrak kulit pisang kepok masing masing 17,5%, 15%, 12,5%, 10%, 7,5%, 5% dan dicampur aquadest hingga mencapai volume total 2 mL
2. Masukkan suspensi bakteri yang telah diencerkan hingga mencapai 10^6 CFU/ml ke dalam tabung
3. Semua tabung diinkubasi dalam *anaerobic jar* selama 18-24 jam pada suhu 37^0 C.
4. Setelah itu kekeruhan tabung diukur dengan menggunakan kertas putih bergaris-garis hitam dengan ketebalan berbeda untuk menentukan KHM. Yang dilihat adalah tabung mulai jernih dengan cara membandingkan tabung yang diberikan perlakuan dengan kontrol. Tiap tabung diberikan skor berdasarkan kejernihannya.
5. Setelah nilai KHM ditentukan, tabung yang jernih diambil dengan ose dan digoreskan pada BHI-A dan diinkubasi dalam *anaerobic jar* selama 18-24 jam pada suhu 37^0 C
6. Koloni bakteri yang tumbuh dihitung menggunakan *colony counter*.

7. Untuk menetapkan KBM dengan perhitungan 0,1% dari OI (*original inoculum*). OI adalah bakteri dengan konsentrasi 10^6 CFU/ml yang ditanamkan pada media agar sebelum di inkubasi



4.8 Alur Penelitian



4.9 Analisis Data

Analisis awal yang dilakukan adalah uji normalitas dan uji homogenitas. Uji normalitas menggunakan uji *Saphiro-wik* karena sampel < 50 . Kemudian uji homogenitas dengan *Lavene test* untuk ketahu apakah data homogen atau tidak homogen dengan tingkat signifikansi 0,05.

Jika sebaran data berdistribusi normal ($p > 0,05$) maka analisis data yang digunakan adalah uji *One Way Anova* (tingkat kepercayaan 95%; $\alpha = 0,05$), dilanjutkan uji *Post hoc* untuk mengetahui perbedaan masing-masing variabel dan dilanjutkan dengan korelasi *Pearson* untuk mengetahui kekuatan hubungan.

Apabila sebaran data tidak berdistribusi normal dan tidak homogen ($p < 0,05$) maka dapat dilakukan uji nonparametrik *Kruskal Wallis*. selanjutnya dilanjutkan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan masing-masing variabel, dan kekuatan hubungan menggunakan korelasi *Spearman*.

BAB 5

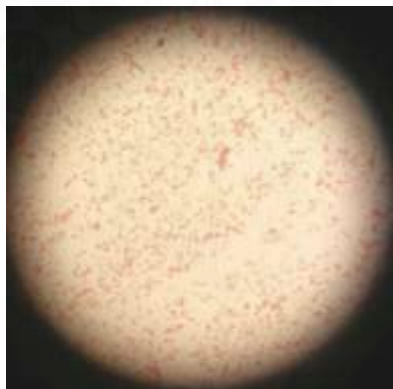
HASIL DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Identifikasi Bakteri *Porphyromonas gingivalis*

Isolat bakteri *Porphyromonas gingivalis* didapatkan dan di kultur di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Sebelum bakteri digunakan, dilakukan uji identifikasi bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Isolat diidentifikasi dengan pewarnaan gram, tes katalase, tes oksidase, dan uji indole.

5.1.1 Hasil Pewarnaan Gram

Hasil pewarnaan gram isolat bakteri diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000x.



Gambar 5.1 Gambaran Isolat Bakteri Pada Pewarnaan Gram

Hasil pewarnaan gram isolat bakteri menunjukkan gambaran berwarna merah, menunjukkan bahwa bakteri yang diidentifikasi merupakan gram negatif berbentuk *coco-bacilli*.

5.1.2 Hasil Tes Katalase

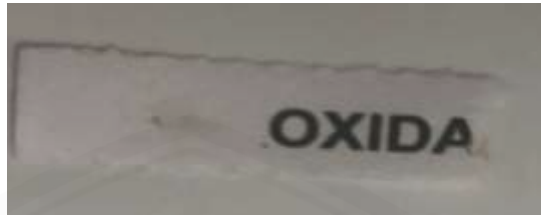
Katalase adalah sebuah enzim yang diproduksi oleh mikroorganisme yang hidup dalam lingkungan kaya oksigen untuk menetralkan toksik serta efek bakteriosidal dari aktivitas metabolisme H_2O_2 . Tes katalase dilaksanakan dengan memindahkan sejumlah koloni isolat bakteri pada slide kemudian ditetesi larutan H_2O_2 3%. Pada uji ini, isolat bakteri menunjukkan hasil negatif, sehingga isolat bakteri termasuk bakteri anaerob obligat, sebagai perbandingan bakteri *Staphylococcus* yang merupakan bakteri aerob menunjukkan hasil positif.



Gambar 5.2 Hasil Tes Katalase (1) *Staphylococcus* dan (2) isolat bakteri

5.1.3 Hasil Tes Oksidase

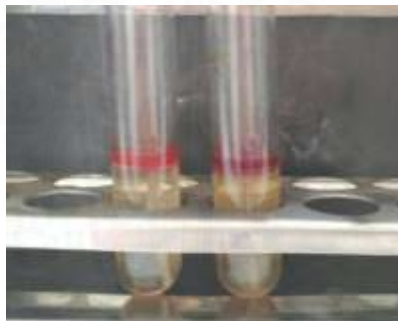
Tes oksidase memiliki tujuan untuk mengetahui ada tidaknya enzim *cytochrome c oxidase* pada bakteri dengan menggunakan strip oksidase. Tes oksidase yang dilakukan terhadap isolat bakteri menunjukkan hasil negatif.



Gambar 5.3 hasil tes oksidase

5.1.4 Hasil Identifikasi Biokimia Indole dan Uji Motilitas

Uji biokimia adalah cara yang dilakukan untuk identifikasi dan determinasi biakan murni bakteri hasil isolasi berdasarkan fisiologisnya. Pada uji indole isolat bakteri menunjukkan hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya cincin merah setelah penambahan reagen. Pertumbuhan isolat bakteri pada agar semi solid memanjang tanpa ada percabangan sehingga isolat bakteri termasuk bakteri nonmotil.



Gambar 5.4 Hasil Tes Indole

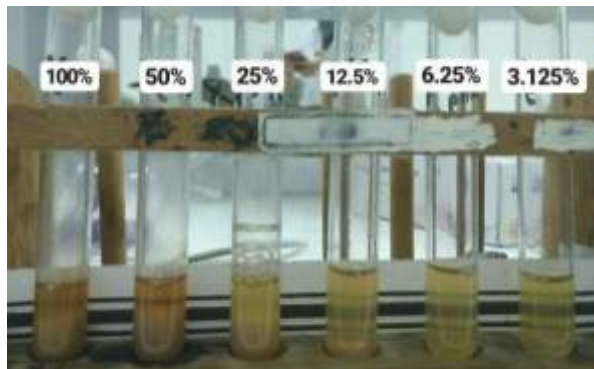
5.2 Hasil Ekstraksi Kulit Pisang Kepok Kuning

Ekstrak kulit pisang kepok kuning diekstrak dengan metode maserasi, menggunakan metanol. Metode maserasi dipilih karena metode maserasi mampu menghindari rusaknya senyawa

yang bersifat termolabil. Ekstrak kulit pisang kepok kuning (*Musa paradisiaca L.var bluggoe*) memiliki warna kuning kecoklatan dan keruh, serta terbentuknya endapan pada bagian dasar. Untuk mengatasi hal ini, maka dilakukan penyaringan dan filter, agar endapan hilang dan ekstrak tidak terkontaminasi mikroba yang lain.

5.3 Uji Pendahuluan Dengan Metode Dilusi Tabung

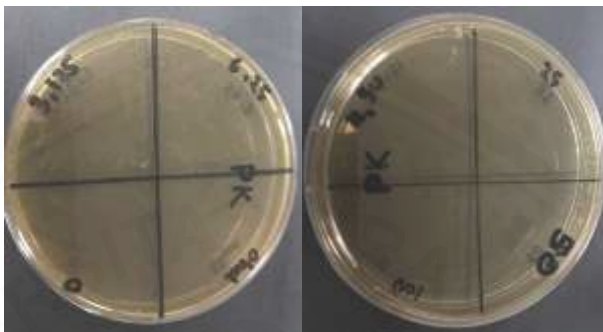
Metode yang digunakan dalam uji pendahuluan adalah dilusi tabung. Penelitian pendahuluan dilakukan untuk memperoleh rentang konsentrasi paling minimal untuk memperoleh hasil penelitian yang lebih teliti. Rentang konsentrasi uji pendahuluan adalah 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, dan 3,125%. Masing-masing tabung dimasukkan dalam *anaerobic jar* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.



Gambar 5.5 Hasil Dilusi tabung Uji Pendahuluan

Setelah diamati tingkat kekeruhan masing-masing tabung, maka tiap tiap tabung di ambil satu ose dan streaking pada media

BHI-A dan diinkubasi kembali dalam *anaerobic jar* selama 24 jam.

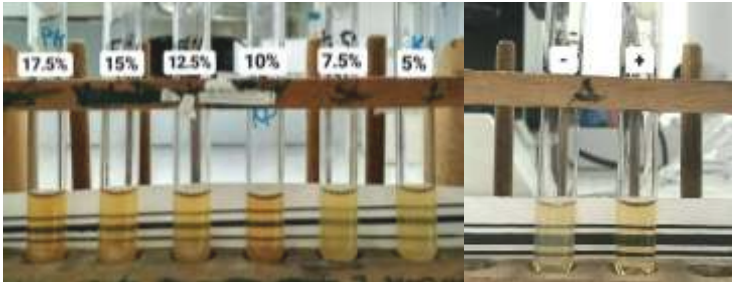


Gambar 5.6 Hasil Uji Pendahuluan

Hasil streaking uji pendahuluan menunjukkan jumlah koloni paling sedikit pada konsentrasi 12,5% dan tidak ada pertumbuhan dimulai pada konsentrasi 25%. Oleh karena itu dilakukan perapatan dengan konsentrasi 0%, 5%, 7,5%, 10%, 12,5%, 15%, dan 17,5%.

5.4 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Dengan Penentuan Nilai KHM

Kadar hambat minimum (KHM) adalah konsentrasi terendah untuk antimikroba pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba) setelah diinkubasi pada suhu 37⁰ C selama 24 jam.



Gambar 5.7 Hubungan Peningkatan Konsentrasi Ekstrak Kulit Pisang Kepok Kuning dengan Tingkat Kekeruhan

Penentuan nilai KHM selanjutnya dilakukan dengan cara melihat kekeruhan tabung, selanjutnya memberikan skor pada masing masing tabung dengan hasil seperti tabel 5.1. berdasarkan tabel 5.1 menunjukkan bahwa tabung mulai jernih pada konsentrasi 10%, sehingga konsentrasi 10% ditetapkan sebagai kadar hambat minimum (KHM).

Tabel 5.1 Skor Kekeruhan Ekstrak

konsentrasi	Jumlah koloni			Rerata skor
	I	II	III	
K(-)	0	0	0	0
K(+)	2	2	2	2
5 %	0	0	0	0
7.5 %	0	0	0	0
10 %	2	2	1	1,67
12.5 %	1	2	0	1
15 %	2	2	0	1,3
17,5 %	2	2	1	1,67

Keterangan

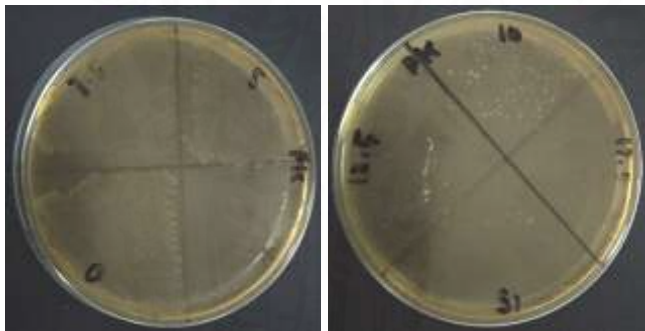
0 = keruh

1 = mulai jernih

2 = jernih

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

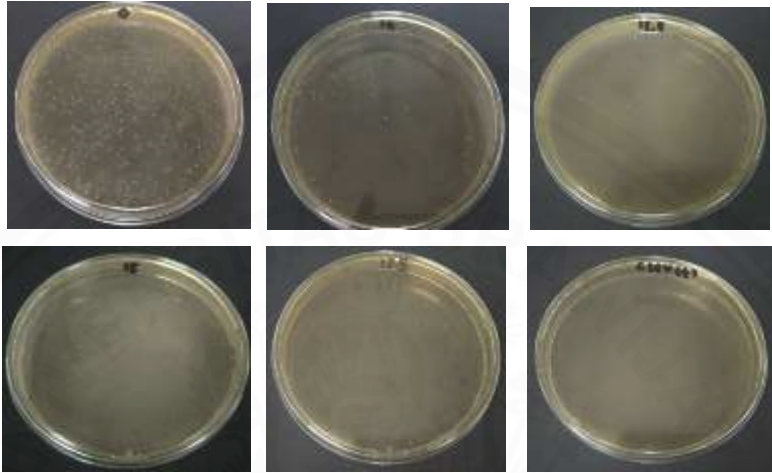
Kadar bunuh minimal (KBM) adalah kadar bunuh terendah dari antibakteri untuk membunuh bakteri atau memungkinkan pertumbuhan bakteri uji hanya 0,1% dari jumlah bakteri yang diinokulasikan.



Gambar 5.8 Hasil Uji Perapatan

Setelah tabung diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C, maka dapat diamati tingkat kekeruhannya untuk melihat KHM, selanjutnya mengambil satu ose setiap konsentrasi ekstrak yang mulai jernih yaitu pada konsentrasi 10%, 12,5%, 15%, 17,5%, kontrol (+), dan kontrol (-) kemudian diinokulasikan pada BHI-A dan diinkubasi kembali pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Perhitungan koloni dihitung keesokan harinya dengan

menggunakan *colony counter*. Hasil streaking didapatkan hasil seperti gambar 5.8.



Gambar 5.9 Hasil Uji Pengulangan

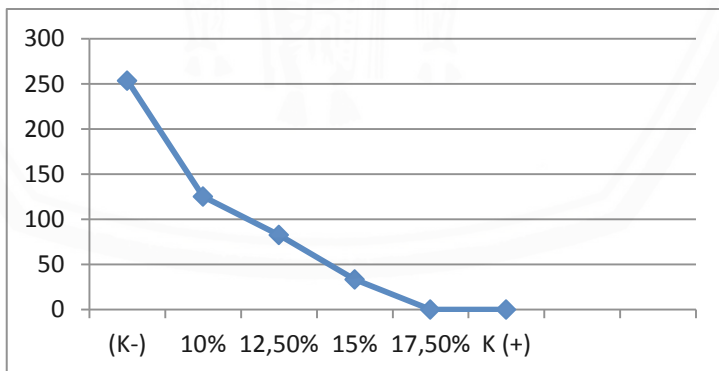
Selanjutnya adalah uji pengulangan, masing masing tabung konsentrasi 10%, 12,5%, 15%, 17,5%, kontrol (+), dan kontrol (-) diambil satu ose, distreaking pada BHI-A dan di inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C didapatkan hasil seperti gambar 5.9. Tampak terdapat pertumbuhan koloni bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada konsentrasi 10%, 12,5%, dan 15%. Tidak ada pertumbuhan koloni bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada konsentrasi 17,5%.

Tabel 5.2 Perhitungan Koloni Bakteri Yang Tumbuh Pada BHI-A

konsentrasi	Jumlah koloni			Rerata
	I	II	III	
K(-)	281	254	225	253,33

konsentrasi	Jumlahkoloni			Rerata
	I	II	III	
K (+)	0	0	0	0
10 %	136	129	110	125
12.5 %	95	65	88	82,6
15 %	26	51	23	33,33
17,5 %	0	0	0	0

Rerata pertumbuhan koloni *Porphyromonas gingivalis* pada *original inoculum* adalah sebanyak 253,33 CFU/plate. Penentuan KBM ekstrak kulit pisang kepok kuning adalah pertumbuhan koloni yang kurang dari 0,1% *original inoculum* dimana 0,1% dari 253,3 adalah 0,253. Berdasarkan hasil pengamatan tersebut, konsentrasi 17,5% menunjukkan tidak ada pertumbuhan koloni pada BHI-A, sehingga bisa dikatakan $<0,253$ sehingga konsentrasi 17,5% bisa ditetapkan sebagai nilai KBM.



Gambar 5.10 Grafik Rerata Jumlah Koloni Bakteri

Berdasarkan grafik tabel dan hasil uji pengulangan tersebut didapatkan adanya perbedaan jumlah koloni pada masing-masing perlakuan. Kontrol negatif menunjukkan jumlah koloni terbanyak, kemudian jumlahnya menurun hingga tidak ada pertumbuhan pada konsentrasi 17,5% dan kontrol positif klorheksidin. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak dengan konsentrasi 17,5% dan kontrol positif klorheksidin memiliki daya antibakteri terhadap *Porphyromonas gingivalis*.

5.6 Analisis Data

Analisis data dilakukan berdasarkan kekeruhan tabung dan jumlah koloni bakteri yang di streaking dari tabung yang sebelumnya sudah diinkubasi. Data yang didapat dari hasil penelitian terlebih dahulu dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas varian. Uji yang digunakan adalah *saphiro-wilk* dan uji *Lavene*. Apabila data yang didapatkan berdistribusi normal dan homogen, maka dilanjutkan uji *one way anova* dengan derajat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). Kemudian dilanjutkan uji *post-hoc* dengan *tukey*, uji korelasi *pearson*, dan uji regresi linier. Apabila data tidak berdistribusi normal maka dilanjutkan dengan uji *Kruskal wallis*, *Mann Whitney* dan uji *Spearman*.

5.6.1 Analisis Data Kadar Hambat Minimum Dengan Melihat Kekeruhan tabung

Data hasil penelitian terlebih dahulu dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas. Jumlah sampel penelitian adalah

24, sehingga lebih cocok dilakukan uji normalitas *Saphiro-wilk* karena data kurang dari 50. Pada uji normalitas *Saphiro-wilk* data dinyatakan berdistribusi normal apabila angka signifikansi >0.05 . Berdasarkan tabel 5.3 didapatkan bahwa signifikansi kekeruhan 0,00 ($p<0,05$)

Tabel 5.3 Hasil Uji Normalitas dan Kruskal wallis Kekeruhan Tabung

Kelompok	Kekeruhan tabung			Uji <i>Saphiro-Wilk</i>	Kruskal wallis
Kontrol negatif	0	0	0		
Kontrol (+) Chlorhexidine	2	2	2		
5 %	0	0	0	Angka signifikansi 0,00	Asymp sig 0,011
7,5%	0	0	0		
10%	2	2	1		
12,5%	1	2	0		
15%	2	2	0		
17,5%	2	2	1		

Karena data yang telah diuji tidak berdistribusi normal, maka selanjutnya data dianalisis dengan menggunakan *Kruskal wallis* untuk mengetahui adanya perbedaan berbagai konsentrasi ekstrak kulit pisang kepok kuning terhadap kekeruhan tabung.

Pada uji *Kruskal wallis* data dinyatakan terdapat perbedaan yang berarti apabila nilai Asymp signifikansi <0.05 . Hasil uji

Kruskal wallis pada tabel 5.3 menunjukkan bahwa nilai Asymp signifikansi sebesar 0,011 ($p < 0,05$). Setelah dilakukan uji *Kruskal wallis* maka untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan dilakukan uji *Mann Whitney*. Kelompok dinyatakan berbeda secara signifikan apabila nilai signifikansi $< 0,05$. Hasil uji *Mann Whitney* dapat dilihat pada tabel 5.4

Tabel 5.4 Hasil Uji *Mann whitney*

	K (-)	K (+)	5%	7,5%	10%	12,5 %	15%	17,5 %
K (-)		0,025 *	1	1	0,034 *	0,121	0,114	0,034 *
K (+)	0,025 *		0,025 *	0,025 *	0,317	0,121	0,317	0,317
5 %	1	0,025 *		1	0,034 *	0,121	0,114	0,034 *
7,5%	1	0,025 *	1		0,034	0,121	0,114	0,034
10%	0,034 *	0,317	0,034 *	0,034		0,346	0,796	1
12,5%	0,121	0,121	0,121	0,121	0,346		0,637	0,346
15%	0,114	0,317	0,114	0,114	0,796	0,637		0,796
17,5%	0,034 *	0,317	0,034 *	0,034	1	0,346	0,796	

Keterangan :

*) Berbeda secara signifikan

Setelah dilakukan uji *Mann whitney* kemudian dilanjutkan dengan uji korelasi *spearman* untuk mengetahui hubungan antar variabel. Pada uji spearman data dinyatakan terdapat hubungan antara variabel konsentrasi ekstrak dan kekeruhan apabila nilai signifikansi Sig (2-tailed) <0.05 . Berdasarkan tabel 5.5 didapatkan nilai signifikansi Sig (2-tailed) $0,00 < 0,05$.

Tabel 5.5 Hasil Uji Spearman

Kelompok	Rerata skor kekeruhan	Sig (2 tailed)	Correlation coefficient
Kontrol negatif	0		
Kontrol (+)	2		
Chlorhexidine		0,00	0,790
5 %	0		
7,5%	0		
10%	1		
12,5%	1,3		
15%	1,3		
17,5%	1,67		

Berdasarkan tabel 5.5 didapatkan koefisien korelasi sebesar 0,790. Artinya tingkat hubungan (korelasi) antara variabel konsentrasi dan kekeruhan adalah sebesar 0,790 atau sangat kuat. Angka koefisien korelasi pada tabel 5.6 bernilai positif 0,790 sehingga hubungan antara kedua variabel tersebut bersifat searah.

5.6.2 Analisis Data Kadar Bunuh Minimum (KBM) Dengan Melihat Pertumbuhan Koloni

Data hasil penelitian terlebih dahulu dilakukan uji normalitas untuk menentukan apakah bisa dilakukan uji *one way anova*. Jumlah sampel penelitian adalah 24, sehingga lebih cocok dilakukan uji normalitas *Saphiro-wilk* karena data kurang dari 50. Pada uji normalitas *Saphiro-wilk* data dinyatakan berdistribusi normal apabila angka signifikansi >0.05 . Berdasarkan tabel 5.6 didapatkan bahwa signifikansi koloni bakteri 0,006 ($p < 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa jumlah koloni bakteri *Porphyromonas gingivalis* berdistribusi tidak normal.

Tabel 5.6 Hasil Uji Normalitas dan Kruskal Wallis Jumlah Koloni

Konsentrasi	Jumlah koloni			Uji <i>Saphiro-wilk</i>	Kruskal wallis
	I	II	III		
K(-)	281	254	225	Angka signifikansi 0,006	Asymp sig 0,005
K(+)	0	0	0		
10 %	136	129	110		
12.5 %	95	65	88		
15 %	26	51	23		
17,5 %	0	0	0		

Karena data yang telah diuji tidak berdistribusi normal, maka selanjutnya data dianalisis dengan menggunakan *Kruskal wallis*

untuk mengetahui adanya perbedaan berbagai konsentrasi ekstrak kulit pisang kepok kuning terhadap jumlah koloni.

Pada uji *Kruskal wallis* data dinyatakan terdapat perbedaan yang berarti apabila nilai Asymp signifikansi <0.05 . Hasil uji *Kruskal wallis* pada tabel 5.6 menunjukkan bahwa nilai Asymp signifikansi sebesar 0,005 ($p < 0,05$). Setelah dilakukan uji *Kruskal wallis* maka untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan dilakukan uji *Mann Whitney*. Kelompok dinyatakan berbeda secara signifikan apabila nilai signifikansi $<0,05$. Hasil uji *Mann Whitney* dapat dilihat pada tabel 5.7

Tabel 5.7 Hasil Uji *Mann whitney*

	K (-)	K (+)	10%	12,5%	15%	17,5%
K (-)		0,037	0,05	0,05	0,05	0,037
		*	*	*	*	*
K (+)	0,037		0,037	0,037*	0,037	1
	*		*		*	
10%	0,05	0,037		0,05	0,05	0,037
	*	*		*	*	*
12,5%	0,05	0,037	0,05		0,05	0,037
	*	*	*		*	*
15%	0,05	0,037	0,05	0,05		0,037
	*	*	*	*		*
17,5%	0,037	1	0,037	0,037	0,037	
	*		*	*	*	

Keterangan : *) Berbeda secara signifikan

Setelah dilakukan uji *Mann whitney* kemudian dilanjutkan dengan uji korelasi *spearman* untuk mengetahui hubungan antar variabel.

Tabel 5.8 Hasil Uji Spearman

Konsentrasi	Jumlah koloni			Sig (2 tailed)	Correlation coefficient
	I	II	III		
K(-)	281	254	225		
K (+)	0	0	0		
10 %	136	129	110	0,00	-0,977
12.5 %	95	65	88		
15 %	26	51	23		
17,5 %	0	0	0		

Pada uji spearman data dinyatakan terdapat hubungan antara variabel konsentrasi ekstrak dan jumlah koloni apabila nilai signifikansi Sig (2-tailed) < 0.05 . Berdasarkan tabel 5.8 didapatkan nilai signifikansi Sig (2-tailed) $0,00 < 0,05$. Maka artinya terdapat hubungan antara variabel konsentrasi ekstrak dan jumlah koloni. Selanjutnya melihat dari tingkat keeratan hubungan.

Berdasarkan tabel 5.10 didapatkan koefisien korelasi sebesar $-0,977$. Artinya tingkat hubungan (korelasi) antara variabel konsentrasi dan jumlah koloni adalah sebesar $-0,977$ atau sangat kuat. Angka koefisien korelasi pada tabel 5.10 bernilai

negatif yakni $-0,977$ sehingga hubungan antara kedua variabel tersebut bersifat tidak searah.





BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental secara *in vitro* untuk mengetahui efektivitas ekstrak kulit pisang kepok kuning (*Musa paradisiaca* L. var *bluggoe*) terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Metode yang digunakan dengan penelitian ini adalah dilusi tabung. Metode tersebut digunakan untuk menentukan kadar hambat minimum (KHM) dan kadar bunuh minimum (KBM).

Isolat bakteri *porphyromonas gingivalis* yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Sebelum dilakukan penelitian, terlebih dahulu dilakukan identifikasi bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Isolat diidentifikasi dengan pewarnaan gram, tes katalase, tes oksidase, dan uji indole. Pada pewarnaan gram isolat bakteri menunjukkan gambaran berwarna merah berbentuk *coco-bacilli*. Gambaran berwarna merah merupakan ciri dari bakteri gram negatif, warna merah ini dikarenakan bakteri gram negatif memiliki struktur dinding sel dengan kandungan lipid, sehingga ketika pemberian alkohol warna kristal violet pudar dan digantikan oleh warna saffranin (Nurhidayati dkk., 2015). Sehingga isolat bakteri termasuk bakteri gram negatif.

Pada uji katalase, isolat bakteri menunjukkan hasil negatif. Uji katalase menunjukkan hasil negatif pada bakteri anerob obligat

(Acharya, 2013). Pada tes oksidase, isolat bakteri menunjukkan hasil negatif yaitu tidak terjadi perubahan warna pada strip oksidase. Uji katalase menunjukkan hasil negatif pada bakteri anaerob obligat (Acharya, 2012). Sehingga isolat bakteri termasuk bakteri anaerob obligat. Pada uji indole bakteri isolat bakteri menunjukkan hasil positif. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya cincin merah setelah penambahan reagen (Acharya, 2012). Sewaktu bakteri diinokulasikan pada agar semi solid, isolat bakteri tumbuh lurus dan tidak bercabang, sehingga isolat bakteri termasuk dalam bakteri anaerob non motil (Yulzifar, 2013). Berdasarkan hasil dari keempat uji identifikasi ini, dapat dibuktikan bahwa isolat bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Hasil ini sesuai dengan penelitian Kusumawardhani (2010) dan Al-Khafagee (2013) bahwa *Porphyromonas gingivalis* merupakan *coco-bacilli* gram negatif anaerob, bakteri *Porphyromonas gingivalis* positif pada uji katalase, uji indole dan negatif pada uji motilitas.

Proses pembuatan ekstrak kulit pisang kepok kuning dilakukan di Balai Materia Medica UPT Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur, Kota Batu. Metode ekstraksi yang dipilih adalah maserasi dengan pelarut metanol. Ekstrak kulit pisang kepok kuning diekstrak dengan metode maserasi karena pekerjaan yang mudah dan sederhana, serta mampu menghindari rusaknya senyawa yang bersifat termolabil (Mukhairani, 2014). Metanol merupakan pelarut universal yang dapat melarutkan semua komponen kimia yang bersifat non polar, semi polar, dan polar (Romandanu dkk., 2014). Menurut Pane (2013) metanol dapat

melarutkan senyawa organik lebih banyak dibandingkan pelarut fraksi n-heksan dan etil asetat. Pelarut metanol juga memiliki kemampuan yang lebih baik dibandingkan etanol dan air dalam melarutkan senyawa polar dan non polar (Supriyanto dkk., 2017)

Berdasarkan hasil pendahuluan, maka konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 17,5%, 15%, 12,5%, 15%, 10%, 7,5%, dan 5%. Nilai KHM ditentukan dengan kualitatif dan kuantitatif. Kualitatif dengan melihat dari kekeruhan tabung, dan kuantitatif dengan metode pemberian skor pada kekeruhan tabung, sehingga didapatkan hasil KHM ekstrak kulit pisang kepek kuning pada konsentrasi 10%.

Nilai KBM ditentukan dari hasil perhitungan koloni menggunakan *colony counter* didapatkan KBM ekstrak kulit pisang kepek kuning pada konsentrasi 17,5%. Kadar bunuh minimal terdapat pada konsentrasi yang sudah tidak terlihat pertumbuhan bakteri. Hal ini didukung oleh penelitian sebelumnya oleh Fitriahani (2017) bahwa senyawa antibakteri akan meningkat aktivitasnya dari bakteriostatik menjadi bakteriosidal bila konsentrasi ditingkatkan.

Terdapat beberapa perbedaan hasil penelitian efek antibakteri kulit pisang kepek terhadap beberapa bakteri, menurut Fitriahani (2017) ekstrak kulit pisang kepek memiliki nilai KHM 40% pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia Coli*, serta KBM 40% pada bakteri *Escherichia Coli*. Menurut Isabelita (2018) ekstrak kulit pisang kepek memiliki KBM 1,56% pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Kemampuan ekstrak kulit pisang kepok kuning dalam menghambat pertumbuhan dan membunuh bakteri *Porphyromonas gingivalis* dikarenakan zat-zat yang terkandung di dalamnya. Flavonoid mempunyai kemampuan mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel. Senyawa flavonoid mampu membentuk senyawa kompleks dengan protein melalui ikatan hidrogen sehingga struktur tersier protein terganggu dan protein tidak dapat berfungsi lagi sehingga terjadi kerusakan atau denaturasi protein dan asam nukleat, denaturasi tersebut menyebabkan koagulasi protein serta mengganggu metabolisme dan fisiologis bakteri (Heni dkk., 2015). Selain berperan sebagai antibakteri, flavonoid juga memiliki kemampuan antioksidan, antiinflamasi, dan kemampuan melindungi struktur sel sehingga mampu mencegah keropos tulang (Mustofa, 2018). Sebagai antiinflamasi, flavonoid nantinya mampu menurunkan ekspresi Rankl, sehingga mengurangi osteoklas dan menstimulasi terbentuknya osteoblas (Kim *et al.*, 2011).

Tannin Sebagai antibakteri, memiliki kemampuan menginaktifkan adhesin mikroba, enzim, dan juga mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel. Secara umum kandungan tannin pada kulit pisang lebih banyak pada kulit buah pisang yang belum matang daripada kulit buah pisang yang telah matang. Hal ini dikarena pada kulit buah pisang yang telah matang terjadi peningkatan etanol 70 kali lipat sehingga mampu menurunkan kadar tannin (Dinastutie dkk., 2015). Tanin juga mampu mempercepat penyembuhan luka dengan beberapa mekanisme seluler yaitu membersihkan radikal

bebas dan oksigen reaktif, meningkatkan penyambungan luka serta meningkatkan pembentukan pembuluh darah kapiler juga fibroblas. (Kusumawardhani dkk., 2015)

Terpenoid sebagai antibakteri mampu bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, yang kemudian membentuk ikatan polimer yang kuat dan merusak porin, sehingga mengurangi permeabilitas dinding sel dalam bakteri, kemudian sel bakteri kekurangan nutrisi, dan pada akhirnya menyebabkan pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Heni dkk, 2015).

Setelah ditentukan kadar hambat minimum (KHM) dan kadar bunuh minimum (KBM) dilanjutkan dengan analisis data. Pada kadar hambat minimum (KHM) didapatkan data yang tidak berdistribusi normal ($p < 0,05$) sehingga uji selanjutnya dilakukan dengan *Kruskal wallis*. Pada uji *Kruskal wallis* data dinyatakan terdapat perbedaan yang berarti apabila nilai Asymp signifikansi $< 0,05$. Hasil uji *Kruskal wallis* pada kekeruhan tabung menunjukkan bahwa nilai Asymp signifikansi sebesar 0,011 ($p < 0,05$). Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang berarti pada berbagai konsentrasi ekstrak kulit pisang kepok kuning terhadap kekeruhan tabung.

Setelah dilakukan uji *Kruskal wallis* maka untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan dilakukan uji *Mann Whitney*. Kelompok dinyatakan berbeda secara signifikan apabila nilai signifikansi $< 0,05$. Kelompok yang berbeda secara signifikan yaitu pada

kelompok kontrol (-) dan kontrol (+), kontrol (-) dan konsentrasi 10%, kontrol (-) dan konsentrasi 17,5%, kontrol (+) dan konsentrasi 5%, kontrol (+) dan konsentrasi 7,5%, konsentrasi 5% dan konsentrasi 10%, serta konsentrasi 5% dan konsentrasi 17,5%. Pada konsentrasi 12,5% dan 15% tidak berbeda secara signifikan dengan kontrol positif maupun kontrol negatif, hal ini dikarenakan terdapat penurunan skor kekeruhan tabung dari konsentrasi 10% ke konsentrasi 12,5% dan 15%. Penyebabnya dikarenakan terbentuknya endapan dari ekstrak kulit pisang kepok sehingga mempengaruhi dari kekeruhan pada konsentrasi 12,5% dan 15%.

Setelah dilakukan uji *Mann whitney* kemudian dilanjutkan dengan uji korelasi *spearman* untuk mengetahui hubungan antar variabel. Pada uji *spearman* data dinyatakan terdapat hubungan antara variabel konsentrasi ekstrak dan kekeruhan apabila nilai signifikansi Sig (2-tailed) < 0.05 . Pada uji ini didapatkan nilai signifikansi Sig (2-tailed) $0,00 < 0,05$. Maka artinya terdapat hubungan antara variabel konsentrasi ekstrak dan kekeruhan. Selanjutnya melihat dari tingkat keeratan hubungan, koefisien korelasi antara variabel berkisar $\pm 0,00$ sampai $\pm 1,00$. Adapun kriteria penafsirannya menurut Sarwono dan Budiono (2012) adalah :

- 0,00 artinya tidak terdapat korelasi
- $> 0,00$ sampai 0,25 artinya korelasi sangat lemah
- 0,25 sampai 0,50 artinya korelasi cukup
- 0,51 sampai 0,75 artinya korelasi kuat

- 0,76 sampai 0,99 artinya korelasi sangat kuat
- 1,00 artinya korelasi sempurna

Pada uji korelasi spearman didapatkan koefisien korelasi sebesar 0,790. Artinya tingkat hubungan (korelasi) antara variabel konsentrasi dan kekeruhan adalah sebesar 0,790 atau sangat kuat. Angka koefisien korelasi bernilai positif yakni 0,790 sehingga hubungan antara kedua variabel tersebut bersifat searah. Dengan demikian dapat diartikan bahwa konsentrasi semakin ditingkatkan maka kejernihan tabung juga akan meningkat.

Pada kadar bunuh minimum (KBM) didapatkan data yang tidak berdistribusi normal ($p > 0,05$) sehingga uji selanjutnya dilakukan dengan *Kruskal wallis*. *Kruskal wallis* berfungsi untuk mengetahui adanya perbedaan berbagai konsentrasi ekstrak kulit pisang kepok kuning terhadap jumlah koloni. Pada uji *Kruskal wallis* data dinyatakan terdapat perbedaan yang berarti apabila nilai Asymp signifikansi $< 0,05$. Hasil uji *Kruskal wallis* pada jumlah koloni bakteri menunjukkan bahwa nilai Asymp signifikansi sebesar 0,005 ($p < 0,05$). Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang berarti pada berbagai konsentrasi ekstrak kulit pisang kepok kuning terhadap jumlah koloni *Porphyromonas gingivalis*.

Setelah dilakukan uji *Kruskal wallis* maka untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan dilakukan uji *Mann Whitney*. Kelompok dinyatakan berbeda secara signifikan apabila nilai signifikansi $< 0,05$. Uji *Mann whitney* jumlah koloni bakteri hampir seluruhnya berbeda secara signifikan, kecuali pada konsentrasi 17,5 %

dan kontrol(+), karena jumlah koloni pada dua kelompok tersebut sama sama 0.

Setelah dilakukan uji *Mann whitney* kemudian dilanjutkan dengan uji korelasi *spearman* untuk mengetahui hubungan antar variabel. Pada uji *spearman* data dinyatakan terdapat hubungan antara variabel konsentrasi ekstrak dan jumlah koloni apabila nilai signifikansi Sig (2-tailed) <0.05 . Pada uji ini didapatkan nilai signifikansi Sig (2-tailed) $0,00 < 0,05$. Maka artinya terdapat hubungan antara variabel konsentrasi ekstrak dan jumlah koloni. Selanjutnya melihat dari tingkat keeratan hubungan (koefisien korelasi) didapatkan koefisien korelasi sebesar $-0,977$. Artinya tingkat hubungan (korelasi) antara variabel konsentrasi dan jumlah koloni adalah sebesar $-0,977$ atau sangat kuat. Angka koefisien korelasi bernilai negatif yakni $-0,977$ sehingga hubungan antara kedua variabel tersebut bersifat tidak searah. Dengan demikian dapat diartikan bahwa konsentrasi semakin ditingkatkan maka jumlah koloni bakteri *Porphyromonas gingivalis* akan menurun.

Berdasarkan hasil penelitian terdapat peningkatan kejernihan tabung dan penurunan jumlah koloni bakteri *Porphyromonas gingivalis* seiring dengan penambahan konsentrasi ekstrak kulit pisang kepok kuning, kemudian diperkuat dengan hasil analisis data maka dapat disimpulkan ekstrak kulit pisang kepok kuning memiliki efek antibakteri terhadap *Porphyromonas gingivalis* secara *in vitro*, sehingga hipotesis penelitian yang telah disusun dapat diterima.

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

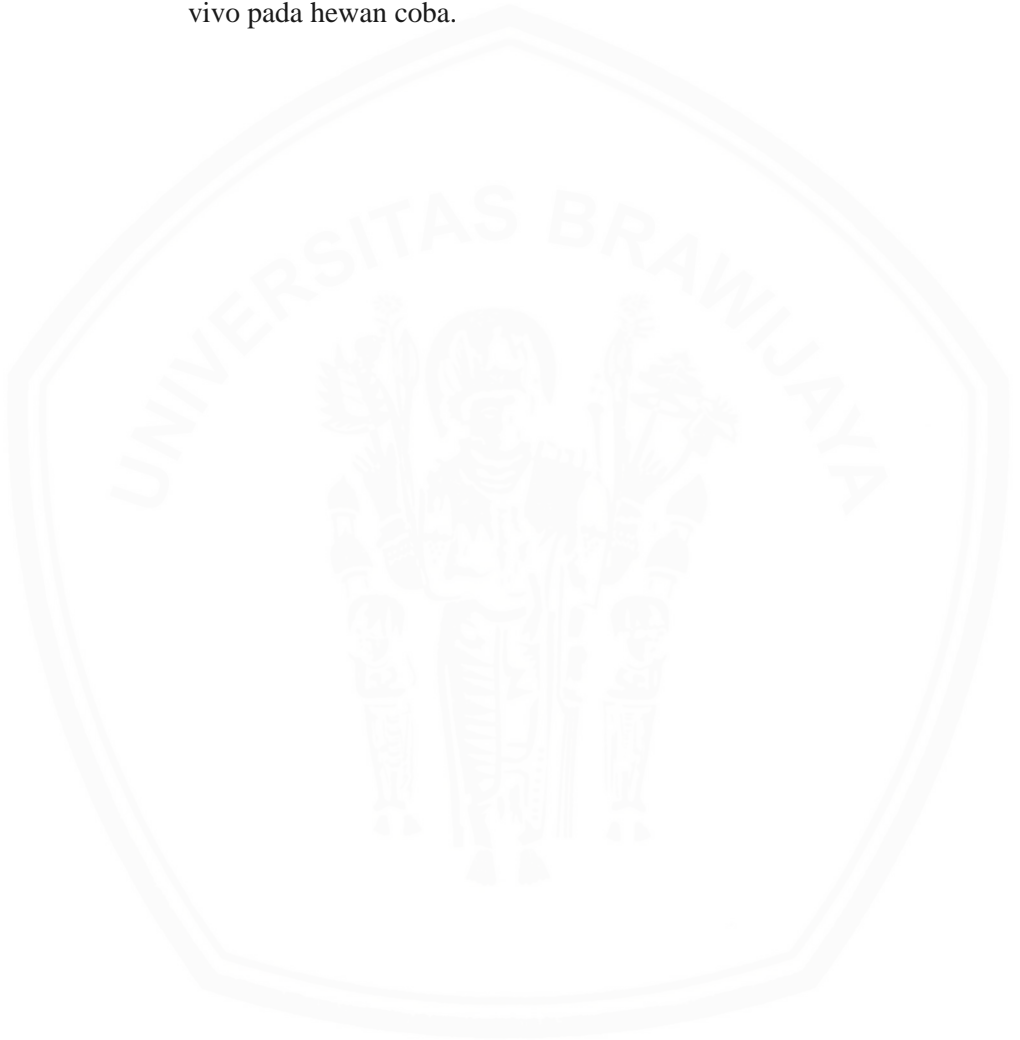
Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa :

1. Ekstrak kulit pisang kepok kuning (*Musa paradisiaca L.var bluggoe*) terbukti efektif sebagai antibakteri *Porphyromonas gingivalis* secara in vitro
2. Nilai KHM ekstrak kulit pisang kepok kuning (*Musa paradisiaca L.var bluggoe*) adalah pada konsentrasi 10%
3. Nilai KBM kulit pisang kepok kuning (*Musa paradisiaca L.var bluggoe*) adalah pada konsentrasi 17,5%
4. Terdapat hubungan antara penambahan konsentrasi ekstrak dengan peningkatan kejernihan tabung dan penurunan jumlah koloni bakteri *Porphyromonas gingivalis*

7.2 Saran

1. Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai senyawa yang terkandung dalam kulit pisang kepok kuning (*Musa paradisiaca L.var bluggoe*), untuk mengetahui senyawa yang paling aktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*.

2. Diperlukan penelitian lebih lanjut terhadap ekstrak kulit pisang kepok kuning (*Musa paradisiaca L.var blugoe*) secara in vivo pada hewan coba.



DAFTAR PUSTAKA

- Acharya T. 2012. *Oxidase Test: Principle Procedure and Oxidase Positive Organism*. <https://microbeonline.com/oxidase-test-principles-procedures-and-oxidase-positive-organism/>. Diakses tanggal 14 Maret 2018
- Acharya T. 2013. *Catalase Test: Principle, Uses, Procedure, and Result*. <https://microbeonline.com/catalase-test-principle-uses-procedures-results/>. Diakses tanggal 13 Maret 2018
- Afrianti., Sety,L.O.M.,Tina.L., 2018. Risk Factor analysis of Periodontal Disease Among Young Adult Age (20-44 Years Old) In Poasia Public Health Center of Kendari City 2017. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kesehatan Masyarakat*. 3(2); 2-8
- Al-Khafagee,N.S., Al-Rubiae,F.M., Witwit, L.J., Al-Dahmoshi,O.H., 2013. Isolation & Characterization of *Porphyromonas gingivalis* and Determination of Some Immunological Aspect In Patients with Periodontitis. *International Journal of Dental Research & Development*, 3(2) ;1-5
- Alibsyah,Z.M., Andayani,R., Farhana,A.. 2016 Potensi Antibakteri Ekstrak Jahe (*Zingiber Officinale Roscoe*) Terhadap *Porphyromonas gingivalis* secara In Vitro, *Journal of Syiah Kuala Dentistry Society*, 1(2); 147-152
- Andriani, I., 2012. Efektivitas Antara Scalling Root Planing (SRP) dengan dan Tanpa Pemberian Ciprofloxin PerOral Pada Pasien Periodontitis,*IDJ*, 1(2): 69-71
- Anggraeni,R., Aliza,D., Mellisa,S. 2016. Identifikasi Bakteri (*Aeromonas Hydrophila*) dengan Uji Mikrobiologi pada Lele Dumbo (*Clarias geriepus*) yang Dibudidayakan di Kecamatan Baitussalam Kabupaten Aceh Besar, *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan dan Perikanan Unsyiah*, 1(2) ; 271-286

- Badan Pusat Statistik. 2017. *Konsumsi Buah dan Sayur Susenas Maret 2016*, Jakarta. Hal 1-25
- Dinas Ketahanan Pangan, Pertanian, dan Perikanan Kota Sukabumi. 2016. *Petani Bantul Bisa ke Italia Karena Pisang*. <https://distan.sukabumikota.go.id/hebat-petani-bantul-bisa-ke-italia-karena-pisang/>. Diakses pada tanggal 8 Januari 2018
- Departemen Pertanian. 2005. *Prospek dan Arah Perkembangan Agribisnis Pisang*, Jakarta. Hal 1-2
- Dinastutie,R., Y.S,S.P., Hidayati,D.Y.N. 2015. Uji Efektifitas Antifungal Ekstrak Kulit Pisang Kepok (*Musa acuminata x Balbisiana*) Mentah Terhadap Pertumbuhan *Candida Albicans* Secara In Vitro, *Majalah Kesehatan FKUB*, 2(3) ; 173-180
- Fitriahani, F.. 2017. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Limbah Kulit Pisang (Musa acuminata x Musa balbisiana cv candi) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus dan Escherichia coli*. Tugas Akhir. Tidak Diterbitkan. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang
- Fitriyana,N., Arina,Y.M.D.,Harmono.H., Susilowati.I. 2013. Pemaparan Bakteri *Porphyromonas gingivalis* Mempengaruhi Produksi Superoksid Nitrofil, *Dentofacial*, 12(3) ; 152-158
- Hasanah,L. 2012. *Nutrisi dan Medium Pertumbuhan Mikroba*. <https://www.slideshare.net/ElaAfellay/media-pertumbuhan-mikroba>. Diakses pada 18 Juli 2018
- Heni., Arreneuz,S., Zaharah,T.A., 2015. Efektivitas Antibakteri Kulit Batang Belimbing Hutan (*Baccaurea angulata Merr.*) Terhadap *Staphylococcus Aureus* dan *Estherichia coli*, *JKK*, 4 (1) ; 84-90.
- Hertanti, S.R., Suswati, I., Setiawan,I., 2015. Efek Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica Papaya L*) Terhadap *Shigella*

Dysentriae Secara In Vitro dengan Metode Dilusi Tabung dan Dilusi Agar, *Jurnal Kesehatan UMM*, 11(1) ; 1-8

- How, K.Y., Song,K.P., Chan, K.G. 2016. Porphyromonas gingivalis: An Overview of Periodontopathic Pathogen below The Gum Line, *Front Microbial*, 7(53): 1-15
- Ismail. 2015. Faktor Yang mempengaruhi Keputusan Masyarakat Memilih Obat Tradisional Di Gampong Lam Ujong. *Idea Nursing Journal*. VI(1); 7-14
- Kementerian Pertanian. 2014. *Outlook Komoditi Pisang*, Jakarta. Hal 30-32
- Kim,T.H., Jung,J.W., Ha,B.G.,Hong,J.M., Park,E.K., Kim,H.J., Kim,S.Y. 2011. The Effect Of Luteolin on Osteoclast Differentiation, Function In Vitro and Ovariectomy-Induced Bone Lost. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 22; 8-15
- Kismiyati., Subekti,S., Yusuf,R.W.N.,Kusdawarti,R. 2009. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Gram Negatif pada Ikan Maskoki (*Carassius auratus*) Akibat Infestasi *Argulus* sp., *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 1(2) ; 129-134
- Kusmiyati., Agustini., N.S. 2007. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga *Porphyridum cruentum*, *Biodiversitas*, 8(1) ; 48-53
- Kusumawardhani,B., Pujiastuti,P., Sari,D.S. 2010. Uji Biokimiawi Sistem API 20 A Mendeteksi *Porphyromonas gingivalis* Isolat Klinik dari Plak Subgingiva Pasien Periodontitis, *Jurnal PDGI*, 59(3) ; 110-114
- Lakhani.N., Vandana.K.L., 2016 Chlorhexidine An Insight. *International Journal Of Advanced Research*. 4(7); 1321-1328
- Lastianny,S.P.2012. Dampak Pemakaian Alat Ortodontik Terhadap Kesehatan Jaringan Periodontal, *Majalah Kedokteran Gigi*, 19(2) ; 181-184

- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif, *Jurnal Kesehatan*, VII (2) ; 361-367
- Najafi,M.H., Taheri,M., Mokhtari,M.R., Forouzanfar,A., Farazi,F., Mirzaee,M., Ebrahaiminik,Z., Mahrara,R.Comparative study of 0.2% and 0.12% digluconate chlorhexidine mouth rinses on the level of dental staining and gingival indices. *Dental Research Journal*, 9(3) ; 305-308
- Newman,. M.G., Carranza, F.A., Takey,H.H. 2015. *Carranza's Clinical Periodontology*, 12th Ed. California: W.B Saunders Company
- Notohardjo,I.T, Suratri, M.A.L. 2016. *Menyikat Gigi ,Konsumsi Buah dan Sayur, Aktivitas fisik, Diabetes Mellitus dengan Jaringan Periodontal Gigi di Indonesia, Tahun 2013*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Sumber Daya dan Pelayanan RI.
- Noor,J. 2011. *Metodologi Penelitian: Skripsi, Tesis, Disertasi, dan Karya Ilmiah*. Jakarta: Kencana.
<https://books.google.co.id/books?id=VnA-DwAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=noor+metodologi+penelitian+skripsi,+tesis+disertasi&hl=en&sa=X&ved=0ahUKEwiR74K97XeAhUMT48KHavVAVEQ6AEIKjAA#v=onepage&q=noor%20metodologi%20penelitian%20skripsi%2C%20tesis%20disertasi&f=false>. Diakses pada tanggal 3 April 2018
- Nurhidayati,S., Faturrahman.,Ghazali,M. 2015. Deteksi Bakteri Patogen yang Berasosiasi dengan *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Bergejala Penyakit Ice-Ice. *Jurnal Sains Teknologi & Lingkungan*, 1(3): 24-29
- Pane,E.R., 2013. Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Metanol Kulit Pisang Raja (*Musa paradisiaca sapientum*). *Valensi*, 3(2) ; 76-81
- Pratiwi, L.C. 2012. *Adhesi Porphyromonas gingivalis pada netrofil yang diinkubasi ekstrak kelopak bunga rosella (Hhibiscus sabdariffa L.)*. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Negeri Jember, Jember.

- Romandanu, Rachmawati,S.H., Lestari,S.D., 2014. Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bunga Lotus (*Nelumbo nucifera*). *Fishtech*,III (01); 1-5
- Saraswati, F.N. 2015. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Limbah Kulit Pisang Kepok Kuning (Musa balbisiana) Terhadap Bakteri Penyebab Jerawat (Staphylococcus epidermis, Staphylococcus aureus,dan Propionibacterium acne)*. Tugas Akhir. Tidak Diterbitkan. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Program Studi Farmasi. UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta
- Sarwono,J., Budiono,H. 2012. *Statistik terapan :Aplikasi Untuk Riset Skripsi,Tesis dan Disertasi (Menggunakan SPSS, AMOS DAN EXCEL)*. Jakarta: PT Elex Media Komptindo.
https://books.google.co.id/books?id=dNtMDwAAQBAJ&pg=PA251&dq=Koefisien+korelasi+sarwono+2006&hl=en&sa=X&ved=0ahUKEwi01s_r69PeAhVHWisKHX4SA6YQ6AEIJAA#v=onepage&q=Koefisien%20korelasi%20sarwono%202006&f=false. Diakses pada tanggal 28 Oktober 2018
- Sinaredi,B.R., Pradopo,S., Wibowo,T.B., 2014. Daya Antibakteri Obat Kumur Chlorhexidine, Povidone Iodine, Flouride Suplemantasi Zinc Terhadap *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis*, *Dental Jurnal Kedokteran Gigi*. 47(4) ; 211-214
- Soleha,T.U. 2015. Uji Kepekaan Terhadap Antibiotik, *Jurnal Kesehatan Unila*, 5(9) ; 119-123
- Sunarto,H., 2014. Plak Sebagai Penyebab Utama Keradangan Jaringan Periodontal. *Depertemen Periodonsia Fakultas Kedokteran Gigi UniversitasIndonesia*.
http://staff.ui.ac.id/system/files/users/hari_sunarto/publication/plak_sebagai_penyebab_utama_keradangan_jaringan.pdf/. Diakses pada 22 Februari 2018
- Supriyanti,F.M.T., Suanda,H.,Rosdiana,R. 2015. *Pemanfaatan Ekstrak Kulit Pisang Kepok (Musa Bluggoe) Sebagai Sumber Antioksidan Pada Produksi Tahu*. Makalah disajikan dalam

Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VII. Program Studi Pendidikan Kimia Jurusan Pendidikan MIPA FKIP UNS, Surakarta, 18 April 2015

Supriyanto, Simon.b.w., Rifa'i, I.M., Yuniata. 2017. Uji Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta indica Juss*). Prosiding Snatiff

Suwandi, T. 2010. Perawatan Awal Penutupan Diastema Gigi Goyang pada Penderita Periodontitis Kronis Dewasa, *Jurnal PDGI*, 59(3) ; 105-109

Suyanti, S., Supriadi, A., 2008. *Pisang Budidaya Pengolahan dan Prospek Pasar*. Jakarta: Penebar Swadaya.
<https://books.google.co.id/books?id=yc5stVng0hwC&pg=PA31&dq=pisang+kepok+adalah&hl=en&sa=X&ved=0ahUKEWjj3q#v=onepage&q=pisang%20kepok%20adalah&f=false/>.
Diakses pada tanggal 15 Januari 2018

Isabelita, T. 2018. *Uji Efek Antibakteri Ekstrak Kulit Pisang Kepok (Musa paradisiaca L.) Terhadap Pertumbuhan Pseudomonas aeruginosa secara In Vitro*. Karya Tulis Akhir. Tidak Diterbitkan Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah, Malang.
<https://eprints.umm.ac.id/39542/>. Diakses pada tanggal 1 November 2018

Tille, P. 2015. *Balley & Scott's Diagnostic Microbiology*. Amsterdam: Elsevier Health Science.
<https://books.google.co.id/books?id=D62ADQAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=tille+2015+balley+diagnostic&hl=en&sa=X&ved=0ahUKEWjxyJCO8PXeAhULTY8KHQABBpQQ6AEILDAA#v=onepage&q=tille%202015%20balley%20diagnostic&f=false>. Diakses pada tanggal 21 Maret 2018

Yacob, T., Endriani, R. 2010. Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Ketepeng Cina (*Senna alata*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara In Vitro. *Jurnal Natur Indonesia*. 13(1) ; 63-66

Yulzifar,C. 2013. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Prebiotik pada *Restrelliger sp. Biospecies*. 6(2); 1-7



