



UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN SIRIH HIJAU (*PIPER*

***BETLE L.*) 0,5% DAN EKSTRAK DAUN SIRIH MERAH**

(*PIPER CROCATUM*) 6,5% TERHADAP BAKTERI MIX

SALURAN AKAR GIGI SULUNG NON VITAL SECARA

IN VITRO

SKRIPSI

UNTUK MEMENUHI PERSYARATAN

MEMPEROLEH GELAR SARJANA

KEDOKTERAN GIGI

OLEH:

FARAH MAUDYA FAUZAN

NIM: 155070401111032

PROGRAM STUDI SARJANA KEDOKTERAN GIGI

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2019

HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

**UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN SIRIH HIJAU (*PIPER
BETLE L.*) 0,5% DAN EKSTRAK DAUN SIRIH MERAH
(*PIPER CROCATUM*) 6,5% TERHADAP BAKTERI MIX
SALURAN AKAR GIGI SULUNG NON VITAL SECARA**

IN VITRO

Oleh:

**Farah Maudya Fauzan
NIM 155070401111032**

**Telah diujikan di depan Majelis Penguji pada tanggal 1 Juli
2019 dan dinyatakan memenuhi syarat memperoleh gelar
Sarjana dalam Bidang Kedokteran Gigi**

Menyetujui :

Pembimbing 1

Pembimbing 2

**drg. Ambar Puspitasari, Sp.KGA
NIK. 2012087704122001**

**drg. Edina Hartami, Sp.KGA
NIK. 2016078601082001**

**Malang,
Mengetahui,**

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

**drg. Yuliana Ratna Kumala, Sp.KG
NIP. 198004092008122004**

PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

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

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

Malang, 1 Juli 2019

Yang menyatakan,

Farah Maudya Fauzan

NIM. 155070401111032



KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT, karena atas rahmat, karunia, serta ridho-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Efektivitas Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) 0,5% Dan Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) 6,5% Terhadap Bakteri *Mix* Saluran Akar Gigi Sulung Non Vital Secara *In Vitro*”. Skripsi ini diajukan untuk memenuhi tugas mata kuliah Metodologi Penelitian Ilmiah 2. Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak dapat terselesaikan tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. drg. R. Setyohadi, M.S selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya.
2. drg. Yulia Ratna Kumala, Sp. KG selaku Kepala Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya
3. drg. Ambar Puspitasari, Sp. KGA selaku dosen pembimbing I yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberikan masukan dan bimbingan kepada penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
4. drg. Edina Hartami, Sp. KGA sebagai pembimbing II yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberikan saran dan kritik kepada penulis dalam penulisan skripsi ini.



5. drg. Viranda Sutanti, M.Si sebagai penguji I yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberikan saran dan kritik kepada penulis dalam penulisan proposal skripsi ini.
6. Seluruh Dosen dan Staff Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya atas segala ilmu yang telah diberikan kepada penulis.
7. Papa, Mama, Mas Azwin dan Dek Oval yang selalu memberikan doa, motivasi, serta dorongan setiap harinya kepada penulis.
8. Sahabat (Devy, Kiki, Elvi, Diandra, Miah, Maharani, Avisha dan Dwika), teman-teman satu departemen IKGA (Yuni dan Annisa) serta teman-teman Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya angkatan 2015 yang selalu memberi semangat dan motivasi bagi penulis.
9. Semua pihak yang telah mendukung penulis, yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu.

Semoga Allah SWT melimpahkan rahmat-Nya dan membalas semua amal kebaikan mereka. Penulis sangat menyadari, bahwa penyusunan skripsi ini masih sangat jauh dari sempurna. Oleh karena itu, segala kritik dan saran yang membangun akan penulis terima.

Malang, 1 Juli 2019

Penulis,

DAFTAR ISI

Judul.....	i
Halaman Pengesahan Skripsi.....	ii
Pernyataan Orisinalitas Skripisi.....	iii
Abstrak.....	iv
Kata Pengantar.....	vi
Daftar Isi.....	viii
Daftar Tabel.....	xii
Daftar Gambar.....	xiii
Daftar Singkatan.....	xiv
Daftar Lampiran.....	xv
Bab	
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Sirih Hijau.....	6
2.1.1 Klasifikasi Sirih Hijau.....	6
2.1.2 Morfologi Sirih Hijau.....	7
2.1.3 Kandungan Sirih Hijau.....	7
2.2 Sirih Merah.....	7
2.2.1 Klasifikasi Sirih Merah.....	7
	viii



2.2.2	Morfologi Sirih Merah	9
2.2.3	Kandungan Sirih Merah	9
2.3	Ekstraksi	10
2.4	Nekrosis Pulpa	10
2.4.1	Pengertian Nekrosis Pulpa	10
2.4.2	Etiologi Nekrosis Pulpa	10
2.4.3	Patogenesis Nekrosis Pulpa	12
2.4.4	Nekrosis Pulpa pada Anak	12
2.5	Bakteri <i>Mix</i> Saluran Akar Gigi Nekrosis	13
2.5.1	Macam-macam Bakteri <i>Mix</i> Saluran Akar	13
2.5.1.1	Bakteri Anaerob Gram Negatif	13
2.5.1.2	Bakteri Anaerob Gram Positif	14
2.5.2	Struktur Bakteri <i>Mix</i> Saluran Akar	16
2.6	Uji Antibakteri	17
2.6.1	Mekanisme Kerja Antibakteri	17
2.6.2	Metode Uji Antibakteri	18
2.7	Peran Sirih Hijau Dan Sirih Merah Sebagai Antibakteri	20
III. KERANGKA KONSEP DAN HPOTESIS		
3.1	Kerangka Konsep	22
3.2	Hipotesis	24



IV. METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian	25
4.2 Populasi dan Sampel	25
4.2.1 Sampel Penelitian	25
4.2.2 Besar Sampel	25
4.3 Variabel Penelitian	26
4.3.1 Variabel Bebas	26
4.3.2 Variabel Terikat	26
4.3.3 Variabel Terkontrol	26
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian	26
4.4.1 Lokasi	26
4.4.2 Waktu	26
4.5 Alat dan Bahan Penelitian	26
4.5.1 Bahan	26
4.5.2 Alat	27
4.6 Definisi Operasional	28
4.7 Prosedur Penelitian	29
4.7.1. Prosedur Pembuatan Ekstrak	29
4.7.2. Prosedur Pengenceran Ekstrak	30
4.7.3. Prosedur Pengambilan Bakteri <i>Mix</i>	32
4.7.4. Prosedur Identifikasi Bakteri Pewarnaan Gram	32
4.7.5. Prosedur Pengujian Antibakteri Dilusi Agar	33
4.8 Alur Penelitian	36
4.9 Analisa Data	37
4.9.1. Metode Analisa Data	37



V. HASIL PENELITIAN

5.1 Hasil Penelitian	38
5.2 Analisis Data	42
5.2.1 Uji Normalitas	42
5.2.2 Uji <i>Kruskall Wallis</i>	42
5.2.3 Uji <i>Mann Whitney</i>	42

VI. PEMBAHASAN

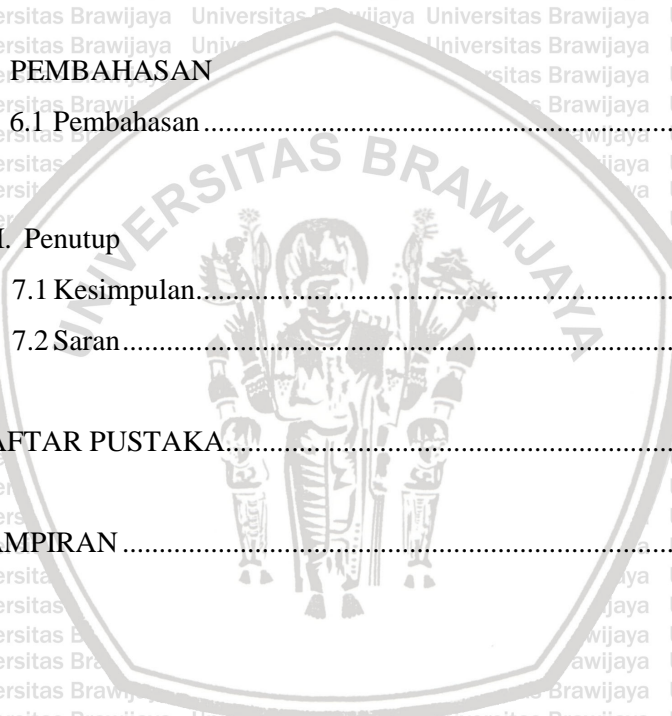
6.1 Pembahasan	44
----------------------	----

VII. Penutup

7.1 Kesimpulan	52
7.2 Saran	52

DAFTAR PUSTAKA	53
----------------------	----

LAMPIRAN	61
----------------	----



DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Definisi Operasional	29
Tabel 5.1 Derajat Pertumbuhan Bakteri Mix Saluran Akar Gigi Sulong Non Vital Setelah Diberi Ekstrak Daun Sirih Hijau 0,5%, Ekstrak Daun Sirih Merah 6,5%, Dan 0% Ekstrak	40
Tabel 5.2 Ringkasan Hasil Uji Mann Whitney	44



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Daun Sirih Hijau 6

Gambar 2.2 Daun Sirih Merah 8

Gambar 3.1 Kerangka Konsep 22

Gambar 4.1 Alur Penelitian 36

Gambar 5.4 Diagram Rata-rata Skor Pertumbuhan Bakteri Mix Saluran
Akar Gigi Sulung Non Vital Setelah Diberi Ekstrak Daun Sirih Hijau
0,5%, Ekstrak Daun Sirih Merah 6,5% dan Kontrol 41



DAFTAR SINGKATAN

BHI	: <i>Brain Heart Infussion</i>
CFU/mL	: <i>Colony Forming Unit/</i> mililiter
DNA	: <i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
EDTA	: <i>Ethylenediaminatetraacetic Acid</i>
H ₂ O ₂	: Hidrogen Peroksida
IKGA	: Ilmu Kedokteran Gigi Anak
KBM	: Konsentrasi Bunuh Minimum
KHM	: Konsentrasi Hambar Minimum
MHA	: <i>Mueller Hinton Agar</i>
NaOCl	: Natrium Hipoklorit
nm	: nanometer
RISKESDAS	: Riset Kesehatan Dasar
RNA	: <i>Ribonucleic Acid</i>
RS	: Rumah Sakit
UB	: Universitas Brawijaya



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Hasil Pewarnaan Gram	61
Lampiran 2 Hasil Uji Antibakteri Dilusi Agar	64
Lampiran 3 Hasil Pengambilan Bakteri Mix Saluran Akar	67
Lampiran 4 Hasil Analisa Data	68
Lampiran 5 Lembar Kelayakan Etik	72
Lampiran 6 Lembar Determinasi Tanaman Sirih Hijau dan Sirih Merah	73



ABSTRAK

Fauzan, Farah Maudya, 2019. *Uji Efektivitas Ekstrak Daun Sirih Hijau (Piper betle L.) 0,5% dan Ekstrak Daun Sirih Merah (Piper crocatum) 6,5% terhadap Bakteri Mix Saluran Akar Gigi Sulung Non Vital secara In Vitro*. Skripsi, Program Studi Pendidikan Dokter Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) drg. Ambar Puspitasari, Sp.KGA. (2) drg. Edina Hartami, Sp.KGA.

Latar Belakang: gigi sulung memiliki morfologi tanduk pulpa yang lebih tinggi dan enamel yang lebih tipis dibandingkan gigi permanen menyebabkan invasi bakteri lebih mudah, sehingga menyebabkan lebih cepat karies dan meluas menjadi nekrosis pulpa. Beberapa bahan irigasi saluran akar memiliki efek toksisitas terhadap jaringan, oleh karena itu dikembangkan bahan alami sebagai bahan irigasi saluran akar alternatif, salah satunya yaitu daun sirih hijau 0,5% dan sirih merah 6,5%. **Tujuan:** mengetahui efektifitas ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) 0,5% dan ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) 6,5% dalam menghambat pertumbuhan bakteri *mix* saluran akar gigi sulung non vital secara *in vitro*. **Metode:** jenis penelitian ini adalah *post test only control group design* secara *in vitro* menggunakan metode dilusi agar yang dibagi dua kelompok ekstrak daun sirih hijau 0,5% dan ekstrak daun sirih merah 6,5% dengan kontrol negatif 0% dengan menggunakan 12 sampel bakteri *mix* saluran akar. **Hasil:** hasil uji *Mann Whitney* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara rata-rata efek ekstrak daun sirih merah 6,5% dan ekstrak daun sirih hijau 0,5%. **Kesimpulan:** ekstrak daun sirih merah 6,5% lebih efektif dibandingkan ekstrak daun sirih hijau 0,5% dalam menghambat pertumbuhan bakteri *mix* saluran akar gigi sulung non vital secara *in vitro*.

Kata Kunci : gigi sulung non vital, nekrosis pulpa, bakteri *mix* saluran akar, daun sirih hijau, daun sirih merah, irigasi saluran akar.



ABSTRACT

Fauzan, Farah Maudya. 2019. *Effectiveness Test of 0,5% Green Betel Leaf Extract (Piper betle L.) and 6,5% Red Betel Leaf Extract (Piper crocatum) on the Mixed Bacteria of Non Vital Deciduous Tooth Root In Vitro Study*. Thesis, Dentistry Program, Faculty of Dentistry, Brawijaya University. Supervisors: (1) drg.Ambar Puspitasari, Sp.KGA. (2) drg.Edina Hartami, Sp.KGA

Background: primary teeth have a higher pulpal horn morphology and enamel thinner than permanent teeth causes easier bacterial invasion, causing caries faster and extending to pulp necrosis. Some root canal irrigation materials have a toxic effect on tissue, therefore natural materials are developed as alternative root canal irrigation materials, one of which is green betel leaf 0.5% and red betel leaf 6.5%. **Objective:** to determine the effectiveness of 0.5% green betel leaf (Piper betle L.) extract and red betel leaf extract (Piper crocatum) 6.5% in inhibiting the growth of mix bacterial root canals in non vital deciduous teeth in vitro. **Methods:** this type of research was post test only control group design using in vitro solid dilution method which was divided into two groups of 0.5% green betel leaf extract and 6.5% red betel leaf extract with negative control 0% using 12 bacterial samples mix root canals. **Results:** Mann Whitney test results showed that there were significant differences between the average effect of 6.5% red betel leaf extract and 0.5% green betel leaf extract. **Conclusion:** 6.5% red betel leaf extract was more effective than 0.5% green betel leaf extract in inhibiting the growth of mix bacterial root canals of non vital deciduous teeth in vitro.

Keyword : non vital deciduous teeth, pulp necrotic, mix bacterial root canals, green betel leaf, red betel leaf, root canal irrigation.

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kesehatan telah menjadi hal utama dalam kehidupan manusia, termasuk didalamnya adalah kesehatan gigi dan mulut (Marimbun dkk., 2016). Pada tahun 2013 Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) mendapatkan data bahwa prevalensi masalah gigi dan mulut adalah 25,9% dan penyakit gigi dan mulut yang hampir dialami oleh seluruh penduduk Indonesia adalah karies (Kemenkes RI, 2013).

Karies gigi juga dialami oleh anak-anak di dunia sekitar 60%-90% (Pratiwi dkk., 2016). Anak kelompok umur 6-12 tahun ini merupakan kelompok yang rentan terhadap karies gigi dan apabila tidak segera dirawat dapat bertambah parah menjadi nekrosis pulpa. Usia ini rentan mengalami karies karena gigi sulung memiliki morfologi tanduk pulpa yang lebih tinggi dan enamel yang lebih tipis dibandingkan gigi permanen. Hal ini menyebabkan invasi bakteri lebih mudah, sehingga menyebabkan kerusakan struktur gigi sulung menjadi lebih cepat (Kidd dan Bechal, 2012).

Karies yang meluas ke daerah pulpa dan menyebabkan pulpa terbuka dapat membentuk daerah nekrosis yang akhirnya banyak bakteri yang berkoloni dan menetap didalamnya. Pada jaringan yang nekrosis terdapat beberapa bakteri *mix* yang berkoloni yaitu bakteri aerob dan anaerob flora normal rongga mulut. Bakteri anaerob obligat merupakan bakteri yang dominan di dalam jaringan pulpa yang nekrosis, dengan jumlah bakteri anaerob fakultatif yang sedikit, serta bakteri aerob yang



jarang ditemui (Torabinejad dkk., 2014). Menurut Yamin dan Natsir (2014) terdapat berbagai jenis bakteri yang terdapat pada saluran akar yang nekrosis antara lain *Acinetobacter calcoaceticus*, *P. Aeruginosa*, *Staphylococcus Aureus*, *Proteus Vulgaris*, *K. Pneumoniae*, *Actinomyces spp.*, dan *Streptococcus spp* (Yamin dan Natsir, 2014). Bakteri *mix* tersebut merupakan penyebab terjadinya nekrosis pulpa.

Pada gigi yang mengalami nekrosis pulpa diindikasikan untuk dilakukan perawatan saluran akar. Keberhasilan suatu perawatan saluran akar dipengaruhi oleh beberapa hal, antara lain *cleaning & shaping*, pengisian saluran akar yang hermetik, dan pemilihan bahan yang memiliki dimensi stabil dan kompatibel terhadap jaringan. Salah satu rangkaian tahap perawatan *cleaning & shaping* yang dianggap penting adalah irigasi saluran akar. Irigasi saluran akar bertujuan untuk menghilangkan jaringan nekrotik, tumpukan serpihan dentin, mengurangi jumlah mikroorganisme dan membasahi saluran akar gigi sehingga mempermudah dalam pelaksanaan preparasi (Torabinejad dkk., 2014).

Beberapa bahan yang biasa digunakan sebagai bahan irigasi adalah natrium hipoklorit (NaOCl), hidrogen peroksida (H₂O₂), EDTA, khlorheksidin. Bahan-bahan tersebut diketahui memiliki efek samping toksisitas yang dapat merusak jaringan (Torabinejad dkk., 2014). Oleh karena itu beberapa bahan alami dapat dikembangkan sebagai bahan irigasi saluran akar alternatif, salah satunya yaitu daun sirih.

Daun sirih merupakan tanaman obat yang banyak tumbuh di Indonesia. Masyarakat Indonesia sendiri telah menggunakan daun sirih sebagai obat tradisional untuk menguatkan gigi. Tanaman sirih memiliki



berbagai macam varietas warna daun diantaranya sirih hijau, sirih merah, sirih kuning, sirih hutan, sirih perak dan sirih hitam (Utami dkk., 2015).

Daun sirih hijau mengandung fenol dan beberapa derivatnya yang sebagian besar mengandung *Euganol allypyrocatechine*, *Cineol methyl euganol* dan *Caryophyllen*, kavikol, kavibekol, estragol, terpinen. Senyawa ini turunan dari fenol yang memiliki daya antibakteri lima kali lipat dari senyawa fenol biasa (Syahrinastiti dkk., 2015). Selain daun sirih hijau, daun sirih merah juga memiliki kandungan senyawa aktif yang berkhasiat sebagai antibakteri seperti fenol, flavonoid, alkanoid, saponin dan tanin (Pasril dan Yuliasanti, 2014).

Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa ekstrak etanol daun sirih hijau lebih efektif menghambat pertumbuhan *Streptococcus viridans* dibandingkan ekstrak daun sirih merah (Mariyatin, 2012). Penelitian pendahuluan yang dilakukan Puspita (2016) menyebutkan rata-rata nilai KHM ekstrak daun sirih hijau yaitu 0,5% sedangkan ekstrak daun sirih merah 6,5% terhadap bakteri *mix* saluran akar gigi sulung yang nekrosis. Pengambilan sampel pada penelitian tersebut berasal dari satu elemen gigi sulung anterior rahang atas yang nekrosis pada pasien anak di Departemen Ilmu Kedokteran Gigi Anak Rumah Sakit Universitas Brawijaya (Puspita, 2016).

Berdasarkan latar belakang di atas, penulis ingin meneliti lebih lanjut mengenai efektifitas antibakteri daun sirih hijau (*Piper betle L.*) 0,5% dan daun sirih merah (*Piper crocatum*) 6,5% terhadap bakteri *mix* saluran akar gigi sulung non vital secara *in vitro* dengan menggunakan



beberapa sampel bakteri *mix* saluran akar yang berasal dari beberapa pasien anak.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat perbedaan efektifitas antibakteri ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) 0,5% dan ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) 6,5% dalam menghambat pertumbuhan bakteri *mix* saluran akar gigi sulung non vital secara *in vitro*?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui efektifitas ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) 0,5% dan ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) 6,5% dalam menghambat pertumbuhan bakteri *mix* saluran akar gigi sulung non vital secara *in vitro*.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Menghitung jumlah koloni bakteri *mix* saluran akar gigi sulung non vital setelah diberikan ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) 0,5%.
2. Menghitung jumlah koloni bakteri *mix* saluran akar gigi sulung non vital setelah diberikan ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) 6,5%.
3. Mengetahui perbedaan jumlah koloni bakteri *mix* saluran akar gigi sulung non vital setelah diberikan ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) 0,5% dan ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) 6,5%.



1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

1. Dapat memberikan banyak informasi ilmu pengetahuan mengenai bahan antibakteri yang berasal dari daun sirih hijau dan daun sirih merah sebagai bahan irigasi saluran akar.
2. Dapat digunakan sebagai dasar penelitian selanjutnya dalam bidang bahan irigasi saluran akar.

1.4.2 Manfaat Praktis

Dapat dijadikan alternatif bagi perusahaan obat maupun tenaga kesehatan untuk menciptakan suatu alternatif baru sebagai antibakteri bahan irigasi saluran akar.



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Sirih Hijau

2.1.1. Klasifikasi Sirih Hijau

Sirih hijau merupakan salah satu tanaman obat yang dikenal oleh masyarakat awam yang termasuk dalam kelompok tanaman obat yang mencapai lebih dari 1000 jenis (Syahrinastiti, 2015). Tanaman sirih hijau dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

- Kingdom : Plantae
- Divisi : Magnoliopsida
- Kelas : Dicotyledonae
- Ordo : Piperales
- Famili : Piperaceae
- Genus : *Piper*
- Spesies : *Piper betle* Linn (Faiha, 2015)



Gambar 2.1 Daun sirih Hijau (Saini ,2012)

2.1.2. Morfologi Sirih Hijau

Tanaman daun sirih hijau adalah tanaman merambat dan bercabang yang tingginya mencapai 10-15 meter (Shah dkk., 2016). Daun sirih hijau memiliki panjang daun sekitar 8-16 cm dan lebar 6-12 cm. Warna daun hijau hingga hijau tua, daun berbentuk hati lebar dengan alas bundar. Lamina tebal dan permukaan halus dan licin. Panjang tangkai daun sepanjang 1,5 -4,5 cm. Daun sirih hijau memiliki aroma yang khas (Saini dkk., 2016).

2.1.3. Kandungan Sirih Hijau

Kandungan utama daun sirih hijau adalah minyak atsiri, mengandung dua fenol, betelphenol (chavibetol) dan chavicol. Daun dilaporkan menghasilkan alkaloid: arakene, dengan sifat yang mirip dengan kokain. Minyak mudah menguap, 0,8 - 1,8% - chavicol, betelphenol, eugenol, allyl pyrocatechin, terpene, cineol, caryophyllene, cadinene, menthone. Komposisi kimiawi minyak atsiri berbeda: safrole dalam daun, tangkai, batang dan akar, β -phellandrene dalam buahnya (Shah dkk., 2016). Daun sirih hijau ditemukan juga mengandung zat kimia fenol, tannin, dan flavonoid (Devjani dan Barkha, 2011).

2.2. Sirih Merah

2.2.1. Klasifikasi Sirih Merah

Sirih merah merupakan tanaman yang termasuk ke dalam famili *Piperaceae* dan berdasarkan kekerabatannya tanaman ini satu genus dengan sirih hijau (*Piper betle* Linn.). Sirih merah lebih dikenal sebagai tanaman hias yang tumbuh merambat di pagar atau pohon. Namun pada tahun-tahun terakhir ini, sirih merah mulai dimanfaatkan sebagai tanaman



obat (Fadlilah, 2015). Klasifikasi tanaman sirih merah dalam taksonomi adalah sebagai berikut:

- Kingdom : Plantae
- Sub Kingdom : Tracheobionta
- Super Devisio : Spermatophyta
- Devisio : Magoliophyta
- Kelas : Magoliopsida
- Sub Kelas : Magolidae
- Ordo : Piperales
- Familia : Piperaceae
- Genus : *Piper*
- Spesies : *Piper crocatum Ruiz & Pav.* (Fadlilah, 2015)



Gambar 2.2 Daun Sirih Merah (Septiawan, 2014)

2.2.2 Morfologi Sirih Merah

Daun sirih merah berwarna hijau dengan campuran warna merah muda. Bentuk daunnya seperti jantung hati dan pada ujung daun meruncing, mengkilat dan tidak merata, tepinya rata, permukaannya mengkilat, bila dirobek daun mengeluarkan lendir, terasa pahit dan memiliki aroma yang harum. Tanaman ini dapat tumbuh subur pada tempat yang teduh, sejuk dengan cahaya matahari 60%-75% seperti di daerah pegunungan. Panjang daun sirih merah yaitu 15-20 cm. Warna daun pada bagian atas yaitu hijau dengan corak-corak putih keabu-abuan. Sedangkan pada bagian bawah daun berwarna merah hati cerah. Tanaman ini memiliki batang berwarna hijau kemerahan dengan permukaannya berkerut. Batangnya bersulur dan beruas dengan jarak buku 5-10 cm. Bakal akar tumbuh disetiap buku batang (Fadlilah, 2015).

2.2.3 Kandungan Sirih Merah

Daun sirih merah memiliki kandungan senyawa aktif yaitu flavonoid, alkanoid, polifenolat, tanin dan minyak atsiri (Pasril, 2014). Kandungan senyawa kimia pada daun sirih merah memiliki kesamaan dengan kandungan kimia daun sirih hijau, keduanya memiliki kandungan minyak atsiri yang terdiri dari kavikol, eugenol, flavonoid dan tanin. Namun keduanya juga memiliki perbedaan yaitu banyaknya kandungan minyak atsiri yang terkandung dalam daun sirih hijau dan daun sirih merah. Kandungan minyak atsiri pada daun sirih hijau lebih besar dari daun sirih merah (Mariyatn dkk., 2014).



2.3. Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan zat terlarut (solute) melalui dua buah pelarut yang dapat melarutkan zat tersebut tetapi kedua pelarut ini tidak saling bercampur (Firmansyah dkk., 2016). Metode ekstraksi yang dipilih tergantung pada karakteristik bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Sebelum memilih metode, target ekstraksi perlu ditentukan terlebih dahulu. Salah satu metode yang sering digunakan yaitu maserasi (Mukhriani, 2014).

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industri. Maserasi adalah proses ekstraksi dengan melakukan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu kamar. Teknik ini mempunyai keuntungan mudah dilakukan dan tidak perlu pemanasan sehingga kecil kemungkinan bahan alam menjadi rusak dan terurai (Susanty dan Bachmid, 2016).

2.4. Nekrosis Pulpa

2.4.1. Pengertian Nekrosis Pulpa

Nekrosis pulpa merupakan suatu keadaan kematian pulpa gigi. Kematian pulpa dapat terjadi sebagian maupun seluruhnya. Keadaan ini termasuk inflamasi, tetapi juga dapat disebabkan oleh trauma (Grossman, 2010).

2.4.2. Etiologi Terjadinya Nekrosis Pulpa

Nekrosis pulpa dapat disebabkan oleh beberapa faktor yaitu berupa iritan mikroba, iritan mekanik dan iritan kimia (Torabinejad dkk., 2014).



1. Iritan Mikroba

Mikroorganisme yang terdapat pada jaringan yang karies merupakan sumber utama iritasi terhadap jaringan pulpa. Ketika karies meluas ke pulpa dan menyebabkan pulpa terbuka, jaringan pulpa akan diinfiltrasi secara lokal oleh PMN yang akan membentuk daerah nekrosis likuifaksi di daerah pulpa terbuka. Selain itu, bakteri mampu tinggal menetap di dalamnya pada kurun waktu yang lama sampai akhirnya menjadi nekrosis (Torabinejad dkk., 2014).

2. Iritan Mekanik

Iritan mekanik yang biasa menyebabkan terjadinya nekrosis pulpa adalah trauma. Injuri traumatik dapat disertai atau tidak disertai oleh fraktur mahkota atau akar. Beberapa prosedur kedokteran gigi kadang-kadang juga dapat melukai pulpa. Terbukanya pulpa secara tidak sengaja pada waktu eskavasi struktur gigi yang terkena karies, gerakan gigi yang terlalu cepat pada waktu perawatan ortodontik dan kuretase periodontal yang dalam merupakan iritan-iritan yang berperan terhadap kerusakan jaringan pulpa (Grossman, 2010). Trauma pada gigi dapat menyebabkan nekrosis pulpa dalam waktu segera yaitu hanya dalam beberapa minggu (Apriyono, 2010).

3. Iritan Kimia

Iritan kimia pada pulpa dapat disebabkan berbagai macam zat yang digunakan untuk desentisasi, sterilisasi, pembersih dentin, base, tambahan sementara dan permanen. Zat antibakteri seperti *silver nitrat*, *fenol* dengan atau tanpa kamfer dan *eugenol* dapat menyebabkan perubahan inflamasi pada jaringan pulpa (Torabinejad dkk., 2014).



2.4.3. Patogenesis Nekrosis Pulpa

Pada dasarnya proses terjadinya nekrosis pulpa sama yaitu terjadi perubahan sirkulasi darah di dalam pulpa yang pada akhirnya menyebabkan nekrosis pulpa. Gigi yang mengalami trauma dapat mengakibatkan rusaknya pembuluh darah utama pada apeks dan selanjutnya dapat terjadi dilatasi pembuluh darah kapiler pada pulpa. Kapiler pada pulpa yang telah mengalami dilatasi ini akan diikuti dengan degenerasi kapiler dan mengakibatkan edema pada pulpa. Apabila terjadi kekurangan sirkulasi kolateral pada pulpa, dapat menyebabkan *ischemia infark* sebagian atau total pada pulpa dan menyebabkan respon pulpa terhadap inflamasi rendah. Hal ini menyebabkan kemungkinan bakteri berpenetrasi sampai ke pembuluh darah kecil pada apeks. Semua proses tersebut dapat menyebabkan nekrosis pulpa (Apriyono, 2010).

2.4.4. Nekrosis Pulpa pada Anak

Masalah utama kesehatan gigi dan mulut pada anak adalah karies (Worotitjan, 2013). Karies pada gigi sulung cenderung lebih cepat menyebar, meluas dan lebih parah dalam menyebabkan kerusakan gigi dibandingkan gigi permanen (Ngantung dkk., 2015). Hal ini dapat terjadi karena gigi sulung memiliki rongga pulpa yang relatif lebih besar, tanduk pulpa yang lebih menonjol dan enamel serta dentin yang lebih tipis dari gigi permanen. Pulpa yang terbuka menjadi jalan masuk bakteri yang dapat menyebabkan inflamasi pada pulpa, apabila berlanjut hal ini dapat mengakibatkan nekrosis pulpa (Damayanti dan Kaswindiarti, 2017).



2.5. Bakteri *Mix* Saluran Akar Gigi Nekrosis

2.5.1. Macam-macam Bakteri *Mix* Saluran Akar Gigi Nekrosis

Flora normal rongga mulut sudah dikenal sekitar 500 spesies bakteri, namun dari banyaknya bakteri tersebut hanya sebagian kecil kelompok yang dapat diisolasi dari kamar pulpa yang terinfeksi. Bakteri dominan di dalam ruang pulpa yang terinfeksi yaitu bakteri anaerob obligat, dengan sedikit bakteri anaerob fakultatif dan jarang sekali ditemui bakteri aerob. Bakteri anaerob obligat mampu menyediakan lingkungan yang kondusif bagi pertumbuhan bakteri tersebut. Suatu penelitian yang memeriksa gigi tulus yang telah terinfeksi saluran akarnya ditemukan lebih dari 90% bakterinya adalah anaerob obligat (Torabinejad dkk., 2014).

Bakteri anaerob terbagi menjadi dua yaitu bakteri anaerob gram negatif dan bakteri anaerob gram positif. Berikut beberapa spesies bakteri anaerob yang paling sering ditemukan pada saluran akar (Jawetz dkk., 2016).

2.5.1.2. Bakteri Anaerob Gram Negatif

1) *Bacteroides*

Spesies *Bacteriodes* merupakan bakteri Gram negatif yang dominan terdapat di dalam usus. *Bacteriodes* memiliki karakteristik bacillus non sporadis tetapi bisa juga nampak pleomorfik. Bakteri ini adalah agen infeksi anaerobik berat yang paling umum (Samaranayake, 2012).



2) **Prevotella**

Spesies *Prevotella* adalah bakteri basillus Gram negatif dan dapat nampak seperti batang yang tipis atau kokobasillus. *Prevotella* meliputi spesies yang baru diberi nama dan spesies yang dulu diklasifikasikan ke dalam spesies *Bakteroides* (Jawetz dkk., 2016).

3) **Porphyromonas**

Spesies *Porphyromonas* merupakan bakteri patogen di dalam mulut yang memiliki kemampuan untuk melekat pada permukaan intraoral keras dan atau mukosa mulut. Spesies ini juga sebagai virulen terjadinya penyakit periodontitis dan gingivitis (Carranza, 2015).

4) **Fusobacterium**

Fusobacterium nucleatum merupakan bakteri yang paling sering dijumpai pada penyakit gigi (Noer dkk., 2017). Spesies ini terlibat dalam berbagai penyakit periodontal seperti gingivitis dan periodontitis. Selain itu juga sering dikaitkan dengan infeksi endodontik dan periodontitis periapikal (Han, 2016).

2.5.1.2. Bakteri Anaerob Gram Positif

1) **Actinomyces**

Spesies *Actinomyces* merupakan organisme tanah, bakteri ini berpotensi patogen di dalam mulut manusia dan hewan. *Actinomyces* merupakan komponen utama dari plak gigi, terutama di daerah sekitar gigi, dan diketahui jumlahnya meningkat pada kondisi gingivitis. Spesies ini merupakan bakteri gram positif dan memiliki



struktur filament lembut yang biasa disebut hyfa (Samaranayake, 2012).

2) **Propionibacterium**

Propionibacterium merupakan bakteri Gram positif anaerob obligat. *Propionibacterium acnes* adalah bagian dari flora normal di kulit dan kemungkinan juga diisolasi dari plak gigi. Spesies baru yang termasuk dalam genus ini adalah *P. propionika* (Samaranayake, 2012).

3) **Eubacterium**

Spesies *Eubacterium* adalah jenis bakteri anaerob, pleomorfik, batang Gram positif. Bakteri ini kerap diasosiasikan dengan gejala dan tanda klinis pada penyakit periradikuler (Torabinejad dkk., 2014).

4) **Peptostreptococcus**

Spesies *Peptostreptococcus* adalah spesies kokus Gram positif dengan ukuran dan bentuk yang bervariasi yang ditemukan pada kulit dan merupakan bagian dari flora normal membran mukosa. Spesies ini sering ditemukan pada infeksi campuran akibat flora normal (Jawetz dkk., 2016).

5) **Enterococcus**

Enterococcus faecalis adalah bakteri Gram positif anaerob fakultatif yang tidak membentuk spora (Sari dkk., 2017). Bakteri ini merupakan bakteri tipe kokus yang bersifat resisten didalam mulut dan merupakan penyebab utama kegagalan perawatan saluran akar.



Enterococcus faecalis memiliki resistensi yang tinggi terhadap medikamen saluran akar (Kuntari dkk., 2014).

2.5.2. Struktur Bakteri *Mix* Saluran Akar Gigi Nekrosis

Bakteri adalah mikroorganisme bersel satu dan berkembang biak dengan membelah diri. Ukuran bakteri bervariasi baik penampang maupun panjangnya, tetapi pada umumnya penampang bakteri adalah sekitar 0,7-1,5 μm dan panjangnya sekitar 1-6 μm . Sebagian besar sel bakteri memiliki lapisan pembungkus sel berupa membran plasma, dinding sel. Sejumlah bakteri dapat membentuk kapsul dan lendir, juga flagela dan pili. Berdasarkan bentuknya, bakteri dibagi menjadi 3 yaitu bakteri sferis yang memiliki bentuk kokus atau bulat, bakteri basil yang memiliki bentuk batang dan bakteri spiral (Torabinejad dkk., 2014).

Berdasarkan pewarnaan Gram, jenis bakteri juga dibedakan menjadi bakteri Gram positif dan Gram negatif. Bakteri Gram positif dan Gram negatif diperlihatkan berdasarkan perbedaan dinding selnya. Bakteri Gram positif terdiri dari lapisan peptidoglikan yang membentuk suatu struktur yang tebal dan kaku. Kekakuan pada dinding sel bakteri yang disebabkan oleh lapisan peptidoglikan dan ketebalan peptidoglikan (Jawetz dkk., 2016).

Bakteri Gram negatif mempunyai dua lapisan dinding sel yaitu lapisan luar yang tersusun dari lipopolisakarida dan protein dan lapisan dalam yang tersusun dari peptidoglikan tetapi lebih tipis daripada lapisan peptidoglikan pada bakteri Gram positif. Bakteri Gram negatif lebih rentan terhadap kerusakan mekanik dan kimia (Jawetz dkk., 2016).



2.6. Uji Antibakteri

2.6.1. Mekanisme Kerja Bahan Antibakteri

Antibakteri menurut aktivitasnya terbagi menjadi 2 kelompok, yaitu bakteriostatik (menghambat pertumbuhan bakteri, namun tanpa membunuhnya) dan bakterisida (bersifat membuuh bakteri dalam spektrum yang luas) (Fuadi, 2014). Sedangkan berdasarkan mekanisme kerjanya terbagi menjadi 5 kelompok, yaitu:

1. Menghambat Sintesis Dinding Sel

Bakteri memiliki dinding sel yang berguna untuk mempertahankan bentuk dan ukuran sel. Dinding sel bakteri terdiri dari peptidoglikan. Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubah struktur dinding sel setelah selesai (Fuadi, 2014).

2. Merusak Membran Sel

Menghambat fungsi membran sel dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa (Bangkele, 2015).

3. Menghambat Sintesis Protein

Mekanisme penghambatannya yaitu pada sintesis protein, berikatan pada subunit 30S ribosom bakteri (beberapa terikat juga pada subunit 50S ribosom) dan menghambat translokasi peptidil-tRNA dari situs A ke situs P, serta menyebabkan kesalahan pembacaan mRNA dan mengakibatkan bakteri tidak mampu menyintesis protein vital untuk pertumbuhannya (Maradona, 2013).



4. Menghambat Sintesis Asam Nukleat

Menghambat sintesis asam nukleat adalah cincin A dan B yang memegang peran penting dalam proses interkelasi atau ikatan hidrogen dengan menumpuk basa asam nukleat yang menghambat pembentukan DNA dan RNA (Bangkele dkk., 2015).

5. Menghambat Sistesis Metabolit Esensial

Mekanisme dalam menghambat sistesis metabolit esensial bakteri antara lain dengan adanya kopetitor berupa antimetabolit, yaitu substansi yang secara kompetitif menghambat metabolisme bakteri, karena memiliki struktur yang mirip dengan substrat normal bagi enzim metabolisme (Maradona, 2013).

2.6.2. Metode Uji Antibakteri

Macam-macam uji antibakteri yaitu:

1. Metode Dilusi

Metode dilusi ada dua macam:

a. Dilusi tabung

Metode ini biasanya digunakan untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari suatu antibakteri. Prinsip dari metode ini yaitu menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan sejumlah koloni bakteri yang akan diuji. Setiap tabung diberikan larutan antibakteri yang telah diencerkan, selanjutnya setiap tabung diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan diamati terjadinya kekeruhan tiap tabung. Kosentrasi terendah pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan bakteri menunjukkan KHM dari



antibakteri. Biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasi pada media padat dan diinkubasi selama 24 jam. Tabung dilihat untuk melihat ada pertumbuhan bakteri atau tidak. Konsentrasi terendah dari larutan antibakteri pada media padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri merupakan nilai KBM dari antibakteri tersebut (Sihotang, 2016).

b. Dilusi Agar

Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat. Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Pratiwi, 2016). Pengujian dilakukan dengan cara larutan zat antibakteri dibuat pengenceran kelipatan berbagai variasi konsentrasi. Hasil pengenceran larutan tersebut dicampur dengan media agar yang telah dicairkan kemudian dijaga pada suhu 40°C - 50°C , dengan perbandingan antara larutan zat antibakteri dengan media adalah satu bagian untuk larutan dan sembilan bagian untuk media. Setelah itu, media campuran tersebut dituang ke dalam cawan petri steril ditanamkan dengan suspensi bakteri yang mengandung kira-kira 10^5 - 10^6 CFU/mL, kemudian media cawan petri tersebut dalam posisi terbalik dan diinokulasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Untuk setiap pengenceran digunakan kontrol negatif. Hasil pengamatan konsentrasi hambat minimal (KHM) dibaca sebagai konsentrasi terendah yang menghambat pertumbuhan bakteri, jika terlihat pertumbuhan bakteri tidak jelas atau kabur maka pertumbuhan bakteri dapat dibiakan (Nuraina, 2015).



2. Metode Difusi

Metode difusi meliputi metode cakram (*disk*), metode sumuran (*cup*) dan metode parit (*ditch*). Metode difusi cakram yaitu zat antibakteri dijenuhkan didalam kertas cakram ditanam pada media pembenihan agar padat yang telah dicampur dengan bakteri yang diuji, kemudian diinkubasi dan dilihat adanya area jernih di sekitar kertas cakram yang menunjukkan yang menunjukkan ada tidaknya pertumbuhan bakteri.

Sedangkan metode sumuran yaitu media pembenihan agar yang telah dicampur dengan bakteri uji dibuat sumur yang selanjutnya diisi dengan zat antibakteri kemudian diinkubasi serta diamati area jernih disekitar sumur. Metode parit hampir sama dengan sumuran, perbedaannya yaitu pada media pembenihan agar yang telah dicampur dengan bakteri uji selanjutnya dibuat parit untuk diisi zat antibakteri (Maradona, 2013).

2.7. Peran Sirih Hijau dan Sirih Merah sebagai Antibakteri

Daun sirih hijau mengandung fenol dan beberapa derivatnya memiliki daya antibakteri lima kali lipat dari senyawa fenol biasa (Syahrinastiti dkk., 2015). Senyawa fenol jika berinteraksi dengan dinding sel bakteri akan menyebabkan denaturasi protein dan meningkatkan permeabilitas bakteri. Interaksi antar mikroorganisme dapat mengganggu keseimbangan muatan molekul protein, sehingga terjadi perubahan struktur protein dan dapat terjadi koagulasi. Protein yang mengalami denaturasi dan koagulasi dapat kehilangan aktivitas fisiologis sehingga tidak dapat berfungsi baik. Hal ini dapat menghambat pembentukan dinding sel (Mariyatin, 2014).



Daun sirih hijau dan merah memiliki kandungan flavonoid dan alkaoid yang berguna sebagai antibakteri. Cara kerja flavonoid sebagai antibakteri yaitu dengan membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang dapat mengganggu integritas membran sel bakteri.

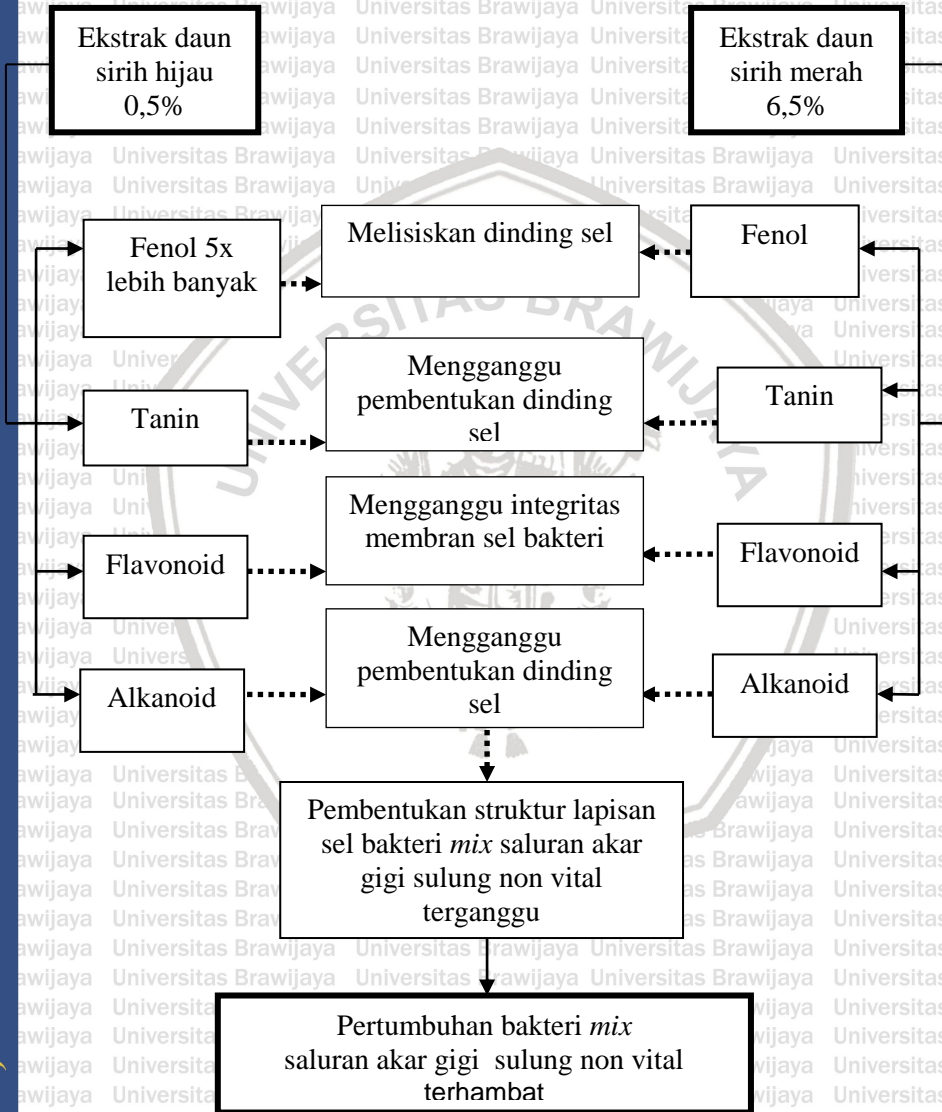
Sedangkan alkanoid bekerja dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga menyebabkan pembentukan dinding sel bakteri yang tidak utuh dan mengakibatkan kematian sel (Fadlilah, 2015)

Kandungan senyawa lain daun sirih hijau dan daun sirih merah adalah tanin yang juga memiliki kemampuan sebagai antibakteri.

Senyawa ini bekerja dengan cara menghambat enzim *reverse* transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk. Tanin juga memiliki target pada pelipeptida dinding sel sehingga mengganggu pembentukan dinding sel bakteri. Hal ini menyebabkan sel bakteri lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga mengakibatkan kematian sel (Ngajow dkk., 2013).

BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

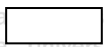
3.1. Kerangka Konsep



Keterangan :



: yang diteliti



: yang tidak diteliti



: menyebabkan



: cara kerja kandungan ekstrak

Kerangka Konsep :

Ekstrak daun sirih hijau dengan konsentrasi 0,5% daun sirih merah dengan konsentrasi 6,5% sama-sama mengandung senyawa aktif antara lain fenol, flavonoid, alkanoid dan tanin. Perbedaan dari keduanya yaitu terdapat pada kandungan fenolnya. Pada daun sirih hijau memiliki kandungan senyawa fenol lima kali lipat lebih banyak dari daun sirih merah.

Senyawa fenol sebagai antibakteri bekerja dengan cara melisiskan dinding sel bakteri. Tanin juga merupakan agen antibakteri yang bekerja dengan cara mengganggu pembentukan dinding sel. Sedangkan flavonoid sebagai agen antibakteri bekerja dengan cara mengganggu integritas membran sel bakteri. Selain itu alkanoid sebagai agen antibakteri memiliki mekanisme kerja yang sama dengan tanin yaitu mengganggu pembentukan dinding sel bakteri.

Melalui serangkaian mekanisme dari aktivitas kandungan senyawa kimia pada daun sirih hijau dan daun sirih merah yaitu fenol, flavonoid, alkaoid dan tanin mengakibatkan terganggunya pembentukan struktur lapisan sel bakteri yang mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan bakteri mix saluran akar gigi sulung non vital.



3.2. Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) 0,5% lebih efektif dibandingkan ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) 6,5% dalam menghambat pertumbuhan bakteri *mix* saluran akar gigi sulung non vital secara *in vitro*.



BAB IV METODE PENELITIAN

4.1. Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan *post test only control group design* dan dilakukan secara *in vitro* dengan metode dilusi agar untuk mengetahui efektifitas antibakteri dari ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) 0,5% dan daun sirih merah (*Piper crocatum*) 6,5% terhadap bakteri *mix* saluran akar gigi sulung non vital.

4.2. Populasi dan Sampel Penelitian

4.2.1. Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah bakteri *mix* saluran akar yang diambil dari beberapa pasien anak di departemen IKGA RS UB dengan kriteria inklusi :

- Subyek penelitian adalah pasien anak dengan rentang usia 4-6 tahun.
- Pasien memiliki gigi sulung anterior rahang atas yang nekrosis.
- Pasien tidak memiliki kelainan periapikal seperti : periodontitis apikalis, abses periapikal, fistula, granuloma periapikal, dan kista periapikal
- Pasien yang tidak sedang menjalani terapi antibiotik.

Sedangkan kriteria eksklusi subyek penelitian :

- Pasien yang tidak kooperatif mengikuti prosedur penelitian.

4.2.2. Besar Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini merupakan bakteri yang berasal dari saluran akar gigi sulung anterior rahang atas pasien anak yang mengalami nekrosis pulpa di RS Universitas Brawijaya. Sampel penelitian ini



diambil dengan menggunakan teknik *Non Random Incidental Sampling*

karena sampel didapat dari subjek yang ditemui menderita nekrosis pulpa dengan memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi (Kusuma, 2010).

4.3. Variabel Penelitian

4.3.1. Variabel Bebas

Ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) dengan konsentrasi 0,5%, daun sirih merah (*Piper crocatum*) dengan konsentrasi 6,5%.

4.3.2. Variabel Terikat

Pertumbuhan bakteri *mix* saluran akar gigi sulung anterior rahang atas yang non vital.

4.3.3. Variabel Terkendali

Suhu dan waktu inkubasi.

4.4. Lokasi dan Waktu Penelitian

4.4.1. Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan Departemen Ilmu Kedokteran Gigi Anak RS Universitas Brawijaya.

4.4.2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari-April 2019.

4.5. Bahan dan Alat/Instrumen Penelitian

4.5.1. Bahan Penelitian

Bahan-bahan penelitian meliputi :

- Ekstrak daun sirih hijau 0,5%
- Ekstrak daun sirih merah 6,5%
- Etanol 96%



- Bakteri *mix* saluran akar gigi sulung non vital

- *Paper point*

- *Thioglycolate*

- MHA

- Spirtus

- Kristal violet

- Alkohol

- Lugol

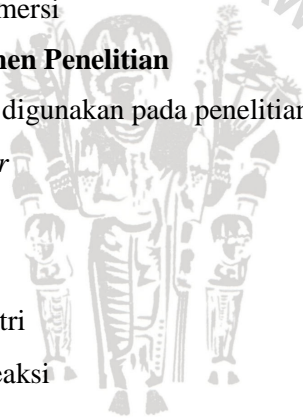
- Safarin

- Minyak emersi

4.5.2. Alat / Instrumen Penelitian

Alat-alat yang digunakan pada penelitian meliputi:

- *Elenmeyer*
- *Autoclave*
- *Incubator*
- Cawan petri
- Tabung reaksi
- mikropipet
- Evaporator
- Ose
- Gelas objek
- Bunsen
- Mikroskop pembesaran objektif 1000x



- Alat-alat pemeriksaan gigi dan mulut: kaca mulut, pinset, sonde half moon, escavator

4.6. Definisi Operasional

Tabel 4.1 Definisi Operasional

Jenis Variabel	Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Cara Pengukuran	Hasil Pengukuran	Skala
Variabel bebas	Ekstrak daun sirih hijau dan daun sirih merah	Ekstrak yang didapatkan atau dibuat dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96% hingga didapatkan ekstrak dengan konsentrasi 100%	Gelas ukur	Melakukan pengenceran dengan mengukur perbandingan antara volume ekstrak dan volume akuades untuk mendapatkan konsentrasi ekstrak daun sirih hijau 0,5% dan ekstrak daun sirih merah 6,5%	Dalam satuan ml	Rasio
Variabel	Bakteri mix	Sejumlah bakteri yang	Spektr ofoto	Diambil dengan	Dalam satuan	Rasio



terikat	saluran akar gigi sulung non vital	terdapat dalam saluran akar gigi sulung anterior rahang atas yang nekrosis pulpa	me-ter	menggunakan <i>paper point</i> no. 25 yang dimasukkan ke dalam saluran akar gigi yang nekrosis pulpa selama 60 detik yang kemudian <i>paper point</i> dimasukkan ke dalam tabung media transport larutan <i>thyoglicollate</i>	CFU/ml
---------	------------------------------------	--	--------	--	--------

4.7. Prosedur Penelitian/Pengumpulan Data

4.7.1. Prosedur Pembuatan Ekstrak Daun Sirih Hijau dan Daun Sirih Merah (Armianty dan Mattulada, 2014)

- a. Membersihkan daun sirih hijau dan daun sirih merah segar sebanyak 1000 gram dari kotoran yang menempel dan cuci dengan air hingga bersih dan ditiriskan.
- b. Daun sirih selanjutnya dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 40-50⁰ C.



- c. Daun sirih yang telah kering, selanjutnya dipotong-potong dengan alat perajang khusus dan ditimbang dengan timbangan simplisia sebanyak 500 gram.
- d. Membuat ekstrak dilakukan dengan cara maserasi, daun sirih dimasukkan ke dalam bejana maserasi secara terpisah kemudian diberi larutan etanol 96% dan pastikan seluruh daun terendam sempurna.
- e. Bejana maserasi kemudian ditutup rapat dan didiamkan selama 2 hari sambil diaduk satu kali setiap hari.
- f. Selanjutnya hasilnya disaring dan dilakukan pengulangan maserasi sebanyak tiga kali terhadap ampasnya
- g. Hasil dari penyaringan dimasukkan ke dalam botol untuk selanjutnya dipekatkan dengan alat *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak etanol yang kental sebanyak 35 ml untuk masing-masing ekstrak.
- h. Selanjutnya ekstrak diuapkan dengan alat *rotary evaporator* pada suhu 70°C untuk menguapkan etanol hingga didapatkan ekstrak kental daun sirih.

4.7.2. Prosedur Pengenceran Ekstrak Daun Sirih Hijau 0,5% dan Daun sirih Merah 6,5% (Hapsari, 2010)

- a. Hasil dari proses ekstraksi daun sirih hijau dan ekstrak daun sirih merah yaitu berupa ekstrak dengan konsentrasi 100% dari masing-masing tanaman.
- b. Melakukan pengenceran pada tiap ekstrak untuk mendapatkan ekstrak daun sirih hijau dengan konsentrasi



0,5% dan ekstrak daun sirih merah 6,5% dengan menggunakan rumus:

$$N1.V1 = N2.V2$$

N1 = Konsentrasi sebelum pengenceran

V1 = Volume sebelum pengenceran

N2 = Konsentrasi setelah pengenceran

V2 = Volume setelah pengenceran

- 1) Pengenceran ekstrak daun sirih untuk 1 ml dari pengenceran 100% murni ekstrak

$$N1.V1 = N2.V2$$

$$100\% \cdot V1 = 0,5\% \cdot 1$$

$$V1 = 0,5\% : 100\%$$

$$V1 = 0,005 \text{ ml}$$

(0,005 ml ekstrak daun sirih hijau, 0,995 ml aquades)

- 2) Pengenceran ekstrak daun sirih merah untuk 1 ml dari pengenceran 100% ekstrak

$$N1.V1 = N2.V2$$

$$100\% \cdot V1 = 6,5\% \cdot 1$$

$$V1 = 6,5\% : 100\%$$

$$V1 = 0,065 \text{ ml}$$

(0,065 ml ekstrak daun sirih merah, 0,935 ml aquades)



4.7.3. Prosedur Pengambilan Bakteri *Mix* Saluran Akar Gigi Sulung yang Nekrosis (Jonathan dkk., 2014)

- a. Dokter gigi muda melakukan *open acces* menggunakan *round bur* untuk membersihkan karies lalu diisolasi menggunakan *cotton roll* steril.
- b. Mengambil *paper point* steril dan dimasukkan ke saluran akar gigi sulung yang non vital selama 60 detik untuk pengambilan spesimen bakteri *mix* saluran akar.
- c. *Paper point* yang berisi bakteri *mix* saluran akar gigi yang non vital dimasukkan dalam tabung media transport larutan *thioglycollate* 1,5 ml.
- d. Sampel bakteri didalam tabung media transport dibawa ke Laboratorium dengan memasukkan ke dalam *cooler box* dan selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.

4.7.4. Prosedur Identifikasi Bakteri *Mix* Saluran Akar yang Dominan dengan Pewarnaan Gram (Fitri dan Yasmin, 2011)

- a. Mengambil akuades ditetaskan pada kaca objek dan ditambahkan 1 ose biakan sampel, lalu difiksasi dengan cara melewati di atas api bunsen.
- b. Meneteskan kristal violet di atas sediaan dan dibiarkan selama 1 menit
- c. Membuang sisa kristal violet dan membilasnya dengan air.
- d. Kemudian meneteskan lugol di atas sediaan dan dibiarkan selama 1 menit.
- e. Membuang sisa lugol dan membilasnya dengan air.



- f. Meneteskan alkohol 96% di atas sediaan selama 10-20 detik.
- g. Membuang sisa alkohol dan membilasnya dengan air.
- h. Meneteskan safarin di atas sediaan selama 20-30 detik.
- i. Membuang sisa safarin dan membilasnya dengan air.
- j. Sediaan dikeringkan dengan kertas serap, kemudian ditetesi dengan minyak emersi dan dilihat di bawah mikroskop dengan lensa objektif pembesaran 100x, sehingga pembesaran total yang digunakan adalah 1000x.
- k. Hasil : bakteri gram positif tercat ungu sedangkan bakteri gram negatif tercat merah.

4.7.5. Prosedur Pengujian Antibakteri Metode Dilusi Agar

4.7.5.1. Pembuatan Agar yang Mengandung Ekstrak Daun Sirih

Hijau 0,5%, Ekstrak Daun Sirih Merah 6,5%, dan MHA (Nuraina, 2015)

- a. Menyiapkan *plate* berdiameter 9 cm yang telah dibagi untuk ekstrak daun sirih hijau 0,5%, *plate* untuk ekstrak daun sirih merah 6,5%, *plate* untuk bahan MHA (*Mueller Hinton Agar*) sebagai kontrol negatif yang diberi label masing-masing bahan dan label nomor sampel dan sebelumnya telah disterilkan.
- b. Hasil pengenceran zat antibakteri dicampur dengan media MHA yang telah dicairkan kemudian dijaga suhunya 40°C-50°C dengan perbandingan antara larutan zat antibakteri dengan media adalah 1 ml untuk zat antibakteri dan 9 ml untuk media agar.



c. Media campuran tersebut dituangkan kedalam cawan petri steril dan dibiarkan dingin hingga membeku.

d. Inkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.

4.7.5.2. Prosedur Pengujian Antibakteri dengan Metode Dilusi Agar (Nuraina,2015)

a. Setiap *Plate* yang berisi campuran MHA dan ekstrak daun sirih hijau 0,5%, *plate* yang berisi campuran MHA ekstrak daun sirih merah 6,5%, dan *plate* yang berisi MHA saja sebagai kontrol negatif telah mengeras keesokan harinya, kemudian masing-masing *plate* dibagi menjadi 2 bagian menggunakan spidol.

b. Meneteskan bakteri pada setiap bagian media agar dengan sampel bakteri yang berbeda.

c. Inkubasi media agar yang telah ditetesi bakteri *mix* selama 18-24 jam pada suhu 37°C .

d. Keesokan harinya, mengamati koloni bakteri yang tumbuh pada media agar.

e. Jumlah koloni pada ekstrak daun sirih hijau 0,5% dan ekstrak daun sirih merah 6,5% tidak dapat dihitung karena batasnya tidak jelas, maka derajat pertumbuhan koloni dapat ditentukan dengan pemberian skor sebagai berikut (Ryley, 2012) :

0 = Tidak ada pertumbuhan bakteri

+1 = Terdapat pertumbuhan koloni tipis, tepi tidak menebal



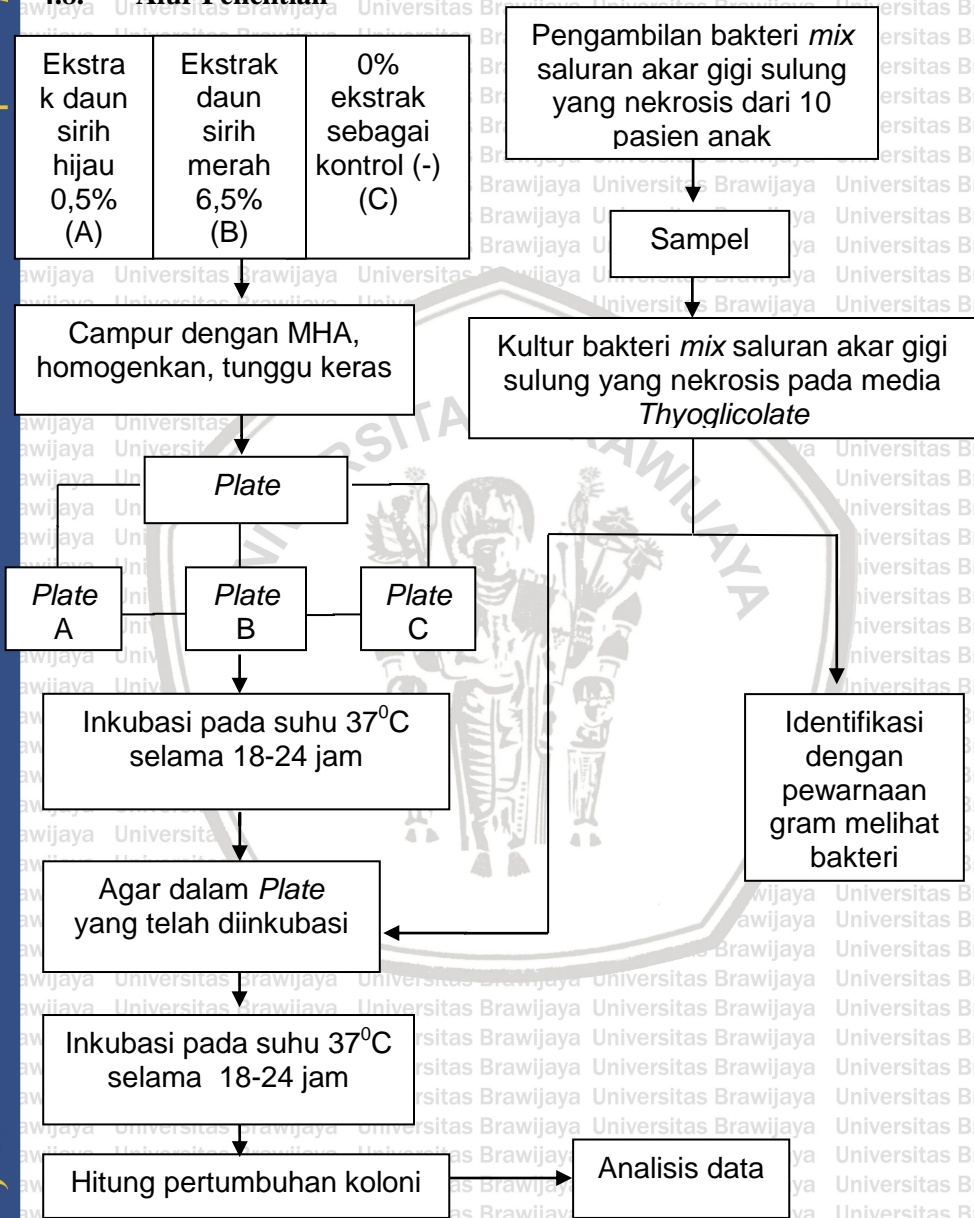
+2 = Terdapat pertumbuhan koloni tipis, tepi mulai menebal

+3 = Terdapat pertumbuhan koloni menebal, tepi tebal

f. Menganalisa data yang telah didapat



4.8. Alur Penelitian

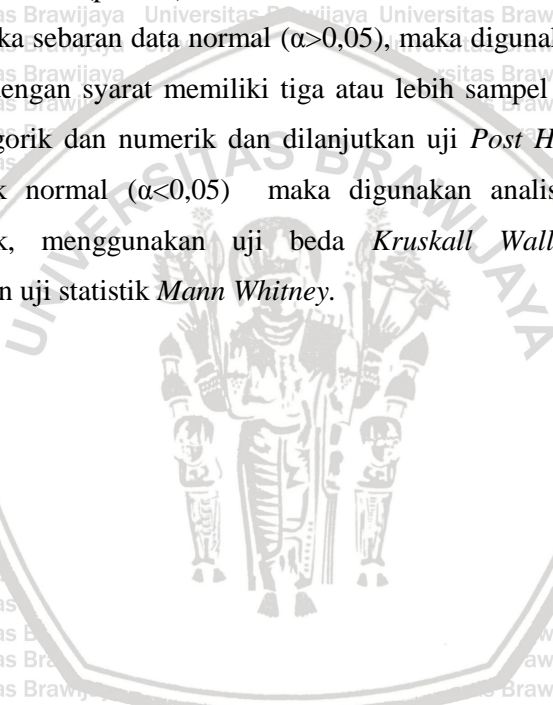


4.9. Analisa Data

4.9.1. Metode Analisis Data

Hasil pengamatan tersebut kemudian dilakukan uji analisis statistik menggunakan uji normalitas dan homogenitas menggunakan *Shapiro-Wilk* dengan syarat sampel kurang dari 50 dengan tingkat signifikansi 0,05 ($p=0,05$).

Jika sebaran data normal ($\alpha>0,05$), maka digunakan uji *One Way ANOVA* dengan syarat memiliki tiga atau lebih sampel bebas dan skala data kategorik dan numerik dan dilanjutkan uji *Post Hoc*. Jika sebaran data tidak normal ($\alpha<0,05$) maka digunakan analisis statistik non parametrik, menggunakan uji beda *Kruskall Wallis*. Setelah itu dilanjutkan uji statistik *Mann Whitney*.



BAB 5 HASIL PENELITIAN

5.1. Hasil Penelitian

Penelitian ini menggunakan dua perlakuan yang terdiri dari ekstrak daun sirih hijau 0,5% dan ekstrak daun sirih merah 6,5% serta 0% ekstrak sebagai kontrol negatif terhadap bakteri *mix* saluran akar gigi sulung anterior rahang atas yang non vital. Uji antibakteri pada penelitian ini yaitu menggunakan metode dilusi agar.

Sampel bakteri *mix* saluran akar gigi sulung non vital pada penelitian ini diperoleh dari 12 pasien anak yang memiliki gigi anterior rahang atas non vital. Berdasarkan hasil identifikasi 12 sampel bakteri *mix* saluran akar gigi sulung non vital yang berasal dari 12 pasien anak dengan pewarnaan Gram menunjukkan bakteri *mix* saluran akar yang berhasil teridentifikasi yaitu terdapat 7 sampel bakteri *mix* berbentuk kokus gram positif dan berbentuk kokus gram negatif (nomor sampel 3,4,6,8,9,10,12), terdapat 1 sampel berbentuk kokus jenis gram positif (nomor sampel 5), dan terdapat 2 sampel bakteri *mix* berbentuk batang gram positif dan berbentuk batang gram positif (nomor sampel 1 dan 7), serta terdapat 2 sampel bakteri *mix* teridentifikasi bakteri berbentuk batang gram positif, berbentuk batang gram negatif, dan berbentuk kokus gram positif (nomor sampel 2 dan 11). Namun identifikasi bakteri dengan pewarnaan Gram belum dapat ditentukan dengan pasti jenis bakteri yang dominan, karena untuk menyimpulkan suatu bakteri dikatakan lebih dominan harus dilakukan identifikasi untuk penghitungan lebih lanjut berdasarkan genus dan spesiesnya.



Pada hasil uji antibakteri dilusi agar ekstrak daun sirih hijau 0,5%, ekstrak daun sirih merah 6,5%, dan 0% ekstrak pada media agar didapatkan pertumbuhan jumlah koloni bakteri *mix* saluran akar tidak terhitung karena batas koloni yang tidak jelas maka untuk mengukur pertumbuhan bakteri digunakan metode skoring (Ryley, 2012). Hasil pengukuran pertumbuhan bakteri *mix* saluran akar gigi sulung non vital dapat dilihat pada tabel 5.1 berikut.

Tabel 5.1 Derajat Pertumbuhan Bakteri Mix Saluran Akar Gigi Sulung Non Vital Setelah Diberi Ekstrak Daun Sirih Hijau 0,5%, Ekstrak Daun Sirih Merah 6,5%, Dan 0% Ekstrak

Morfologi Bakteri <i>Mix</i>	No Sampel	Perlakuan		
		Kontrol (-)	Sirih Hijau 0,5%	Sirih Merah 6,5%
Kokus Gram Positif	5	3	3	1
Kokus Gram Negatif dan Kokus Gram Positif	6	2	2	0
	9	2	2	1
	12	3	3	0
Batang Gram negatif dan Batang Gram Positif	1	3	3	0
	7	3	0	0
Batang Gram negatif, Batang Gram Positif, dan Kokus Gram Positif	2	3	3	3
	11	3	3	3
	Rata-rata	2,75	2,37	1



Keterangan:

0 = Tidak ada pertumbuhan bakteri

+1 = Terdapat pertumbuhan koloni tipis, tepi tidak menebal

+2 = Terdapat pertumbuhan koloni tipis, tepi mulai menebal

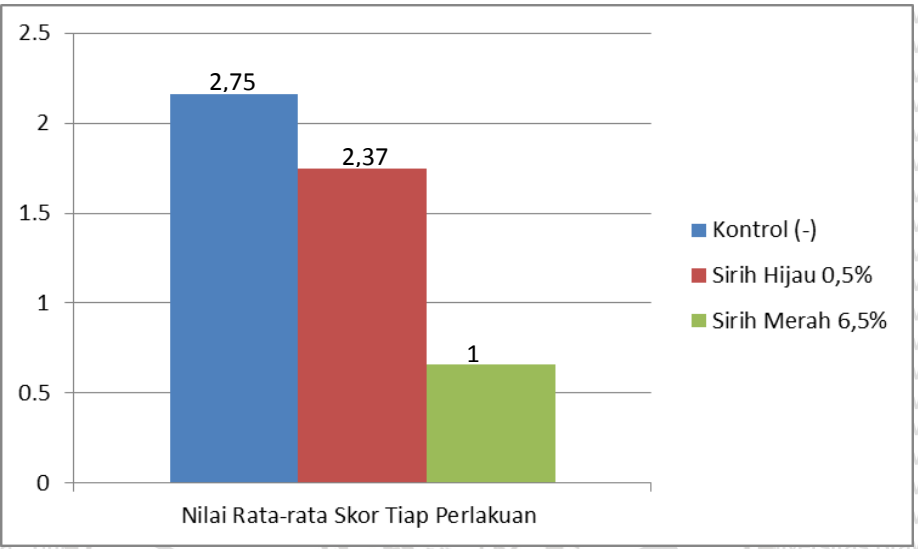
+3 = Terdapat pertumbuhan koloni tebal, tepi tebal

Berdasarkan tabel diatas menunjukkan hasil pengamatan pertumbuhan bakteri *mix* saluran akar gigi sulung non vital pada media MHA tampak adanya perbedaan rata-rata pertumbuhan bakteri *mix* saluran akar pada masing-masing perlakuan yang mewakili pengaruh atau efek dari tiap perlakuan sebagai bahan antibakteri terhadap bakteri *mix* saluran akar gigi sulung non vital.

Pada Tabel juga menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih merah 6,5% memiliki efek antibakteri yang baik pada sampel bakteri campuran dengan morfologi kokus Gram positif dan kokus Gram negative serta pada sampel dengan morfologi batang gram negatif dan batang gram positif.

Pada sampel no 3,4,8, dan 10 tidak dimasukkan dalam hasil pengamatan, karena pada sampel tersebut pertumbuhan bakteri memiliki skor sangat kecil yaitu 1. Sehingga menyebabkan data tidak homogen.





Gambar 5.4 Diagram Rata-rata Skor Pertumbuhan Bakteri Mix Saluran Akar Gigi Sulung Non Vital Setelah Diberi Ekstrak Daun Sirih Hijau 0,5%, Ekstrak Daun Sirih Merah 6,5%, Dan Kontrol (-)

Pada gambar diatas memperlihatkan bahwa nilai rata-rata pertumbuhan bakteri mix saluran akar gigi sulung non vital terbesar terdapat pada kelompok kontrol negatif yaitu sebesar 2,75, selanjutnya yaitu kelompok ekstrak daun sirih hijau 0,5% yang memiliki nilai rata-rata 2,37, dan yang memiliki rata-rata terkecil adalah kelompok ekstrak daun sirih merah 6,5% dengan nilai rata-rata 1. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih merah 6,5% memiliki daya antibakteri yang lebih besar terhadap bakteri mix saluran akar gigi non vital dibandingkan ekstrak daun sirih hijau 0,5%.



5.2. Analisis Data

Pada penelitian ini menggunakan analisis statistik uji normalitas *Shapiro-Wilk*, uji *Kruskall Wallis* dan Uji *Mann Whitney*.

5.2.1. Uji Normalitas Data

Berdasarkan uji normalitas data dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$) yang menunjukkan bahwa data memiliki sebaran tidak normal maka selanjutnya digunakan analisis statistik non parametrik uji beda *Kruskall Wallis*.

5.2.2. Uji *Kruskall Wallis*

Uji *Kruskall Wallis* digunakan untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan pertumbuhan koloni bakteri *mix* saluran akar gigi sulung non vital pada setiap perlakuan. Berdasarkan hasil uji *Kruskall Wallis*, didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,007 ($p < 0,05$) sehingga H_0 ditolak dan dapat diinterpretasikan bahwa terdapat perbedaan efek antibakteri pada setiap perlakuan terhadap pertumbuhan bakteri *mix* saluran akar gigi sulung non vital. Hasil *Kruskall Wallis* dapat dilihat pada lampiran 3.

5.2.3. Uji *Mann Whitney*

Setelah dilakukan uji beda *Kruskall Wallis*, analisis selanjutnya menggunakan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan yang bermakna dan tidak bermakna antar kelompok, dengan cara membandingkan 2 kelompok perlakuan.



Tabel 5.2 Ringkasan Hasil Uji Mann Whitney

Perbandingan antar Perlakuan	Nilai Signifikansi (<i>p</i>)	Keterangan Perbedaan
Kontrol (-)	0,064	Tidak Signifikan
Sirih Hijau 0,5%		
Kontrol (-)	0,003	Signifikan
Sirih Merah 6,5%		
Sirih Hijau 0,5%	0,015	Signifikan
Sirih Merah 6,5%		

Keterangan: $p < 0,05$ = Signifikan
 $p > 0,05$ = Tidak Signifikan

Berdasarkan hasil uji *Mann Whitney* diatas menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan efek antibakteri yang signifikan pada kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan ekstrak daun sirih hijau 0,5%. Sedangkan terdapat perbedaan efek antibakteri yang signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan ekstrak daun sirih merah 6,5%. Selain itu juga terdapat perbedaan efek antibakteri yang signifikan antara kelompok perlakuan ekstrak daun sirih hijau 0,5% dan kelompok perlakuan ekstrak daun sirih merah 6,5%.



BAB 6 PEMBAHASAN

6.1. Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek antibakteri ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) 0,5% dan ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) 6,5% terhadap pertumbuhan bakteri *mix* saluran akar gigi sulung non vital secara *in vitro*. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah dilusi agar, media dengan ekstrak dapat tercampur secara homogen sehingga kontak bakteri dengan ekstrak terjadi secara langsung dan efektif pada metode tersebut (Muntari, 2012).

Menurut Yamin dan Natsir (2014), dalam penelitiannya menyatakan bahwa pertumbuhan jenis bakteri pada gigi yang nekrosis berbeda-beda tergantung dari lingkungan rongga mulut setiap individu, nutrisi pada jaringan nekrosis yang dibutuhkan bakteri untuk tumbuh dan tekanan oksigen yang rendah dalam saluran akar gigi yang nekrosis (Yamin dan Natsir, 2014). Berdasarkan teori tersebut, diyakini bakteri *mix* saluran akar tiap orang berbeda-beda. Sehingga sampel bakteri *mix* penelitian ini diambil lebih dari satu pasien, dan pada penelitian ini didapatkan 12 sampel bakteri *mix* saluran akar yang berasal dari 12 saluran akar gigi sulung anak yg non vital.

Media kultur bakteri pada penelitian ini menggunakan media *Thioglycolate*, karena media ini merupakan media yang digunakan untuk kultur bakteri jenis bakteri anaerob, baik anaerob obligat maupun anaerob fakultatif tanpa diinkubasi dalam *anaerobic jar* (Himedia Laboratoris, 2015). Pada 12 sampel bakteri *mix* yang telah dikultur dengan



Thioglycolate tampak ada pertumbuhan pada media agar. Sehingga dapat disimpulkan bahwa 12 sampel bakteri ini merupakan bakteri anaerob. Hal ini sesuai dengan terori sebelumnya yaitu mikroorganisme pada kasus nekrosis pulpa adalah polimikroba, yang didominasi oleh bakteri anaerob (Mulyawati, 2011).

Berdasarkan hasil pewarnaan gram bakteri mix saluran akar terdapat berbagai jenis bakteri seperti bakteri jenis kokus Gram positif, bakteri kokus Gram negatif, bakteri batang Gram positif, dan bakteri kokus Gram negatif. Dari hasil yang diperoleh belum dapat ditentukan jenis bakteri yang dominan, karena untuk menyimpulkan bakteri lebih dominan harus dilakukan penghitungan lebih lanjut berdasarkan genus dan spesies dari masing-masing bakteri.

Hasil pengamatan didapatkan nilai rata-rata tiap kelompok perlakuan. Kelompok dengan rata-rata tertinggi dimiliki oleh kelompok kontrol yaitu sebesar 2,75; selanjutnya yaitu kelompok ekstrak daun sirih hijau 0,5% dengan nilai rata-rata 2,37, dan yang memiliki rata-rata terkecil adalah kelompok ekstrak daun sirih merah 6,5% dengan nilai rata-rata 1. Pada hasil pengamatan juga menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih merah 6,5% memiliki daya anatibakteri yang baik terhadap bakteri campuran dengan kokus Gram positif dan kokus Gram negatif serta terhadap bakteri campuran batang Gram positif dan batang Gram negatif. Kemungkinan jenis bakteri kokus Gram positif yang dapat dihambat oleh daun sirih merah 6,5% yaitu *Enterococcus*, *Streptococcus* dan *Peptostreptococcus*. Sedangkan untuk jenis bakteri kokus Gram negatif yaitu *Neisseria* dan *Veillonella*. Sealin itu, untuk jenis bakteri batang

Gram positif yang dapat dihambat oleh daun sirih merah 6,5% yaitu *Actinomyces* dan *Lactobacillus*, sedangkan untuk jenis bakteri batang Gram negatifnya yaitu *Fusobacterium*, *Prevotella*, dan *Porphyromonas* (Punathil dkk.,2014; Topcuoglu dkk.,2013; Bjorndal dkk.,2018).

Analisa data yang pertama dilakukan yaitu uji normalitas dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* didapatkan nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) menunjukkan data berdistribusi tidak normal, maka dilanjutkan dengan uji non parametrik yaitu uji beda *Kruskall Wallis*. Hasil uji *Kruskall Wallis* menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,007 ($p < 0,05$) yang berarti ada perbedaan efek pada tiap kelompok perlakuan terhadap pertumbuhan bakteri *mix* sauran akar gigi sulung non vital. Berdasarkan hasil uji *Mann Whitney* menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan rata-rata efek antibakteri yang signifikan pada kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan ekstrak daun sirih hijau 0,5%. Sedangkan terdapat perbedaan rata-rata efek antibakteri yang signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan ekstrak daun sirih merah 6,5%. Selain itu juga terdapat perbedaan rata-rata efek antibakteri yang signifikan antara kelompok perlakuan ekstrak daun sirih hijau 0,5%.

Hasil analisa data menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih merah 6,5% memiliki daya antibakteri yang lebih besar dibandingkan ekstrak daun sirih hijau 0,5% dalam menghambat pertumbuhan bakteri *mix* saluran akar gigi sulung non vital. Sedangkan penelitian sebelumnya yang dilakukan Puspita (2016) menyebutkan bahwa daun sirih hijau lebih efektif dibandingkan daun sirih merah terhadap bakteri *mix* saluran akar yang memiliki bentuk batang gram positif dan batang gram negatif yang



berasal dari 1 pasien anak (Puspita, 2016). Hasil penelitian ini ekstrak daun sirih merah 6,5% memiliki efek antibakteri yang lebih baik dibandingkan ekstrak daun sirih hijau 0,5% pada sampel bakteri *mix* yang jenisnya lebih beragam karena berasal dari 8 sampel yang berbeda dan teridentifikasi memiliki bentuk kokus gram positif, kokus gram negatif, batang gram positif dan batang gram negatif. Perbedaan hasil dari penelitian ini dengan penelitian Puspita dapat dipengaruhi perbedaan komposisi jenis bakteri *mix* yang diujikan dari kedua penelitian tersebut. Uraian diatas menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih merah 6,5% memiliki efek antibakteri terhadap jenis bakteri yang lebih beragam dibanding ekstrak daun sirih hijau 0,5%. Hal tersebut didukung oleh beberapa penelitian sebelumnya sebagai berikut.

Armianty (2014) menyebutkan bahwa ekstrak daun sirih merah mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*, yang merupakan salah satu bakteri penyebab nekrosis pulpa yang termasuk bakteri anaerob dengan bentuk kokus gram positif (Armianty dan Mattulada 2014). Penelitian Rachmawaty (2018) juga menyebutkan ekstrak daun sirih merah berdaun merah memiliki efek antibakteri yang lebih baik terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dibandingkan yang berdaun hijau (Rachmawaty dkk., 2018), dan diketahui *Staphylococcus aureus* juga salah satu bakteri anaerob yang ditemukan pada saluran akar gigi yang nekrosis dengan bentuk kokus Gram positif (Yamin dan Natsir 2014). Penelitian yang dilakukan Sindy (2014) juga menyebutkan bahwa ekstrak daun sirih merah memiliki daya antibakteri terhadap *Porphyromonas gingivalis* yang merupakan bakteri anaerob bentuk



batang Gram negatif (Sendy dkk.,2014). Menurut Syahrinastiti (2015) juga menyebutkan bahwa ekstrak daun sirih merah memiliki daya antibakteri yang lebih baik terhadap *Escherichia coli* yang merupakan bakteri anaerob berbentuk batang Gram negatif dibandingkan ekstrak daun sirih hijau. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih merah memiliki daya antibakteri yang baik terhadap jenis bakteri Gram positif maupun negatif. Daun sirih merah 6,5% sebagai antibakteri dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dengan menembus dinding sel, dinding sel bakteri Gram positif memiliki susunan sederhana terdiri dari 60-100% peptidoglikan, yang terbuat dari N-asetil glukosamin dan N-asetil muramat. Susunan dinding sel yang tipis dan tidak adanya selaput luar menyebabkan senyawa antibakteri pada daun sirih merah 6,5% dapat dengan mudah menembus dinding sel dan mengganggu proses biosintesis dinding sel bakteri Gram positif, dan menyebabkan kematian sel (Rizkita, 2017).

Sedangkan dinding sel bakteri Gram negatif memiliki lapisan yang dinding sel yang lebih tebal dan berlapis-lapis sehingga menyebabkan bakteri Gram negatif lebih resisten terhadap beberapa bahan antibakteri (Septiani dkk., 2017), namun pada penelitian Syahrinastiti (2015) membuktikan bahwa sirih merah mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif *Escherichia coli* (Syahrinastiti, 2015). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian ini bahwa ekstrak daun sirih merah 6,5% juga efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif. Daun sirih merah 6,5% efektif menghambat bakteri Gram negatif diduga karena kandungan



peptidoglikan pada dinding sel bakteri gram negatif yang sedikit sehingga mempengaruhi permeabilitas dinding sel bakteri yang lebih tinggi dan menyebabkan zat aktif daun sirih merah 6,5% lebih mudah menembus membran sel bakteri. Keadaan ini menyebabkan sel bakteri lisis dan menyebabkan kematian bakteri (Ngaisah, 2010). Berdasarkan teori diatas berkesinambungan dengan hasil penelitian ini, bahwa ekstrak daun sirih merah 6,5% memiliki daya antibakteri yang lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *mix* saluran akar gigi sulung non vital dengan jenis bakteri *mix* yang lebih beragam dibandingkan ekstrak daun sirih hijau 0,5%.

Efek antibakteri ekstrak daun sirih merah 6,5% yang lebih besar dibanding ekstrak daun sirih hijau 0,5% dipengaruhi oleh kandungan kadar eugenol daun sirih merah (10,11%) yang lebih tinggi dibandingkan daun sirih hijau (3,72%). Eugenol merupakan turunan minyak atsiri yang juga memiliki kemampuan antibakteri yang sama seperti fenol. Meskipun diketahui daun sirih hijau memiliki kandungan fenol lima kali lebih banyak dibanding daun sirih merah, tetapi pada konsentrasi daun sirih hijau 0,5% kandungan fenol menjadi lebih sedikit. Sehingga hal ini dapat mengurangi efektifitas ekstrak daun sirih hijau 0,5% sebagai antibakteri terhadap jenis bakteri *mix* yang lebih beragam (Lilik dkk., 2012). Mekanisme kerja eugenol sebagai antibakteri yaitu dengan menghancurkan dinding sel, juga merusak membran plasma dan protein membran serta mengeluarkan isi sel. Sifat hidrofobisitas eugenol dapat memisahkan lipid dari membran sel dan mitokondria bakteri dan



mengubah struktur untuk meningkatkan penetrasi melalui membran sel (Repi dkk., 2016).

Selain eugenol daun sirih merah dan daun sirih hijau juga mengandung senyawa fenol dan tannin yang juga memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Fenol jika berinteraksi dengan dinding sel bakteri akan menyebabkan denaturasi protein dan meningkatkan permeabilitas bakteri. Protein yang mengalami denaturasi dan koagulasi dapat kehilangan aktivitas fisiologis sehingga tidak dapat berfungsi baik. Hal ini dapat menghambat pembentukan dinding sel (Mariyatin, 2014).

Senyawa tannin bekerja dengan cara menghambat enzim *reverse* transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk. Selain itu tannin juga memiliki target pada pelipeptida dinding sel bakteri sehingga mengganggu pembentukan dinding sel bakteri. Hal ini menyebabkan sel bakteri lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga mengakibatkan kematian sel (Ngajow dkk., 2013).

Zat antibakteri lainnya yang terdapat pada daun sirih merah dan hijau yaitu flavonoid dan alkanoid. Flavonoid bekerja membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang dapat mengganggu integritas membran sel bakteri. Sedangkan alkanoid bekerja dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga menyebabkan pebetukan dinding sel bakteri yang tidak utuh dan mengakibatkan kematian sel (Fadlilah, 2015).

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan yaitu terdapat 4 sampel bakteri mix yang tidak diikutsertakan dalam hasil penelitian ini, dikarenakan pada kontrol negatif keempat sampel memiliki skor sangat



kecil, menyebabkan hasil penelitian tidak homogen. Hal ini dapat terjadi karena penyimpanan sampel bakteri yang terlalu lama dan nutrisi media kultur tidak mencukupi menyebabkan kematian bakteri atau sedikit pertumbuhan bakteri pada media kultur saat dilakukan uji antibakteri. Selain itu, penelitian tidak dilakukan pengulangan, sehingga hasil penelitian dapat mengalami bias, belum diketahui jumlah kadar senyawa aktif pada ekstrak daun sirih hijau 0,5% dan ekstrak daun sirih merah 6,5% dan senyawa aktif mana yang memiliki efek terbesar dalam menghambat pertumbuhan bakteri *mix* saluran akar gigi sulung non vital.

Dalam penelitian ini juga belum dilakukan identifikasi bakteri *mix* saluran akar gigi sulung yang nekrosis secara menyeluruh, sehingga belum dapat dipastikan jenis bakteri *mix* saluran akar yang dapat dihambat pertumbuhannya oleh ekstrak daun sirih hijau 0,5% dan ekstrak daun sirih merah 6,5%.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai referensi bagi peneliti lebih lanjut terutama sebagai bahan alternatif irigasi saluran akar sehingga dapat mencegah terjadinya infeksi lebih lanjut karena kondisi saluran akar yang tidak steril atau masih terdapat bakteri pada saat tahap pengisian saluran akar. Penelitian lebih lanjut masih diperlukan untuk mengetahui dosis efektif secara umum, toksisitas dan efek samping yang dihasilkan oleh ekstrak daun sirih hijau dan ekstrak daun sirih merah secara *in vivo* sebelum dapat diaplikasikan ke masyarakat.



BAB VII PENUTUP

7.1. Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa :

1. Ekstrak daun sirih merah 6,5% lebih efektif dibandingkan ekstrak daun sirih hijau 0,5% dalam menghambat pertumbuhan bakteri *mix* saluran akar gigi non vital.
2. Daya antibakteri ekstrak daun sirih hijau 0,5% kurang efektif dalam menghambat koloni pertumbuhan bakteri *mix* saluran akar gigi sulung non vital.
3. Daya antibakteri ekstrak daun sirih merah 6,5% efektif dalam menghambat pertumbuhan koloni bakteri *mix* saluran akar gigi sulung non vital.

7.2. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai penggunaan ekstrak daun sirih hijau 0,5% dan ekstrak daun sirih merah 6,5% sebagai bahan irigasi saluran akar dalam bidang kedokteran gigi secara *in vivo*.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai penggunaan ekstrak daun sirih hijau dan daun sirih merah sebagai bahan irigasi saluran akar gigi sulung posterior yang non vital.



DAFTAR PUSTAKA

- Apriyono DK. Kedaruratan Endodonsia. *Stomatognatic (J.K.G. Unej)*, 2010, 7(2): 46.
- Armianty., Mattulada IK. Efektifitas Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle Linn.*) terhadap Bakteri *Enterococcus faecalis*. *Dentofacial*, 2014, 13(1): 18.
- Bangkele EY, Nursyamsi, Greis S. Efek Anti Bakteri dari Ekstrak Lengkuas Putih (*Alpinia galangan {L} Swartz*) terhadap *Shigella dysenteriae*. *Jurnal Kesehatan Tadulako*, 2015, 1(2):58.
- Bjorndal L, Kirkevang LL, Whitworth J. *Textbook of Endodontic 3th Edition*. Wiley Blackwell: West Sussex, 2018, p 126-127.
- Carranza, F.A., Newman, M.G., Takel, H.H., dan Klokkevold, P.R.: 2015. *Carranza's Clinical Periodontology 12th Edition*. Canada: Elsevier, p:136.
- Damayanti A., Kaswindiarti S. Perawatan Pulpektomi Non Vital pada Gigi Desidui Anterior Maksila. *Jurnal Ilmu Kedokteran Gigi*, 2017, 1(1): 58.
- Devjani C, Barkha S. Antimicrobial, Antioxidative and Antihemolytic Activity of Piper Betle Leaf Extract. *International Journal Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2011, 3(3): 193.
- Fadlillah M. Benefit Of Red Betel (*Piper Crocatum Ruiz & Pav.*) As Antibiotics. *J Majority*, 2015, 4(3): 72-73.



Faiha A. Apotek Hidup: Cara Tanam Apotek Hidup Racikan Ampuh

Tanaman. Obat Penyembuh Segala Penyakit. Jakarta: Genius Publisher. 2015.

Firmansyah, Wonohardjo S, Arief M. Penerapan Model Pembelajaran Problem Solving Berbantuan Web pada Materi Ekstraksi terhadap Hasil Belajar dan Motivasi Mahasiswa. *Jurnal Pendidikan Sains*, 2016, 4(2): 66.

Fitri L., Yasmin Y.. Isolasi dan Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri Kitinolitik. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi*, Biologi Edukasi, 2011, 3(2): 21.

Fuadi S. Efektifitas Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper Betle L.*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus Pyogenes* In Vitro. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta. 2014.

Grossman LI. 2010. *Grossman's Endodontic Practice*, 12th ed, Wolters Kluwer Health, New Delhi, p.66-71, 82-84.

Han YP. *Fusobacterium nucleatum*: a Commensal Turned Pathogen. *Curr Opin Microbiol*, 2016, 2.

Hapsari P. Efektivitas Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara In Vitro. Tugas Akhir. Universitas Muhammadiyah Semarang. 2010.

Himedia Laboratoris. 2015. *Enriched Thioglycollate Broth. Report 2015*, India, p.1-2

Jawetz E, Melnick JL, dan Adelberg, EA. 2016. *Medical Microbiology*. Mc Graw Hill Education, New York.



Jonathan AI., Titien I., Kusuma P.. Pengaruh frekuensi Dressing Pasta

Kalsium Hidroksida terhadap Pertumbuhan Bakteri Anaerob dan Derajat Keasaman pada Perawatan Saluran Akar Gigi Insisivus Desidui Nekrotik. *Ked Gi*, 2014, 5(2): 42.

Kemendes RI. Laporan Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) Indonesia tahun 2013. Jakarta : Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kemendes RI; 2013.

Kidd EAM dan Bechal SJ. 2012. *Essential of Dental Caries*. N. Sumawinata (penterjemah). *Dasar-dasar Karies: Penyakit dan Penanggulangannya*, EGC, Jakarta, p.2.

Kuntari LM, Hadriyanto W, Mulyawati E. Perbedaan Daya Antibakteri Klorheksidin 2% dan Berbagai Konsentrasi Natrium Hipoklorit Kombinasi Omeprazol 8,5% terhadap *Enterococcus Faecalis*. *J Ked Gi*, 2014, 5(2): 140.

Kusuma RB. Pengaruh Daya Antibakteri Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle L.*) Terhadap *Streptococcus mutans*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Surakarta. 2010.

Lilik N, Yesi D, Sri M. Penetapan Kadar Eugenol dan Minyak Atsiri dari Daun Sirih Merah (*Piper cf fragile B.*) dan Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*) secara Kromatografi Gas. Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Jakarta.

Maradona D. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Durian (*Durio zibethinus L.*), Daun Lengkek (*Dimocarpus longan Lour.*), dan Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum L.*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25925 dan *Escherichia coli* ATCC



25922. Tugas Akhir. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta. 2013.

Marimbun BE, Mintjelungan CN, Pangemanan DHC. Hubungan Tingkat Pengetahuan Tentang Gigi dan Mulut dengan Status Karies Gigi pada Peyandang Cacat. *Jurnal E-Gigi (eG)*, 2016, 4 (2): 178.

Mariyatin H, Widyowati E, Sri L. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum*) dan Sirih Hijau (*Piper Betle L.*) sebagai Bahan Alternatif Irigasi Saluran Akar, *Jurnal Kedokteran Gigi*, 2012, 3-4.

Mukhriani. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, 2014, 7(2) : 362.

Mulyawati E. Peran Bahan Desinfeksi Pada Perawatan Saluran Akar. *Maj Ked Gi*, 2011, 18(1): 206.

Muntari Z. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Batang Kedondong (*Spondias pinnata*) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* dan *Shigella sonnei*. Naskah Publikasi. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta. 2012.

Ngaisah S. Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) Asal Magelang. Skripsi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret. Surakarta. 2010.

Ngajow M., Abidjulu J., dan Vanda SK. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara *In vitro*. *Jurnal Mipa Unsrat Online*, 2013, 2(2): 131.



Ngantung RA., Pangemanan DHC., Gunawan PN.. Pengaruh Tingkat

Sosial Ekonomi Orang Tua terhadap Karies Anak di TK Hang

Tuah Bitung. *Jurnal e-Gigi (eG)*, 2015, 3(2): 542.

Noer S, Pratiwi RD, Gresinta E. Uji Aktivitas Antioksidan dan Uji

Antibakteri *Fusobacterium nucleatum*. Prosiding Seminar

Naasional 2017 Fakultas Pertanian UMJ, 2017, 274.

Nuraina. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun *Garcinia benthami*

Pierre dengan Metode Dilusi. Tugas Akhir. Fakultas Kedokteran

dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah,

Jakarta. 2013.

Pasril Y., Yuliasanti A. Daya Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*)

terhadap Bakteri *Enterococcus Faecalis* sebagai Bahan

Medikamen Saluran Akar dengan Metode Dilusi. *IDJ*, 2014, 3(1):

89

Pratiwi AP, Susanto HS, Udiyono A. Gambaran Pelaksanaan Kegiatan

Usaha Kesehatan Gigi Sekolah (UKGS) dan Sederajat di Wilayah

Kerja Puskesmas Padang Sari Kota Semarang. *Jurnal Kesehatan*

Masyarakat (e-Jurnal), 2016,4 (4): 342.

Punathil S, Bhat SS, Bhat SV, Hedge SK. *Microbiological Analysis of*

Root Canal Flora of Failed Pulpectomy in Primary Teeth. Int. J.

Curr. Microbiol. App. Sci., 2014, 3(9): 243.

Puspita R. Perbedaan Efektifitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirih Hijau

(*Piper betle L.*) dan ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*)

terhadap Bakteri *Mix* Saluran Akar Gigi Sulung dengan Diagnosis



Nekrosis Pulpa secara In Vitro. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya, Malang. 2016.

Rachmawaty FJ, Akhmad MM, Pranacipta SH, Nabila Z, Muhammad A.

Optimasi Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) sebagai Antibakteri terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*.

Mutiara Medika Jurnal Kedokteran dan Kesehatan, 2018, 18(1):18.

Repi NB, Mambo C, Wuisan J. Uji antibakteri ekstrak kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) terhadap *Escherichia coli* dan *Streptococcus pyogenes*. *Jurnal e- Biomedic*, 4(1): 4.

Rizkita AD, Cahyono E, Mursiti S. Isolasi dan Uji antibakteri Minyak Daun Sirih Hijau dan Merah terhadap *Streptococcus mutans*. *Indonesian Journal of /chemical Science*, 2017, 6(3):28i

Ryley FJ. 2012. *Chemotherapy of Fungal Diseases*. Springer Science & Business Media, hal.112

Saini S, Dhiman A, Nanda S. Pharmacognostical and Phytochemical Studies of Piper Betle Linn Leaf. *International Journal Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2016, 8(5): 224.

Samaranayake L. 2012. *Essential Microbiology for Dentistry*, 4th Ed, Churchill Livingstone Elsevier, Hong Kong.

Sari DP, Ichrom MY, Budiarti LY. Efektifitas Daya Hambat Ekstrak Umbi Bawang Dayak Terstandarisasi Fenol terhadap Pertumbuhan *Enterococcus faecalis*. *Dentino Jurnal Kedokteran Gigi*, 2017, 1(1): 57.



Sendy VAA, Pujiastuti P, Ermawati T. Daya antibakteri Eksdtrak Daun

Sirih Merah (*Piper crocatum*) terhadap *Porphyromonas gingivalis*.

Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa, 2014, hal 4.

Septiani. Dewi EN, Wijayanti I. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Lamun

(*Cymodocea rotundata*) terhadap Bakteri *Streptococcus aureus* dan

Escherichia coli. Indonesian Journal of Fisheries Science, 2017,

13(1):5.

Septiawan E. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum*),

Terhadap Penurunan Suhu Tubuh Mencit (*Mus Musculus*) Sebagai

Media Belajar Pada Pembelajaran Biologi Sma. Skripsi. Fakultas

Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Bengkulu. 2014.

Shah SK, Garg G, Jhade D, Patel N. Piper Betle: Phytochemical,

Pharmacological and Nutritional Value in Health Management. Int.

J. Pharm. Sci. Rev. Res., 2016, No. 34 p 182-183.

Sihotang FM. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah

(*Piper crocatum*) terhadap *Porphyromonas gingivalis* yang

Dibiakkan pada Saliva Buatan secara *In vitro*. Tugas Akhir. Tidak

diterbitkan. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.

2016.

Susanty., Bachmid F. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan

Reflus terhadap Kadar Fenolik dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea*

mays L.). *Konversi*, 2016, 5(2): 88.

Syahrinastiti TA, Djamal A, Irawati L.. Perbedaan Daya Hambat Ekstrak

Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*) dan Daun Sirih Merah (*Piper*



crocatum Rutz & Pav) terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli*.

Jurnal Kesehatan Andalas, 2015, 4(2):421-424.

Topcuoglu N, Bozdogan E, Aktoren O, Kulekci G. Presence of Oral Bacterial Species in Primary Endodontic Infections of Primary

Teeth. *The Journal of Clinical Pediatric Dentistry*. 2013, 38(2):158-159.

Torabinejad E, Walton RE, Fouad AF. 2014. Endodontics Pricipal and Practice. 5th Edition. Elsevier Health Science, Sonders. p 39,49,50.

Utami DER., Krismayanti L., Yahdi. Pengaruh Jenis Ekstrak Daun Sirih Dan Variasi Konsentrasi Ekstrak Terhadap Jamur *Candida Albicans*. *BIOTA: Jurnal Tadris IPA Biologi FITK IAIN Mataram*, 2015, 7(1): 143.

Worotidjan I, Mintjelungan CN., dan Gunawan M. Pengalaman Karies Gigi dan Pola Makan dan Minum pada Anak Sekolah Dasar di Desa Kiawi Kecamatan Kawangkoan Utara. *Jurnal e-Gigi (eG)*, 2013, 1(1): 60.

Yamin FI., Natsir, N. Bakteri Dominan di Dalam Saluran Akar Gigi Nekrosi. *Dentofasial*, 2014; 13(2): 115.

