



**Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Kulit Pisang Kepok Kuning
terhadap
Enterococcus faecalis secara *In Vitro***

SKRIPSI

Untuk Memenuhi Persyaratan Memperoleh Gelar Sarjana

Oleh:

Maria Kezya Anastasia

NIM : 165160107111030

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2019



DAFTAR ISI

Halaman

Halaman Judul.....	1
Halaman Persetujuan.....	ii
Halaman Pengesahan.....	iii
Halaman Pernyataan.....	iv
Kata Pengantar.....	v
Abstrak.....	vii
<i>Abstract</i>	viii
Daftar Isi.....	ix
Daftar Gambar.....	xii
Daftar Tabel.....	xiii
Daftar Singkatan.....	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	1
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1 Tujuan Umum.....	3
1.3.2 Tujuan Khusus.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
1.4.1 Manfaat Akademik.....	3
1.4.2 Manfaat Aplikatif.....	3
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Pisang.....	4
2.1.1 Morfologi.....	4
2.1.2 Taksonomi.....	5
2.1.3 Kandungan Kulit Pisang Kepok Kuning.....	5
2.2 <i>Enterococcus faecalis</i>	7
2.2.1 Taksonomi.....	7
2.2.2 Morfologi.....	7
2.2.3 Karakteristik.....	8
2.2.3 Patogenitas.....	8
2.3 Perawatan Saluran Akar.....	9
2.4 Ekstraksi.....	11
2.5 Uji Identifikasi Bakteri <i>Enterococcus faecalis</i>	13
2.5.1 Pewarnaan Gram.....	13
2.5.2 Uji Katalase.....	14
2.5.3 Uji Oksidase.....	14



2.6 Uji Kepekaan Antibakteri.....	14
2.6.1 Metode Difusi.....	15
2.6.2 Metode Dilusi.....	17
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1 Kerangka Konsep Penelitian.....	18
3.2 Hipotesis Penelitian.....	19
BAB 4 METODE PENELITIAN	
4.1 Rancangan Penelitian.....	20
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	20
4.3 Sampel Penelitian.....	20
4.3.1 Pengulangan Sampel.....	20
4.4 Variabel Penelitian.....	21
4.3.1 Variabel Bebas.....	21
4.3.2 Variabel Terikat.....	21
4.5 Alat dan Bahan Penelitian.....	21
4.5.1 Alat dan Bahan Pembuatan Ekstrak Kulit Pisang Kepok.....	21
4.5.2 Alat dan Bahan Identifikasi Bakteri dengan Pewarnaan Gram.....	21
4.5.3 Alat dan Bahan untuk Uji Katalase.....	21
4.5.4 Alat dan Bahan untuk Uji Oksidase.....	22
4.5.5 Alat dan Bahan untuk Uji Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Pisang Kepok Kuning terhadap <i>Enterococcus faecalis</i>	22
4.6 Definisi Operasional.....	22
4.7 Prosedur Penelitian.....	23
4.7.1 Identifikasi Bakteri.....	23
4.7.1.1 Pewarnaan Gram.....	23
4.7.1.2 Uji Katalase.....	24
4.7.1.5 Uji Oksidase.....	24
4.7.2 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji.....	24
4.7.3 Pembuatan Ekstrak Kulit Pisang Kepok Kuning.....	25
4.7.4 Pengenceran Ekstrak Kulit Pisang Kepok Kuning.....	26
4.7.5 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Pisang Kepok Kuning (<i>Musa paradisiaca L.</i>) terhadap	

	<i>Enterococcus faecalis</i> Menggunakan Metode	
	Dilusi Tabung	26
4.8	Rancangan Penelitian	28
4.9	Analisis Data	29
BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN		
5.1	Hasil Identifikasi Bakteri	30
5.5.1	Hasil Uji Pewarnaan Gram	30
5.5.2	Hasil Uji Katalase	30
5.5.3	Hasil Uji Oksidase	31
5.2	Hasil Ekstrak Kulit Pisang Kepok Kuning	31
5.3	Hasil Uji Pendahuluan	32
5.4	Hasil Penelitian	32
5.5	Analisis Data	34
5.5.1	Hasil Uji Normalitas Data dan Homogenitas Varian	35
5.5.2	Hasil Uji One-way Anova	36
5.5.3	Hasil Uji Post Hoc	36
5.5.4	Hasil Uji Korelasi Pearson	37
5.5.5	Hasil Uji Regresi	37
5.6	Pembahasan	38
BAB 6 PENUTUP		
6.1	Kesimpulan	41
6.2	Saran	41
DAFTAR PUSTAKA		
LAMPIRAN		
	Lampiran 1 Surat Keterangan Analisa Kualitatif	50
	Lampiran 2 Surat Keterangan Analisa Kuantitatif	52
	Lampiran 3 Dokumentasi Penelitian	53
	Lampiran 4 Hasil Uji Statistik	58

ABSTRAK

Anastasia, Maria Kezuya. 165160107111030. Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya, Malang. 1 November 2019.

Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Kulit Pisang Kepok Kuning terhadap *Enterococcus faecalis* secara *In Vitro*.

Pembimbing: drg. Viranda Sutanti, M.Si.

Perawatan saluran akar adalah perawatan yang bertujuan untuk menghilangkan populasi mikroorganisme pada saluran akar yang terinfeksi. Desinfeksi merupakan faktor yang sangat dominan dalam menentukan keberhasilan perawatan, karena salah satu penyebab utama kegagalan perawatan saluran akar adalah persistensi infeksi pada saluran akar. *Enterococcus faecalis* merupakan salah satu bakteri yang paling banyak ditemukan pada saluran akar pascaperawatan endodontik. Kulit pisang kepok kuning (*Musa paradisiaca L.*) diyakini mempunyai banyak kandungan antibakteri seperti flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, dan terpenoid. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui efektivitas anti bakteri ekstrak etanol kulit pisang kepok kuning (*Musa paradisiaca L.*) terhadap *Enterococcus faecalis* secara *in vitro*. Penelitian ini menggunakan rancangan *true experimental design post test control only*. Metode yang digunakan yaitu dilusitabung untuk menentukan Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM). Konsentrasi ekstrak yang digunakan yaitu 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100%. Hasil penelitian diperoleh KHM sebesar 50% dan KBM sebesar 60%. Analisa data menggunakan uji regresi menunjukkan bahwa pengaruh ekstrak etanol kulit pisang kepok kuning terhadap pertumbuhan jumlah bakteri *Enterococcus faecalis* adalah sebesar 70,1%. Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak etanol kulit pisang kepok kuning mempunyai efek antibakteri terhadap *Enterococcus faecalis* secara *in vitro*.

Kata kunci: *Enterococcus faecalis*, ekstrak kulit pisang kepok kuning, Kadar Hambat Minimum (KHM), Kadar Bunuh Minimum (KBM)

ABSTRACT

Anastasia, Maria Kezya. 165160107111030. Major Bachelor of Dentistry Study Program, Faculty of Dentistry, University of Brawijaya, Malang. November 1, 2019. Antibacterial Activity of Yellow Kepok Banana Peel Extract (*Musa paradisiaca L.*) against *Enterococcus faecalis* (an in vitro study). Supervisor: drg. VirandaSutanti, M.Si.

One of the principles of endodontic treatment is to eliminate the microorganism populations in infected root canals. Disinfection is an immensely dominant factor in determining the success of treatment because the persistent infection in the root canal leads to endodontic treatment failure. *Enterococcus faecalis* is one of the bacteria commonly found in root canals after performing endodontic treatment. The peel of yellow kepok banana (*Musa paradisiaca L.*) seems to hold many antibacterial properties such as flavonoids, alkaloids, saponins, tannins, and terpenoids. This study aims to determine the antibacterial power of kepok banana (*Musa paradisiaca L.*) peel extract against *Enterococcus faecalis*. This study utilized tube dilution method to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC). The extract concentration used in the study were 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, and 100%. The result shows that yellow kepok banana peel extract had MIC against *Enterococcus faecalis* at a concentration of 50% and had an MBC at a concentration of 60%. Data analyzing uses regression experiment shows that the effect of yellow kepok banana (*Musa paradisiaca L.*) peel extract on the growth of *Enterococcus faecalis* 70,1%. The conclusion of this study is the yellow kepok banana (*Musa paradisiaca L.*) peel extract has an antibacterial activity against *Enterococcus faecalis*.

Key words: *Enterococcus faecalis*, yellow kepok banana peel extract, Minimum Inhibitory Concentration (MIC), Minimum Bactericidal Concentration (MBC)



BABI PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit pulpa merupakan salah satu penyakit dengan prevalensi yang cukup tinggi di Indonesia. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia mencatat 10,2% penduduk Indonesia dan lebih dari 50% masyarakat di Provinsi Jawa Timur mempunyai mempunyai masalah kesehatan gigi dan mulut (Riskesdas 2018). Profil Kesehatan Indonesia (2010) menyebutkan bahwa penyakit pulpa merupakan penyakit urutan ke -7 dari 10 penyakit terbanyak pada pasien rawat jalan di rumah sakit Indonesia dengan jumlah kunjungan sebanyak 163.211.

Salah satu penyebab terjadinya penyakit pulpa adalah mikroorganisme. Mikroorganisme dapat masuk ke dalam pulpa melalui beberapa jalur, yaitu tubulus dentin, kavitas yang terbuka, membran periodontal, aliran darah, serta kesalahan restorasi (Narayanan dan Vaishnavi, 2010). Infeksi pulpa yang terus berlanjut dapat menyebabkan infeksi pada saluran akar (Zehnder dan Belibasakis, 2015). Perawatan untuk infeksi saluran akar adalah perawatan saluran akar (PSA). Salah satu tahap PSA adalah desinfeksi yang bertujuan untuk meminimalkan atau menghilangkan populasi mikroorganisme pada sistem saluran akar pada saat prosedur preparasi atau pasca preparasi saluran akar sebelum diobturasi. (Mulyawati, 2011).

Penyebab utama kegagalan perawatan saluran akar adalah persistensi infeksi pada saluran akar. *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) merupakan salah satu bakteri yang paling banyak ditemukan pada saluran akar pasca perawatan endodontik karena kemampuannya dalam menginvasi tubulus dentin, sehingga memungkinkan bakteri tersebut terhindar dari instrumen preparasi, bahan irigasi, serta bahan sterilisasi (Sedgley *et al.*, 2015). *E. faecalis* juga dapat bertahan hidup pada keadaan nutrisi yang rendah serta lingkungan yang ekstrim (Hegde, 2009). Hal ini menyebabkan *E. faecalis* menjadi resisten pada beberapa bahan medikasi.

Kalsium hidroksida dengan rumus kimia $\text{Ca}(\text{OH})_2$ merupakan bahan sterilisasi yang sering digunakan dalam perawatan saluran akar. $\text{Ca}(\text{OH})_2$ merupakan bahan sterilisasi yang efektif



karena bersifat antibakteri dengan spektrum yang luas, biokompatibel, dapat menstimulasi pembentukan jaringan keras, serta membentuk lingkungan alkalin yang tidak sesuai untuk perkembangan mikroorganisme (Ariani dan Hadriyanto, 2013). Akan tetapi, *E. faecalis* mempunyai suatu karakteristik khusus yaitu dapat bertahan dalam lingkungan alkalin, sehingga bakteri ini ditemukan dapat bertahan pada bahan sterilisasi dengan pH yang tinggi seperti kalsium hidroksida (Peciulienė *et al.*, 2008). Oleh karena itu, banyak dikembangkan kembali bahan yang diperoleh dari alam, mengingat sifat resistensi *E. faecalis* dan kelemahan bahan sterilisasi terdahulu.

Bahan alami yang banyak dikembangkan saat ini adalah pisang. Pisang merupakan tanaman yang paling banyak dihasilkan dan dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia. Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian (2016) mencatat produksi pisang di Indonesia mencapai 7,3 ton. Tanaman pisang memiliki berbagai macam jenis, seperti pisang raja, pisang ambon, pisang tanduk, dan pisang kepok. Pisang kepok (*Musa paradisiaca L.*) merupakan salah satu pisang yang banyak bermanfaat bagi kesehatan. Tidak hanya pada daging buahnya, kulit pisang kepok kuning juga kaya akan komponen fitokimia, seperti flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan kuinon dimana senyawa tersebut memiliki aktivitas antibakteri (Saraswati, 2015).

Ekstrak etanol kulit pisang kepok kuning dilaporkan bersifat antibakteri dan memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan beberapa bakteri seperti *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Propionibacterium acnes*, dan *Escherichia coli* (Saraswati, 2015; Ariani dan Norjannah, 2017). Sejauh ini belum dilakukan penelitian aktivitas antibakteri kulit pisang kepok kuning terhadap *E. faecalis*, sehingga penulis ingin mengetahui efektivitas antibakteri ekstrak etanol kulit pisang kepok kuning terhadap pertumbuhan bakteri *E. faecalis* secara *in vitro*.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak etanol kulit pisang kepok kuning mempunyai efek antibakteri terhadap *E. faecalis* secara *in vitro*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui efektivitas antibakteri ekstrak etanol kulit pisang kepok kuning (*Musa paradisiaca L.*) terhadap *E. faecalis* secara *in vitro*.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui nilai Kadar Hambat Minimal (KHM) ekstrak etanol kulit pisang kepok kuning terhadap bakteri *E. faecalis*.
2. Mengetahui nilai Kadar Bunuh Minimal (KBM) ekstrak etanol kulit pisang kepok kuning terhadap bakteri *E. faecalis*.
3. Mengetahui hubungan antara ekstrak etanol kulit pisang kepok kuning dengan pertumbuhan bakteri *E. faecalis*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

Menambah wawasan kepada dokter gigi dan masyarakat umum mengenai efektivitas ekstrak kulit pisang kepok kuning terhadap pertumbuhan *E. faecalis*.

1.4.2 Manfaat Aplikatif

Penelitian ini diharapkan dapat dimanfaatkan sebagai dasar bagi penelitian selanjutnya dalam pengembangan obat herbal antibakteri yang efektif, utamanya untuk pengobatan di bidang kedokteran gigi.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pisang

2.1.1 Morfologi



Gambar 2.1 Pisang Kepok Kuning (Jayanti, 2016)

Morfologi tanaman pisang adalah sebagai berikut:

1. Akar

Tanaman pisang memiliki akar serabut yang bergerak dan berkumpul ke arah samping pohon, yang berfungsi untuk memperkuat berdirinya tumbuhan, serta menyerap air dan zat-zat makanan yang terlarut di dalam air tadi dari dalam tanah (Tjitrosoepomo, 1988).

2. Batang

Tanaman pisang memiliki 2 macam batang, yaitu umbi batang (bonggol) yang terletak di dalam tanah dan batang semu yang berdiri tegak di atas tanah. Umbi batang ini bersifat keras dan memiliki titik tumbuh (mata tunas), sementara batang semu terdiri atas pelepah-pelepah daun panjang (kelopak daun) dan dapat tumbuh hingga 3-8 m (Cahyono, 2016).

3. Daun

Daun pisang berbentuk setengah lingkaran, tipis tetapi cukup tegar, dan seringkali sisi atasnya beralur dangkal atau beralur dalam seperti pada tangkai daun pisang (Tjitrosoepomo, 1988).

4. Bunga

Bunga tanaman pisang lebih dikenal sebagai jantung pisang. Bunga pisang berwarna merah tua, berlapis lilin, berbentuk bulat lonjong dengan ujung runcing, dan berukuran sekitar 10-25 cm (Cahyono, 2016).

5. Buah

Bentuk buah pisang pada umumnya bulat panjang, kulit berwarna kuning, daging buah berwarna putih kekuning-kuningan, berasa manis, beraroma harum, dan tidak mengandung biji (Cahyono, 2016).

2.1.2 Taksonomi

Menurut *Integrated Taxonomic Information System (ITIS)* sistematika (taksonomi) tumbuhan tanaman pisang diklasifikasikan sebagai berikut :

<i>Kingdom</i>	: <i>Plantae</i>
<i>Subkingdom</i>	: <i>Viridiplantae</i>
<i>Infrakingdom</i>	: <i>Streptophyta</i>
<i>Superdivision</i>	: <i>Embryophyta</i>
<i>Division</i>	: <i>Tracheophyta</i>
<i>Subdivision</i>	: <i>Spermatophytina</i>
<i>Class</i>	: <i>Magnoliopsida</i>
<i>Superorder</i>	: <i>Lilianae</i>
<i>Order</i>	: <i>Zingiberales</i>
<i>Family</i>	: <i>Musaceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Musa L.</i>
<i>Species</i>	: <i>Musa paradisiaca L.</i>

2.1.3 Kandungan Kulit Pisang Kepok Kuning

Berbagai penelitian telah melaporkan bahwa tanaman pisang memiliki berbagai macam senyawa kimia yang bermanfaat bagi kesehatan tubuh. Kulit pisang kepok kuning mengandung berbagai macam senyawa kimia atau lebih dikenal dengan istilah fitokimia. Kulit pisang kepok kuning mengandung, alkaloid, tanin, saponin, dan triterpenoid (Lumowa dan Bardin, 2018).

Flavonoid berfungsi sebagai antibakteri yang membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri dan berfungsi sebagai zat anti inflamasi, anti oksidan, analgesik, dan antibakteri (Fatimah *et al.*,

2016). Flavonoid mempunyai struktur cincin beta dan gugus $-OH$ yang berfungsi untuk menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara merusak dinding sel, menghambat kerja ikatan enzim seperti ATPase dan phospholipase, berikatan dengan *adhesion*, dan merusak membran sel (Nugraha *et al.*, 2017).

Alkaloid merupakan senyawa nitrogen yang memiliki kemampuan bioaktivitas dan memiliki aktivitas fisiologi yang tinggi dan telah digunakan secara luas dalam bidang pengobatan (Setiawan *et al.*, 2017). Alkaloid mempengaruhi penyusunan dinding sel bakteri, dengan cara mengganggu pada saat pembentukan peptidoglikan sehingga dinding sel tidak terbentuk secara utuh, sehingga bakteri tidak dapat bertahan terhadap pengaruh luar dan segera mengalami kematian (Mustikasari dan Ariyani, 2010).

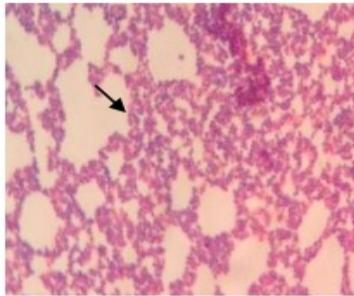
Tanin memiliki aktivitas antibakteri dengan cara menghambat enzim *reverse* transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Nuria *et al.*, 2009). Tanin juga mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna, dan menyebabkan bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati (Rijayanti, 2014).

Saponin adalah senyawa metabolit sekunder yang terdapat di alam dan bersifat antimikroba (Heni *et al.*, 2015). Mekanisme kerja saponin termasuk dalam kelompok antibakteri yang mengganggu permeabilitas sel bakteri, yang mengakibatkan kerusakan membran sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri (protein, asam nukleat, dan nukleotida) sehingga mengakibatkan sel bakteri mengalami lisis (Kurniawan dan Aryana, 2015).

Triterpenoid adalah golongan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tumbuhan dan termasuk golongan terpenoid. Terpenoid memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri (Mawan *et al.*, 2018). Mekanisme terpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin (Yaqin, 2014).

2.2 *E. faecalis*

E. faecalis adalah salah satu bakteri penyebab infeksi saluran akar. Bakteri yang resisten terhadap beberapa antibiotik ini, biasanya ditemukan pada pasien dengan infeksi gastrointestinal, infeksi saluran akar, serta pasien pasca perawatan periodontitis apikalis (Pinheiro dan Mayer, 2014).



Gambar 2.2 *E. faecalis* dengan perbesaran 1000x dengan mikroskop cahaya (Qudsi *et al.*, 2016)

2.2.1 Taksonomi

Integrated Taxonomic Information System (ITIS) menyusun taksonomi untuk bakteri *E. faecalis* adalah sebagai berikut:

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

2.2.2 Morfologi

E. faecalis merupakan bakteri gram positif (+) berbentuk kokus, berantai pendek, mempunyai dinding sel yang tebal, dan membran sel selapis yang mengandung sedikit lapisan lipid (Mubarak *et al.*, 2016). Bakteri ini tidak berspora dan bersifat anaerob fakultatif, sehingga bisa bertahan hidup dan berkembang biak dengan oksigen maupun tanpa oksigen (Tyne *et al.*, 2013).

2.2.3 Karakteristik

E. faecalis adalah salah satu bakteri yang sering ditemukan pada infeksi saluran akar. *E. faecalis* dapat bertahan hidup dan berkembang pada lingkungan ekstrim, seperti keadaan dengan pH tinggi (9,6) serta suhu yang tinggi (10-45°C), bakteri ini juga dapat membentuk biofilm yang menyebabkannya menjadi 1000 kali lebih resisten terhadap fagositosis, antibodi, dan antimikroba daripada bakteri yang tidak dapat memproduksi biofilm (Stuart *et al.*, 2006). Hal ini menyebabkan *E. faecalis* resisten terhadap beberapa antibakteri.

2.2.4 Patogenitas

E. faecalis merupakan salah satu bakteri penyebab infeksi saluran akar. *E. faecalis* dapat masuk ke dalam saluran akar melalui kerusakan gigi yang mencapai pulpa dan dapat menghasilkan perubahan patologis melalui produksi *toxin* atau melalui proses inflamasi, bakteri ini juga dapat bertahan dalam saluran akar tanpa dukungan dari bakteri lain dan biasanya merupakan satu-satunya spesies *Enterococcus* yang diisolasi dari saluran akar yang telah diisi (Howarto *et al.*, 2015).

Suatu penelitian *in vitro* menunjukkan bahwa *E. faecalis* memiliki kemampuan untuk menginvasi tubuli dentin dimana tidak semua bakteri memiliki kemampuan tersebut, selain itu bakteri ini juga dapat memasuki fase *Viable but Non Culturable* (VBNC), dimana bakteri dapat bertahan hidup tetapi tidak berkembang biak ketika berada dalam keadaan lingkungan yang sulit hingga kondisi lingkungan kembali normal (Nurdin dan Satari, 2011).

Bakteri *E. faecalis* dapat berperan dalam progresifitas penyakit karena memiliki faktor virulensi. Faktor virulensi dapat membantu bakteri untuk memasuki *host*, serta memperbanyak diri dan bertahan hidup di dalam *host* (Cross, 2008). Bakteri *E. faecalis* memiliki faktor virulensi yang menyebabkan bakteri ini memiliki kemampuan untuk membentuk kolonisasi pada *host*, dapat bersaing dengan bakteri lain, resisten terhadap mekanisme pertahanan *host*, menghasilkan perubahan patogen baik secara langsung melalui perubahan patogen baik secara langsung melalui produksi toksin atau secara tidak langsung melalui rangsangan terhadap mediator inflamasi (Nurdin dan Satari, 2011). Faktor-faktor virulen tersebut

adalah *aggregation substance (AS)*, *surface adhesins*, *sex pheromones*, *lipoteichoic acid (LTA)*, *extraceluller superoxide production (ESP)*, *gelatinase*, *hyalurodinase*, dan *cytolysin toxin*, AS-48, dan *bacteriocin* lainnya (Kayaoglu dan Ørstavik, 2004).

Setelah *E. faecalis* menginvasi saluran akar, ia dapat berkolonisasi di permukaan dentin dengan bantuan LTA dan perlekatan pada kolagen melalui AS dan *surface adhesin* lainnya, bakteri ini juga dapat menekan pertumbuhan bakteri lain karena adanya peran *cytolysin toxin*, AS-48, dan *bacteriosin* lain yang menyebabkan rendahnya jumlah mikroorganisme lain dalam infeksi saluran akar yang persisten sehingga *E. faecalis* menjadi bakteri yang dominan pada infeksi saluran akar (John *et al.*, 2015).

Saluran akar merupakan media yang tidak kaya akan gizi, tetapi *E. faecalis* dapat memperoleh energi yang dibutuhkan dari *hyaluronan* melalui degradasi oleh *hyaluronidase* yang dipengaruhi oleh kondisi produksi dan proporsi tetrasakarida serta heksasakarida yang terdapat pada dentin, selain itu pelepasan enzim litik *gelatinase*, *hyaluronidase*, dan toksin *cytolysin* oleh *E. faecalis* dapat menyebabkan kerusakan langsung pada dentin dan merangsang leukosit PMN, limfosit, monosit, dan makrofag yang akan berkontribusi terhadap kerusakan periradikular (Kayaoglu dan Ørstavik, 2004).

2.3 Perawatan Saluran Akar

Perawatan saluran akar merupakan salah satu perawatan infeksi saluran akar. Tujuan dari perawatan saluran akar yaitu untuk membersihkan dan mendisinfeksi sistem saluran akar sehingga mengurangi munculnya bakteri, menghilangkan jaringan nekrotik, membantu proses penyembuhan periapikal, serta mempertahankan gigi agar tetap dapat berfungsi dan bertahan selama mungkin di rongga mulut (Soedjono *et al.*, 2009; Nisaa dan Darjono, 2011).

Perawatan saluran akar terbagi menjadi 3 tahapan utama (*Triad Endodontic*), yaitu preparasi biomekanis (*cleaning and shaping*), desinfeksi, serta pengisian saluran akar (Bachtiar, 2016). Desinfeksi bertujuan untuk meminimalkan atau menghilangkan populasi mikroorganisme pada sistem saluran akar pada saat prosedur preparasi atau pasca preparasi saluran akar sebelum diobturasi sehingga tahap ini merupakan faktor yang sangat dominan

dalam menentukan keberhasilan perawatan, berikut adalah macam bahan desinfeksi saluran akar (Mulyawati, 2011):

1. **Sodium hipoklorit (NaOCl)**

Sodium hipoklorit merupakan bahan irigasi yang paling sering digunakan saat ini. Konsentrasi yang biasa digunakan adalah 0,5%; 1%; 2,5%; dan 5,2%, namun akhir-akhir ini mulai ada yang menggunakan dengan konsentrasi 6%. Kemampuan antimikroba dari larutan NaOCl berhubungan dengan konsentrasinya, makin tinggi konsentrasinya makin sedikit waktu yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan bakteri dibandingkan dengan yang konsentrasinya rendah. Kelemahan bahan ini adalah tidak boleh digunakan bersamaan dengan siler berbahan dasar resin, karena akan mengurangi ikatan antara siler dengan dentin. Selain itu, bahan yang bersifat bakterisidal ini memiliki toksisitas yang mampu merusak jaringan dan memiliki akses keluar ke jaringan periapikal yang akan menyebabkan terjadinya inflamasi hingga nekrosis pada jaringan periradikuler (Widyawati *et al.*, 2013).

2. **N₂**

N₂ adalah suatu komponen yang mengandung parafolmaldehid sebagai unsur utamanya dan dinyatakan baik sebagai medikamen intrasaluran, tetapi bahan ini mempunyai suatu kelemahan yaitu efek antibakterialnya yang hanya sebentar, dan menghilang kira-kira dalam waktu seminggu atau sepuluh hari (Grossman *et al.*, 2015).

3. **Chlorhexidine 2%**

Chlorhexidine mempunyai kemampuan untuk merusak integritas sel membran dan menyebabkan pengendapan cairan sitoplasma. Daya antibakterinya berspektrum luas, toksisitasnya rendah, dan larut dalam air. Konsentrasi yang biasa digunakan untuk sterilisasi saluran akar adalah 2%. Bahan ini efektif terhadap *E. faecalis*, maupun biofilmnya yang merupakan bakteri dominan pada infeksi sekunder perawatan saluran akar sehingga menyebabkan kegagalan perawatan saluran akar. Kelemahan bahan ini adalah kurang efektif terhadap

bakteri gram negatif. Suatu penelitian bahkan menemukan bahwa jika bahan ini digunakan pada konsentrasi di atas 0,005% dapat mengganggu membran sel neutrofil dari *Gingival Crevicular Fluid* (GCF) dan pembuluh darah perifer dalam waktu 5 menit yang menimbulkan efek penghambatan pada fungsi neutrofil (Mohammadi, 2007).

4. Kalsium Hidroksida [$\text{Ca}(\text{OH})_2$]

Merupakan bahan desinfeksi saluran akar untuk perawatan endodontik masa kini. Efek antiseptiknya berjalan lambat hingga dua minggu, sedangkan waktu optimumnya satu minggu. Sebelum diaplikasikan, saluran akar harus dibersihkan dahulu dari *smear layer* karena dapat mengganggu difusi $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ke dalam tubulus dentin. $\text{Ca}(\text{OH})_2$ dapat melepaskan ion hidroksil sehingga terjadinya peningkatan pH, yang menyebabkan rusaknya membran sitoplasma dari bakteri sehingga terjadi proses denaturasi protein yang akan menghambat replika DNA dari bakteri dan menyebabkan terhambatnya pertumbuhan bakteri. Alkanitasnya yang tinggi dapat menetralkan asam sehingga mereduksi reaksi inflamasi disertai kerusakan jaringan dengan pH rendah sehingga kalsium hidroksida bereaksi sebagai buffer. Selain itu mempunyai sifat sedikit larut dalam air dan tidak larut dalam alkohol. Sediaan kalsium hidroksida dalam bentuk pasta yang sudah dilarutkan menjadi konsentrasi 10% dengan *aquadest* steril dapat semakin mensinergiskan aktivitas disosiasi menjadi ion kalsium (Ca^{2+}) dan ion hidroksil (OH^-) sehingga mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. faecalis* (Pasril dan Yuliasanti, 2014).

2.4 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan dimana komponen mengalami perpindahan massa dari suatu padatan ke cairan atau dari cairan ke cairan lain yang bertindak sebagai pelarut (Santosa dan Sulistiawati, 2014). Terdapat banyak faktor yang dapat mempengaruhi kandungan senyawa hasil ekstraksi dalam proses

ekstraksi suatu bahan tanaman, yaitu jenis pelarut, konsentrasi pelarut, suhu yang digunakan untuk ekstraksi, serta metode ekstraksi (Senja *et al.*, 2014). Perbedaan metode ekstraksi kemungkinan akan menghasilkan rendemen ekstrak yang berbeda dan profil kandungan kimia yang berbeda pula (Verawati *et al.*, 2017). Jenis-jenis metode ekstraksi yang dapat digunakan adalah sebagai berikut (Mukhriani, 2014):

1. Maserasi

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak 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. Metode ini dapat digunakan untuk menghindari rusaknya senyawa yang bersifat termolabil. Beberapa kelemahan dari metode maserasi ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang.

2. *Ultrasound-Assisted Solvent Extraction*

Ultrasound-Assisted Solvent Extraction merupakan metode maserasi yang dimodifikasi dengan menggunakan bantuan ultrasound (sinyal dengan frekuensi tinggi, 20 kHz). Wadah yang berisi serbuk sampel ditempatkan dalam wadah *ultrasonic* dan *ultrasound*. Hal ini dilakukan untuk memberikan tekanan mekanik pada sel hingga menghasilkan rongga pada sampel. Kerusakan sel dapat menyebabkan peningkatan kelarutan senyawa dalam pelarut dan meningkatkan hasil ekstraksi.

3. Perkolasi

Pada metode perkolasi, serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya). Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah.

Kelebihan dari metode ini adalah sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Selain itu, metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan memakan banyak waktu.

4. Soxhlet

Metode ini dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel dalam sarung selulosa (dapat digunakan kertas saring) dalam klonsong yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam labu dan suhu penangas diatur di bawah suhu reflux. Keuntungan dari metode ini adalah proses ekstraksi yang kontinyu, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Kerugiannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus menerus beresap pada titik didih.

5. Destilasi Uap

Pada metode destilasi uap, sampel dimasukkan bersama pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Selama pemanasan, uap terkondensasi dan destilat (terpisah sebagai 2 bagian yang tidak saling bercampur) ditampung dalam wadah yang terhubung dengan kondensor. Metode ini biasanya digunakan untuk mengekstraksi minyak esensial (campuran berbagai senyawa menguap). Kelemahan metode ini adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi.

2.5 Uji Identifikasi Bakteri *E. faecalis*

2.5.1 Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram adalah pewarnaan yang sering dilakukan untuk pemeriksaan identifikasi bakteri. Pewarnaan ini merupakan pewarnaan diferensial yang paling penting dalam bakteriologi karena dapat mengelompokkan sel bakteri ke dalam 2 kelompok besar, yaitu

gram-positif dan gram-negatif yang menjadi penting dalam mikrobiologi sebagai alat untuk membedakan dan mengklasifikasikan mikroorganisme sebagaimana pengelompokan bakteri dalam Bergey's Manual edisi VIII yang mengelompokkan bakteri ke dalam 19 kelompok utama (Subandi, 2014).

Prinsip pewarnaan adalah bakteri akan menyerap zat mengikat warna tertentu yaitu kristal violet, bakteri gram positif akan tetap mengikat warna ungu meskipun ada penambahan alkohol dan safranin sedangkan bakteri gram negatif akan melepaskan warna ungu dengan adanya penambahan alkohol dan akan mengikat safranin menjadi warna merah dengan penguatan lugol (Putranto *et al.*, 2014).

2.5.2 Uji Katalase

Uji katalase bertujuan untuk mengetahui aktivitas katalase pada bakteri yang diuji, karena beberapa bakteri memproduksi enzim katalase yang dapat memecah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 (Hidayat dan Alhadi, 2012). Hidrogen peroksida bersifat toksik terhadap sel karena bahan ini menginaktifkan enzim dalam sel, senyawa ini terbentuk sewaktu metabolisme aerob, sehingga mikroorganisme yang tumbuh dalam lingkungan aerob pasti menguraikan bahan tersebut (Dewi, 2013).

2.5.3 Uji Oksidase

Uji oksidase bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya enzim oksidase pada bakteri dengan menggunakan *paper oksidase* yang dapat dilihat perubahan warna yang terjadi pada *paper oksidase* selama 1 menit (Nababan *et al.*, 2018). Enzim oksidase dihasilkan oleh beberapa organisme yang berperan penting dalam mengkatalisis proses oksidasi dan reduksi elektron (Anggraini *et al.*, 2016).

2.6 Uji Kepekaan Antibakteri

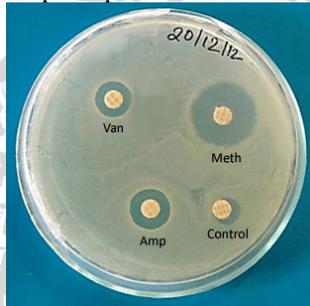
Efektivitas antibakteri terhadap spesies bakteri berbeda antara satu dengan yang lain. Sensitivitas setiap bakteri patogen terhadap suatu antimikroba harus diuji dengan berbagai konsentrasi untuk menentukan tingkat konsentrasi yang menyebabkan pertumbuhan bakteri tersebut terhambat atau mati, dengan pengujian tersebut dapat diketahui apakah bakteri tersebut masih sensitif atau

telah resisten terhadap suatu antibiotika serta dapat berguna untuk menentukan pengobatan yang adekuat terhadap bakteri patogen penyebab penyakit infeksi (Tim Mikrobiologi FK UB, 2003). Berikut terdapat macam-macam metode uji antibakteri (Pratiwi, 2008).

2.6.1 Metode Difusi

1. *Disc Diffusion*

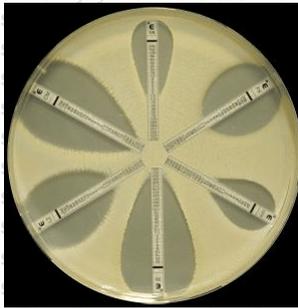
Metode *disc diffusion* (tes Kirby & Bauer) untuk menentukan aktivitas antimikroba. Piringan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media Agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media Agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media Agar.



Gambar 2.3 Metode *Disc Diffusion* (Uji Kirby & Bauer) (Blesson *et al.*, 2014)

2. *E-test*

Metode *E-test* digunakan untuk mengestimasi KHM (Kadar Hambat Minimal), yaitu konsentrasi minimal suatu agen antimikroba untuk dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Pada metode ini digunakan strip plastic yang mengandung agen antimikroba dari kadar terendah hingga tertinggi dan diletakkan pada permukaan media Agar yang telah ditanami mikroorganisme. Pengamatan dilakukan pada area jernih yang ditimbulkannya yang menunjukkan kadar agen antimikroba yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada media Agar.



Gambar

2.4 Metode *E-test* (Bagul dan Sivakumar, 2016)

3. *Ditch-plate technique*

Pada metode ini sampel uji berupa agen antimikroba yang diletakkan pada parit yang dibuat dengan cara memotong media Agar dalam cawan Petri pada bagian tengah secara membujur dan mikroba uji (maksimum 6 macam) digoreskan ke arah parit yang berisi agen antimikroba

4. *Cup-plate technique*

Metode ini serupa dengan metode *disc diffusion*, di mana dibuat sumur pada media Agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antimikroba yang akan diuji.

5. *Gradient-plate technique*

Pada metode ini konsentrasi agen antimikroba pada media Agar secara teoritis bervariasi dari 0 hingga maksimal. Media Agar dicairkan dan larutan uji ditambahkan. Campuran kemudian dituang ke dalam cawan Petri dan diletakkan dalam posisi miring. Nutrisi kedua selanjutnya dituang di atasnya. Kemudian plate diinkubasi selama 24 jam untuk memungkinkan agen antimikroba berdifusi dan permukaan media mengering. Mikroba uji (maksimal 6 macam) digoreskan pada arah mulai dari konsentrasi tinggi ke rendah. Hasil diperhitungkan sebagai panjang total pertumbuhan mikroorganisme maksimum yang mungkin dibandingkan dengan panjang pertumbuhan hasil goresan.

Bila:

X = panjang total pertumbuhan mikroorganisme yang mungkin

Y = panjang pertumbuhan aktual

C = konsentrasi final agen antimikroba pada total volume media mg/mL

Maka konsentrasi hambatan adalah $[(X.Y)]$; C mg/mL

2.6.2 Metode Dilusi

1. Metode Dilusi Cair/ *Broth Dilution Test (Serial Dilution)*

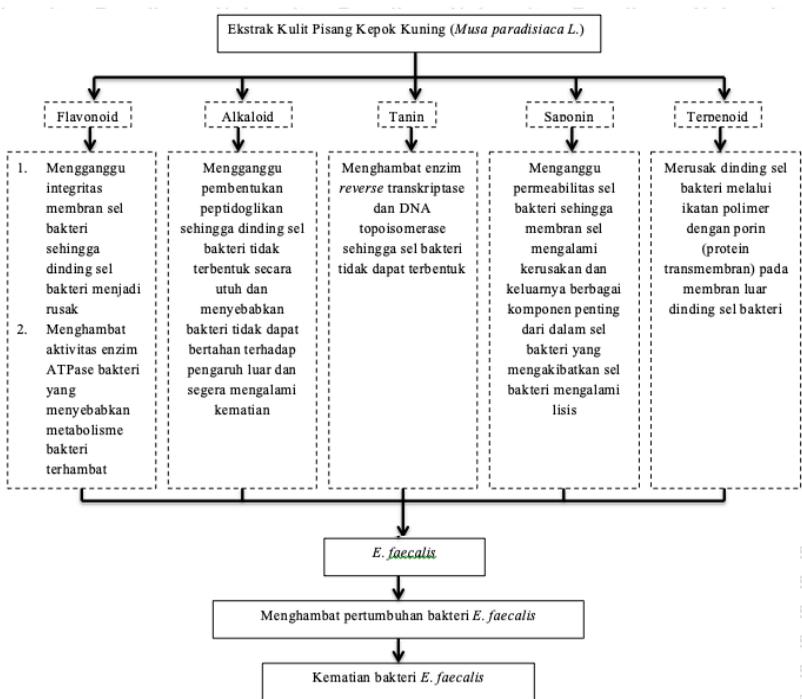
Metode ini mengukur KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Hambar Maksimum). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji agen antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba, dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai KBM.

2. Metode Dilusi Padat/ *Solid Dilution Test*

Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat (solid). Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji.

BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

Keterangan:



Penelitian yang dilakukan



Penelitian yang tidak dilakukan

Ekstrak kulit pisang kepok kuning (*Musa paradisiaca L.*) mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan triterpenoid, sehingga memungkinkan untuk digunakan sebagai antibakteri (Lumowa dan Bardin, 2018).

Flavonoid berfungsi untuk mengganggu integritas membran sel bakteri sehingga dinding sel bakteri menjadi rusak, selain itu



flavonoid juga dapat menghambat metabolisme bakteri dengan cara mengganggu aktivitas enzim ATPase. Alkaloid dapat mengganggu pembentukan peptidoglikan sehingga dinding sel bakteri tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan bakteri tidak dapat bertahan terhadap pengaruh luar dan segera mengalami kematian. Pertumbuhan mikroba patogen dapat dihambat oleh tanin yang berperan dalam menghambat enzim *reverse* transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk, tanin juga dapat menyebabkan pembentukan dinding sel bakteri kurang sempurna sehingga bakteri lisis. Saponin berperan untuk mengganggu permeabilitas sel bakteri sehingga membran sel mengalami kerusakan dan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri yang mengakibatkan sel bakteri mengalami lisis. Membran luar dinding sel bakteri dapat dirusak oleh terpenoid yang membentuk ikatan polimer yang kuat dengan porin (protein transmembran) sehingga permeabilitas dinding sel bakteri berkurang dan bakteri akan mati karena kekurangan nutrisi.

Melalui penjelasan diatas, maka ekstrak kulit pisang kepok kuning (*Musa paradisiaca L.*) memungkinkan dapat menghambat pertumbuhan serta menyebabkan kematian pada bakteri *E. faecalis* sehingga berpotensi sebagai antibakteri.

3.2 Hipotesis Penelitian

Ekstrak etanol kulit pisang kepok kuning (*Musa paradisiaca L.*) mempunyai efek antibakteri terhadap *E. faecalis* secara *in vitro*.

BAB IV METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental dengan rancangan 3. Dalam design ini terdapat dua kelompok yang diberi perlakuan (kelompok eksperimen) dan kelompok yang tidak diberi perlakuan (kelompok kontrol) yang masing-masing dipilih secara random (Sugiyono, 2017).

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang pada bulan April hingga Mei 2019.

4.3 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian adalah bakteri *E. faecalis* dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.

4.3.1 Pengulangan Sampel

Sampel penelitian akan dilakukan pengulangan bagi tiap kelompok untuk mencegah terjadinya bias pada hasil penelitian. Banyaknya pengulangan yang diperlukan dalam penelitian ini dapat dihitung dengan menggunakan rumus Federer (Purnamasari *et al.*, 2017):

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

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

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

$$7n-7 \geq 15$$

$$7n \geq 22$$

$$n \geq 3,14$$

(Dibulatkan ke atas menjadi 4)

Keterangan:

p = jumlah perlakuan

n = jumlah ulangan yang diperlukan

Setelah dilakukan perhitungan, maka pengulangan yang dilakukan untuk mendapatkan jumlah sampel yang dapat dipercaya adalah sebanyak empat kali pengulangan.

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak kulit pisang kepok kuning (*Musa paradisiaca L.*) dengan konsentrasi sebesar 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100%.

4.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah pertumbuhan bakteri *E. faecalis*.

4.5 Alat dan Bahan

4.5.1 Alat dan Bahan Pembuatan Ekstrak Kulit Pisang Kepok (Lumowa dan Bardin, 2017)

Alat dan bahan yang digunakan untuk mengesktraksi kulit pisang kepok pada penelitian ini adalah blender, oven, timbangan, kertas saring, *rotary evaporator*, kulit pisang kepok kuning, etanol 70%, *aquadest*, dan *handscoon*.

4.5.2 Alat dan Bahan Identifikasi Bakteri dengan Pewarnaan Gram (Fitri dan Yasmin, 2011)

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

4.5.3 Alat dan Bahan untuk Uji Katalase (Sardiani *et al.*, 2015)

Alat dan bahan yang digunakan untuk uji katalase pada penelitian ini adalah gelas objek, pipet, tabung reaksi, isolat *E. faecalis*, dan H₂O₂ 3%

4.5.4 Alat dan Bahan untuk Uji Oksidase (Nababan *et al.*, 2018)

Alat dan bahan yang digunakan untuk uji oksidase pada penelitian ini adalah ose, *Oxidase Test Strip*, dan isolat *E. faecalis*

4.5.5 Alat dan Bahan untuk Uji Daya Antibakteri Ekstrak Etanol

Kulit Pisang Kepok Kuning terhadap *E. faecalis* (Pasril dan Yuliasanti, 2014)

Alat dan bahan yang digunakan untuk uji daya antibakteri ekstrak etanol kulit pisang kepok kuning terhadap *E. faecalis* pada penelitian ini adalah tabung reaksi, rak tabung reaksi, *bunsen brander*, ose, mikropipet, inkubator, jangka sorong, spidol, kertas label, BHI Agar, BHI Broth, isolat *E. faecalis*, ekstrak etanol kulit pisang kepok kuning dalam beberapa konsentrasi berbeda, *Chlorhexidine 2%*, dan *aquadest*

4.6 Definisi Operasional

Tabel 4.1 Definisi Operasional

No.	Variabel	Definisi Operasional	Cara Pengukuran	Hasil Pengukuran	Skala Data
1.	Ekstrak etanol kulit pisang kepok kuning	Ekstrak kulit pisang kepok kuning diperoleh dari kulit pisang kepok yang telah diekstraksi melalui metode maserasi dengan pelarut etanol 70%	Didapat dari proses ekstraksi kulit pisang kepok kuning dengan metode maserasi (cara ekstraksi sederhana dengan merendam serbuk yang disatukan dengan bahan pengestraksi selama beberapa hari dengan temperatur kamar yang terlindung dari cahaya).	Ekstrak kulit pisang kepok kuning 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, dan 3,125%	Rasio



2.	Pertumbuhan bakteri <i>E. faecalis</i>	Pertumbuhan bakteri <i>E. faecalis</i> ditandai dengan terjadinya kekeruhan dalam tabung serta adanya pertumbuhan bakteri pada media <i>Trypticase Soy Agar</i> (TSA)	Terdapat 8 tabung reaksi pada metode dilusi tabung, kemudian memperhatikan pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan kekeruhan dalam tabung untuk mengetahui	Pengukuran KHM ditentukan oleh konsentrasi ekstrak kulit pisang kepok kuning yang pertama terlihat jernih KBM diketahui dengan tidak adanya pertumbuhan	Ordinal
			KHM. Memperhatikan pertumbuhan bakteri pada 4 medium <i>Trypticase Soy Agar</i> (TSA) untuk menentukan KBM.	bakteri serta melihat jumlah koloni yang terbentuk dengan <i>colony counter</i> .	

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Identifikasi Bakteri

4.7.1.1 Pewarnaan Gram

Tahapan identifikasi bakteri dengan menggunakan pewarnaan gram adalah sebagai berikut (Fitri dan Yasmin, 2011):

1. Meneteskan *aquadest* pada kaca objek, lalu menambahkan 1 ose biakkan sampel
2. Suspensi bakteri yang sudah kering difiksasi dengan cara melewatkan beberapa kali di atas api
3. Kristal violet ditetaskan pada sediaan dan dibiarkan selama satu menit. Sisa kristal violet dibuang dan dibilas dengan air mengalir
4. Meneteskan lugol pada sediaan dan ditunggu selama satu menit. Sisa lugol dibuang dan dibilas dengan air mengalir
5. Alkohol 96% ditetaskan pada sediaan dan ditunggu selama 10-20 detik. Sisa alkohol dibuang dan dibilas dengan air
6. Safranin ditetaskan pada sediaan dan ditunggu selama 20-30 detik. Sisa safranin dibuang dan dibilas dengan air mengalir

7. Sediaan dikeringkan dengan kertas serap dan tambahkan minyak emersi
8. Sediaan dilihat di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 100x
9. Hasil positif: *E. faecalis* merupakan bakteri kokus sedikit lonjong (ovoid) dan berwarna ungu (gram positif)

4.7.1.2 Uji Katalase

Tahapan identifikasi bakteri menggunakan uji katalase adalah sebagai berikut (Sardiani *et al.*, 2015):

1. Buat suspensi bakteri pada gelas objek
2. Tambahkan 1 tetes larutan *saline/aquadest* steril pada gelas objek
3. Tambahkan 1 ose koloni bakteri
4. Tetesi dengan 2-3 tetes reagen H_2O_2 3%
5. Amati gelembung-gelembung udara pada perbenihan
6. Hasil negatif: *E. faecalis* merupakan bakteri anaerob fakultatif (tidak ada gelembung udara)

4.7.1.3 Uji Oksidase

Tahapan identifikasi bakteri menggunakan uji oksidase adalah sebagai berikut (Nababan *et al.*, 2018):

1. Ambil isolat bakteri sebanyak satu ose, lalu digoreskan pada kertas *Oxidase Test Strip*
2. Ditunggu selama 1 menit
3. Amati perubahan yang terjadi
4. Hasil negatif: *E. faecalis* tidak memiliki enzim oksidase (tidak ada perubahan warna pada kertas *Oxidase Test Strip*)

4.7.2 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Untuk menumbuhkan bakteri *E. faecalis* pada media *blood agar* dilakukan tahap sebagai berikut (Pasril dan Yuliasanti, 2014; Qudsi *et al.*, 2016):

1. Koloni *E. faecalis* ditanam ke dalam tabung yang berisi *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB) sebanyak 5 mL
2. *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB) berisi bakteri dimasukkan ke dalam alat spektrofotometer kemudian diukur *Optical Density* (OD) atau kepadatan optisnya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 625 nm. Dari hasil

yang diperoleh ($OD = 0,1$) sebanding dengan 1×10^8 CFU/mL, kemudian dilakukan pengenceran hingga 1×10^6 CFU/mL dengan rumus $N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$

3. Mendapatkan suspensi bakteri yang mengandung 1×10^6 dapat dilakukan dengan cara pengenceran dengan cara mengambil 1 ml (dari tabung yang mengandung 1×10^8 CFU/mL) untuk dicampur dengan 9mL NaCl 0,9% steril. Maka akan didapatkan suspensi bakteri dengan konsentrasi 10^7 CFU/mL. Proses dilanjutkan sekali lagi hingga mencapai konsentrasi suspensi bakteri yang digunakan untuk tes, yaitu 1×10^6 CFU/mL.

4. Pada hasil pengenceran itu, bakteri diambil dengan menggunakan mikropipet sebanyak 1 cc dan diteteskan ke dalam cawan petri yang telah berisi media *blood agar* dan diratakan dengan ose.

4.7.3 Pembuatan Ekstrak Kulit Pisang Kepok Kuning

Tahapan pembuatan ekstrak kulit pisang kepok kuning adalah sebagai berikut (Lumowa dan Bardin, 2017):

1. Kulit pisang kepok kuning dikeringkan dengan cara menjemur dibawah sinar matahari hingga kering
2. Kulit pisang kepok kuning yang telah kering dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk kasar (simplicia)
3. Serbuk kulit pisang kepok kuning ditimbang dan diambil sebanyak 500 gr, lalu melakukan pembasahan dengan pelarut etanol 70% 600 mL
4. Kemudian bahan yang telah dibasahi dengan pelarut dimasukkan ke dalam toples, diratakan, dan ditambahkan pelarut etanol 70% sampai 750 mL
5. Tutup toples dengan rapat selama 24 jam dan diaduk digital dengan kecepatan 50 rpm
6. Hasil ekstraksi disaring dengan menggunakan kain penyaring dan ditampung di Erlenmeyer
7. Melakukan remaserasi pada ampas dengan cara memasukkan kembali dalam toples dan ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 750 mL.
8. Tutup toples dengan rapat selama 24 jam dan diaduk digital

9. Hasil ekstrak cair pertama sampai dengan terakhir dijadikan satu
10. Dilakukan proses evaporasi untuk memisahkan pelarut etanol dengan ekstrak menggunakan *rotary evaporator* selama 1,5 jam
11. Diperoleh hasil akhir ekstrak etanol kulit pisang kepok kuning dengan konsentrasi 100% sebanyak 30 mL

4.7.4 Pengenceran Ekstrak Kulit Pisang Kepok Kuning

Tahapan pengenceran ekstrak kulit pisang kepok kuning adalah sebagai berikut (Puspitasari, 2013):

1. Ekstrak kulit pisang kepok kuning dengan konsentrasi 100% = 2 mL ekstrak kulit pisang kepok kuning 100%
2. Ekstrak kulit pisang kepok kuning dengan konsentrasi 50% = 1 mL ekstrak kulit pisang kepok kuning 100% + 1 mL *aquadest*
3. Ekstrak kulit pisang kepok kuning dengan konsentrasi 25% = 0,5 mL ekstrak kulit pisang kepok kuning 100% + 1,5 mL *aquadest*
4. Ekstrak kulit pisang kepok kuning dengan konsentrasi 12,5% = 0,25 mL ekstrak kulit pisang kepok kuning 100% + 1,75 mL *aquadest*
5. Ekstrak kulit pisang kepok kuning dengan konsentrasi 6,25% = 0,125 mL ekstrak kulit pisang kepok kuning 100% + 1,875 mL *aquadest*
6. Ekstrak kulit pisang kepok kuning dengan konsentrasi 3,125% = 0,0625 mL ekstrak kulit pisang kepok kuning 100% + 1,9375 mL *aquadest*

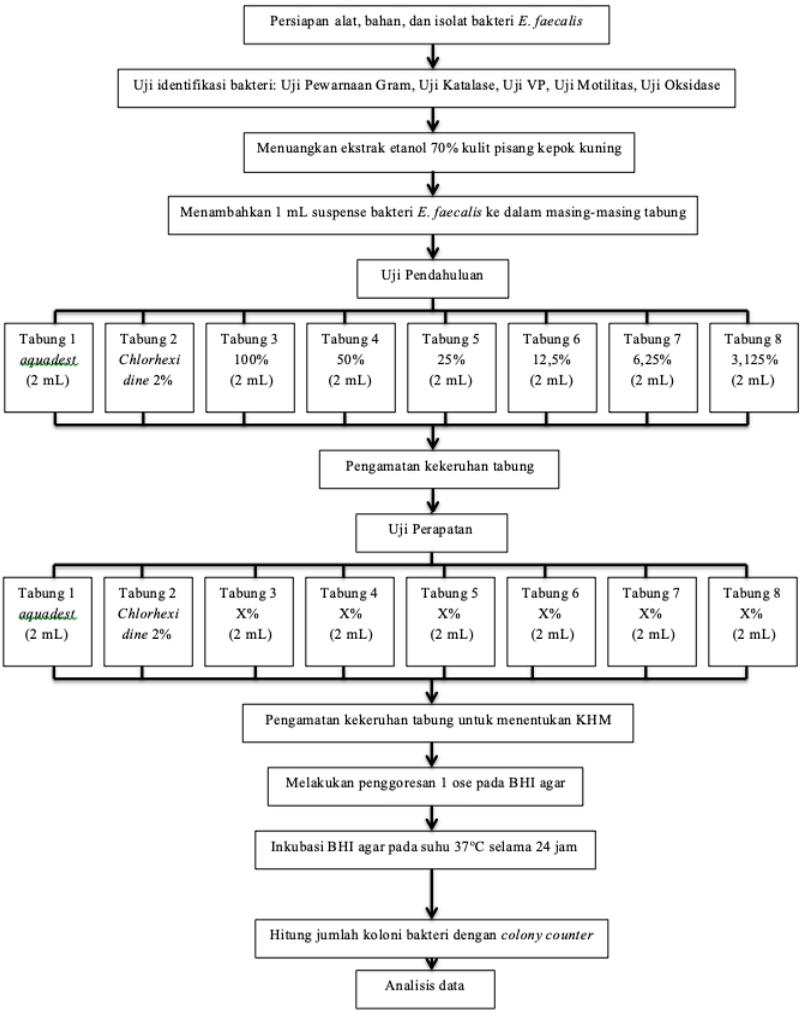
4.7.5 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Pisang Kepok Kuning (*Musa paradisiaca L.*) terhadap *E. faecalis* Menggunakan Metode Dilusi Tabung

Tahapan uji aktivitas antibakteri ekstrak kulit pisang kepok kuning terhadap *E. faecalis* menggunakan metode dilusi tabung adalah sebagai berikut (Pasril dan Yuliasanti, 2014):

1. Menyiapkan 8 tabung steril, 6 tabung sebagai uji antibakteri dan 1 tabung sebagai kontrol bakteri (kontrol negatif), dan 1 kontrol pembanding

2. Masing-masing tabung diisi *aquadest*, *Chlorhexidine* 2%, serta ekstrak kulit pisang kepok kuning masing-masing dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, dan 3,125%. Masing-masing konsentrasi dilakukan sebanyak 4 kali pengulangan.
3. Menambahkan suspensi bakteri yang telah diencerkan ke dalam masing-masing tabung sebanyak 1 mL
4. Semua tabung diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37-37,5°C
5. Mengamati dan menganalisis kekeruhan masing-masing tabung menggunakan kertas bergaris hitam putih guna mengukur KHM
6. Membuat *original inoculum* (OI) dengan cara streaking larutan kontrol negatif. OI dibuat untuk menentukan KBM.
7. Untuk mengetahui Kadar Bunuh Minimal (KBM), bakteri dalam tabung yang jernih diletakkan pada 4 medium TSA (*Trypticase Soy Agar*) sebanyak 1 ose. Kemudian, diinkubasi selama 18-24 jam selama 37-37,5°C
8. KBM diketahui dengan cara menghitung jumlah koloni bakteri dengan *colony counter*. Penentuan KBM diketahui dengan jumlah koloni kurang dari 0,1 % dari jumlah koloni yang terdapat di *original inoculum* atau tidak ada koloni bakteri yang tumbuh.

a. Rancangan Penelitian



4.9 Analisis Data

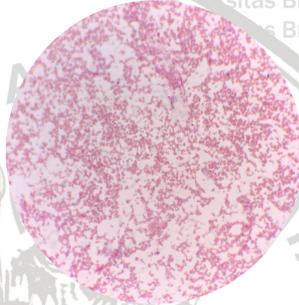
1. Analisis deskriptif adalah analisis untuk memberikan gambaran tentang data penelitian yang diuraikan secara deskriptif kualitatif dan disajikan dalam bentuk tabel.
2. Uji Normalitas dan Homogenitas
 - 1) Uji Normalitas dengan *Saphiro-Wilk* oleh karena besar sampel penelitian < 30
 - 2) Uji Homogenitas dengan *Levene's Test*
3. Uji *one way* ANOVA (analisa varian satu arah) untuk mengetahui adanya perbedaan antara ekstrak kulit pisang kepok kuning pada masing-masing konsentrasi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. faecalis*
4. Uji *Post Hoc (Benferroni)* untuk menentukan perbedaan pada masing-masing konsentrasi ekstrak kulit pisang kepok kuning
5. Uji Regresi Linier untuk menentukan pengaruh ekstrak etanol kulit pisang kepok kuning terhadap pertumbuhan bakteri *E. faecalis*
6. Uji korelasi *Pearson* untuk menunjukkan apakah ada hubungan konsentrasi ekstrak etanol kulit pisang kepok kuning dengan pertumbuhan koloni *E. faecalis*
7. Uji statistik Non Parametrik apabila distribusi data tidak normal

BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Hasil Identifikasi Bakteri

i. Hasil Uji Pewarnaan Gram

Uji Pewarnaan Gram dilakukan dengan mewarnai bakteri dengan larutan kristal violet, lugol, dan safranin. Setelah itu bakteri diamati dibawah mikroskop dengan lensa objektif dengan pembesaran 1000x. Uji Pewarnaan Gram pada bakteri menunjukkan hasil koloni berwarna ungu yang menandakan bakteri gram positif.



Gambar 5.1 Hasil Uji Pewarnaan Gram bakteri uji pada mikroskop cahaya perbesaran 1000x

5.2.2 Hasil Uji Katalase

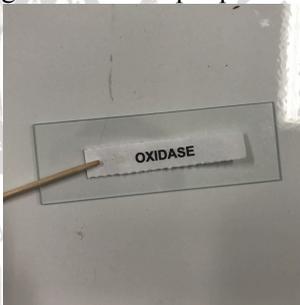
Uji Katalase dilakukan dengan meneteskan Hidrogen Peroksida (H_2O_2) 3% pada bakteri yang terdapat di *object glass*. Hasil Uji Katalase menunjukkan hasil negatif, ditandai dengan tidak terbentuk gelembung udara yang menunjukkan bakteri anaerob fakultatif.



Gambar 5.2 Hasil Uji Katalase bakteri uji

5.2.3 Hasil Uji Oksidase

Bakteri yang memproduksi enzim sitokrom oksidase dapat mengoksidasi reagen sehingga menghasilkan perubahan warna pada oksidase test strip. Hasil Uji Oksidase pada bakteri uji menunjukkan hasil negatif, ditandai dengan tidak terdapat perubahan warna.



Gambar 5.3 Hasil Uji Oksidase pada bakteri uji

5.3 Hasil Ekstrak Kulit Pisang Kepok Kuning

Kulit pisang kepok kuning yang digunakan dalam penelitian ini diekstraksi dengan pelarut etanol 70%. Hasil ekstraksi berupa larutan berwarna coklat.

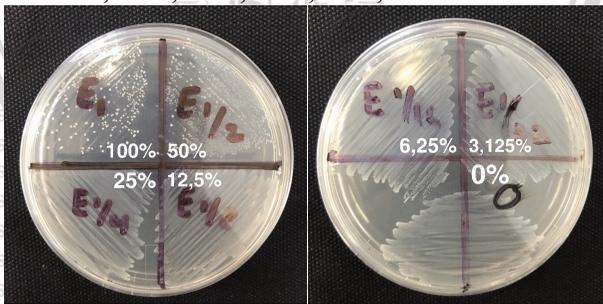


Gambar 5.4 Ekstrak Etanol 70% Kulit Pisang Kepok Kuning

5.4 Hasil Uji Pendahuluan

Uji Pendahuluan dilakukan untuk mengetahui ketelitian rentang konsentrasi ekstrak etanol kulit pisang kepek kuning yang dapat menghambat pertumbuhan *E. faecalis*. Uji pendahuluan pada penelitian ini menggunakan metode dilusi tabung dengan konsentrasi ekstrak 100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%.

Hasil dari uji pendahuluan didapatkan konsentrasi 3,125%; 6,25%; 12,5%; 25%; 50% masih terdapat pertumbuhan koloni bakteri dan pada konsentrasi 100% terjadi penurunan pertumbuhan koloni bakteri. Maka untuk mencari konsentrasi yang merupakan KHM dilanjutkan dengan merapatkan konsentrasi menggunakan konsentrasi 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100%.



Gambar 5.5 Hasil Uji Pendahuluan

5.5 Hasil Penelitian

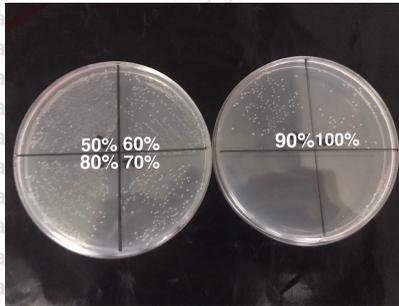
KHM (Kadar Hambat Minimum) adalah kadar terendah dari antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. KHM diamati dengan melihat perbedaan tingkat kekeruhan pada setiap

tabung yang dibantu dengan kertas bergaris hitam yang diletakkan dibelakang tabung. Hasil penentuan KHM dengan metode dilusi tabung menggunakan konsentrasi 100%, 90%, 80%, 70%, 60%, dan 50%; *chlorhexidine* 2% sebagai kontrol positif dan *aquadest* sebagai kontrol negatif diperoleh tampak perbedaan kekeruhan antar konsentrasi. Pada konsentrasi 50% tabung terlihat mulai tampak jernih (Gambar 5.6). Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa konsentrasi 50% sebagai nilai KHM.



Gambar 5.6 Hasil Penentuan KHM dengan Dilusi Tabung

Penentuan KBM dilakukan dengan penggoresan ulang dari masing-masing tabung pada media TSA sebanyak empat kali. Nilai KBM diketahui dari jumlah koloni pada konsentrasi yang kurang dari 0,1% dari jumlah koloni yang terdapat di *original inoculum* atau tidak ada koloni bakteri yang tumbuh. Berdasarkan gambar 5.5, terlihat bahwa koloni bakteri pada kontrol negatif rapat dan banyak sehingga diperlukan pengenceran sebanyak seribu kali untuk memudahkan perhitungan koloni bakteri. Setelah itu, koloni bakteri pada setiap *plate* dihitung dengan menggunakan *colony counter*.



Gambar 5.7 Hasil Streaking Media BHI-A

Tabel 5.1 Hasil Perhitungan Menggunakan Colony Counter

Konsentrasi	Jumlah Koloni				Total	Rerata
	I	II	III	IV		
K (-)	998096	1009438	1077490	1009438	4094462 x 10 ³	1023615500
50%	1134200	1043464	1032122	1062864	4272650	1069162,5
60%	1054806	612468	533074	907360	3107708	776927
70%	409048	476364	748572	487706	2211690	552922,5
80%	317576	408312	408312	204156	1338356	334589
90%	56710	136104	113420	136104	442338	110584,5
100%	11342	11342	136104	11342	170130	42532,3
K (+)	0	0	0	0	0	0

Berdasarkan tabel di atas didapatkan adanya perbedaan jumlah koloni bakteri. Kontrol negatif yaitu *aquadest* menghasilkan pertumbuhan jumlah koloni bakteri terbanyak dengan rerata pengulangan sebanyak 4x yaitu 1023615500. Jumlah koloni bakteri semakin menurun sejalan dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak etanol kulit pisang kepok kuning. Kontrol positif yaitu *chlorhexidine* 2% memiliki jumlah koloni bakteri paling sedikit yaitu 0.

5.6 Analisis Data

Analisis data dilakukan berdasarkan jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada media BHI-A. Data yang didapat akan diuji normalitasnya dengan Uji Shapiro-Wilk karena sampel data kurang dari 50 sampel. Kemudian data tersebut diuji homogenitasnya dengan Uji Levene.

5.5.1 Hasil Uji Normalitas Data dan Homogenitas Varian

Tabel 5.2 Hasil Normalitas Shapiro-Wilk dan Homogenitas Varian

Konsentrasi	Rerata Jumlah Koloni Bakteri	Uji Saphiro-Wilk Angka signifikansi (p)	Uji Levene Angka signifikansi (p)
K (-)	1023615500	0,188	0,186
50%	1069162,5		
60%	776927		
70%	552922,5		
80%	334589		
90%	110584,5		
100%	42532,3		
K (+)	0		

Keterangan:

p (Uji Saphiro-Wilk) = 0,188 : distribusi normal ($p > 0,05$)

p (Uji Levene) = 0,186 : data homogen ($p > 0,05$)

Pada tabel 5.2 dapat diketahui bahwa nilai signifikansi pada Uji Saphiro-Wilk adalah 0,188. Data dianggap berdistribusi normal apabila nilai signifikansi lebih dari 0,05. Maka dapat disimpulkan bahwa data rerata jumlah koloni bakteri *E. faecalis* berdistribusi normal. Kemudian, dilanjutkan dengan uji homogenitas varians data untuk mengetahui bahwa sampel pada penelitian adalah sampel yang homogen. Dari tabel 5.2 dapat diketahui bahwa nilai signifikansi pada Uji Levene adalah 0,186. Data dianggap homogen apabila nilai signifikansi lebih dari 0,05. Maka dapat disimpulkan bahwa data rerata jumlah koloni bakteri *E. faecalis* memiliki varians yang sama atau homogen.

5.5.2 Hasil Uji One-way ANOVA

Tabel 5.3 Hasil Uji One-way ANOVA

Konsentrasi	Rerata Jumlah Koloni Bakteri	Uji One-way ANOVA Angka signifikansi (p)
K (-)	1023615500	0,000
50%	1069162,5	
60%	776927	
70%	552922,5	
80%	334589	
90%	110584,5	
100%	42532,3	
K (+)	0	

Keterangan:

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

Hasil dari uji statistik parametrik *One-way ANOVA* diketahui bahwa nilai signifikansi yang didapat adalah 0,000 (p<0,05). Sehingga dapat disimpulkan bahwa perubahan tingkatan konsentrasi ekstrak etanol kulit pisang kepok kuning memberikan perbedaan yang signifikan pada rerata jumlah koloni bakteri *E. faecalis*.

1.5.3 Hasil Uji Post Hoc

Tabel 5.4 Hasil Uji Post Hoc

	K (-)	50%	60%	70%	80%	90%	100%	K (+)
K (-)	-	0,999	0,077	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
50%	0,999	-	0,023*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
60%	0,077	0,023*	-	0,077	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
70%	0,000*	0,000*	0,077	-	0,256	0,000*	0,000*	0,000*
80%	0,000*	0,000*	0,000*	0,256	-	0,136	0,022*	0,006*
90%	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,136	-	0,987	0,851
100%	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,022*	0,987	-	0,999
K (+)	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,851	0,999	-

Keterangan:

* : perbedaan yang signifikan (Batas perbedaan adalah 5% atau 0,05)

Uji Post Hoc digunakan sebagai pembandingan berganda (*multiple comparisons*) yaitu pembandingan pada setiap dua kelompok konsentrasi ekstrak etanol kulit pisang kepok kuning terhadap rerata jumlah koloni bakteri *E. faecalis*. Data pada tabel 5.5 menunjukkan



bahwa efek ekstrak etanol kulit pisang kepok kuning dengan konsentrasi 50% dan 70% merupakan konsentrasi yang paling signifikan terhadap konsentrasi lain dengan nilai signifikansi 0,000

1.5.4 Hasil Uji Korelasi Pearson

Tabel 5.5 Hasil Uji Korelasi Pearson

Konsentrasi	Rerata Jumlah Koloni Bakteri	Uji Korelasi Pearson	
		Angka signifikansi	Hubungan Korelasi
K (-)	1023615500	0,000	-0,837
50%	1069162,5		
60%	776927		
70%	552922,5		
80%	334589		
90%	110584,5		
100%	42532,3		
K (+)	0		

Keterangan:

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

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

Uji korelasi digunakan untuk mengetahui ada tidaknya hubungan dari pemberian ekstrak etanol kulit pisang kepok kuning terhadap jumlah koloni bakteri *E. faecalis*. Pada tabel 5.6 diketahui bahwa terdapat korelasi yang signifikan dari pemberian ekstrak etanol kulit pisang kepok kuning terhadap jumlah koloni bakteri *E. faecalis* dan arah korelasinya adalah negatif. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol kulit pisang kepok kuning maka jumlah koloni bakteri *E. faecalis* yang tumbuh akan menurun.

1.5.5 Hasil Uji Regresi

Tabel 5.6 Hasil Uji Regresi

Model	R	R Square	R Square Adjusted	Std. Error
1	0,837 ^a	0,701	0,690	226,61866

Keterangan:

^aprediktor: (konstan), Konsentrasi

Uji Regresi digunakan untuk mengetahui pengaruh sebab akibat dari konsentrasi ekstrak etanol kulit pisang kepok kuning terhadap pertumbuhan *E. faecalis*. Pada tabel 5.7 diketahui bahwa R square bernilai 0,701 atau sebesar 70,1%. Hal ini menandakan bahwa



pengaruh ekstrak etanol kulit pisang kepok kuning terhadap pertumbuhan jumlah bakteri *E. faecalis* adalah sebesar 70,1%. Sisanya 29,9% dapat dipengaruhi berbagai macam faktor yang tidak diukur pada saat penelitian seperti pengaruh kualitas udara, kelembaban, dan pencahayaan (Fithri *et al*, 2016). Uji Regresi dapat memprediksi perubahan nilai suatu variabel dapat mengubah nilai variabel lain (Kurniawan dan Yuniarto, 2016).

1.6 Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui daya hambat ekstrak etanol kulit pisang kepok kuning terhadap *E. faecalis* secara *in vitro* dengan metode dilusi tabung. Cara mengukur daya hambat pada penelitian ini adalah dengan menghitung jumlah koloni bakteri pada media TSA dengan menggunakan *colony counter*. *E. faecalis* yang digunakan pada penelitian ini didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. *E. faecalis* ini sudah diuji identifikasi dengan Uji Pewarnaan Gram, Uji Katalase, dan Uji Oksidase. Hasil dari uji tersebut adalah sesuai dengan hasil identifikasi *E. faecalis* pada penelitian Fitria dan Yasmin (2011) yaitu hasil Uji Pewarnaan Gram terlihat koloni berwarna ungu, hasil Uji Katalase negatif (Sardiani *et al.*, 2015), serta hasil Uji Oksidase adalah negatif (Nababan *et al.*, 2018).

Pada uji pendahuluan, ekstrak etanol kulit pisang kepok kuning yang digunakan adalah ekstrak dengan konsentrasi 100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; *chlorhexidine* 2%; dan *aquadest*. Hasil uji pendahuluan dengan metode dilusi tabung diketahui bahwa ekstrak dengan konsentrasi 50% masih terdapat pertumbuhan koloni bakteri, sementara ekstrak dengan konsentrasi 100% didapatkan penurunan pertumbuhan jumlah koloni bakteri. Oleh karena itu, pada uji perapatan dipilih konsentrasi yaitu 100%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, *chlorhexidine* 2%, dan *aquadest*.

Penentuan nilai Kadar Hambat Minimum (KHM) dilakukan dengan metode dilusi tabung. Hasil uji dilusi tabung menunjukkan bahwa tabung mulai tampak jernih pada konsentrasi 60% yang menandakan kadar hambat minimum (KHM) ekstrak etanol kulit pisang kepok kuning terhadap *E. faecalis* adalah 60%. Setelah itu dilakukan streaking bakteri pada media TSA dengan cara mengambil 1 ose pada tiap tabung, dan di inkubasi selama 18-24 jam dengan

suhu 37°C, lalu dihitung jumlah koloni pada setiap *plate* menggunakan *colony counter* (Pasril dan Yuliasanti, 2014).

Uji One Way ANOVA dilakukan untuk menguji perbedaan rata pada data yang lebih dari dua kelompok (Muhson, 2016). Namun sebelum memakai Uji One Way ANOVA, data harus dipastikan normal dan homogen. Maka digunakan Uji Shapiro-Wilk untuk memastikan data berdistribusi normal dan Uji Levene untuk memastikan data homogen. Kemudian menganalisis data dengan uji statistik parametrik One Way ANOVA dan diketahui bahwa nilai signifikansinya adalah 0,000 ($p < 0,05$) yang berarti adanya perubahan konsentrasi ekstrak etanol kulit pisang kepok kuning memberikan perbedaan yang signifikan dalam menghambat pertumbuhan *E. faecalis* dengan metode dilusi tabung. Kemampuan ekstrak etanol kulit pisang kepok kuning dalam menghambat dan membunuh *E. faecalis* diduga oleh karena zat-zat aktif yang terkandung didalamnya, yaitu flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan triterpenoid, sehingga memungkinkan untuk digunakan sebagai antibakteri (Lumowa dan Bardin, 2018).

Flavonoid memiliki kemampuan sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang dapat mengganggu integritas membran sel bakteri (Fatimah *et al.*, 2016). Alkaloid mempengaruhi penyusunan dinding sel bakteri, dengan cara mengganggu pada saat pembentukan peptidoglikan sehingga dinding sel tidak dapat terbentuk secara utuh (Mustikasari dan Ariyani, 2010). Tanin memiliki aktivitas antibakteri dengan cara menghambat enzim *reverse* transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Nuria *et al.*, 2009). Saponin memiliki mekanisme kerja yang dapat mengganggu permeabilitas sel bakteri, sehingga mengakibatkan kerusakan membran sel (Kurniawan dan Aryana, 2015). Sedangkan terpenoid dapat bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin dan bersifat sebagai antibakteri (Yaqin, 2014).

Setelah itu dilanjutkan dengan Uji Post Hoc digunakan untuk mengetahui perbedaan signifikan pada tiap dua kelompok data. Pada Uji Post Hoc diketahui bahwa terdapat beberapa konsentrasi ekstrak yang tidak memiliki perbedaan signifikan, contohnya ekstrak dengan konsentrasi 60% dan ekstrak dengan konsentrasi 70% tidak memiliki

perbedaan yang signifikan. Hal ini menandakan jumlah koloni yang terbentuk pada konsentrasi tersebut tidak berbeda signifikan. Terdapat juga berbagai konsentrasi yang memiliki perbedaan signifikan, misalnya ekstrak dengan konsentrasi 50% dan ekstrak dengan konsentrasi 70%. Perbedaan yang signifikan terjadi karena rentang konsentrasi sudah baik sehingga pertumbuhan jumlah koloni bakteri menurun secara signifikan (Damayanti, 2016).

Uji Korelasi pada penelitian ini menunjukkan adanya korelasi yang signifikan dan arah korelasinya adalah negatif yang berarti meningkatnya ekstrak etanol kulit pisang kepok kuning dapat menurunkan pertumbuhan jumlah koloni bakteri *E. faecalis*. Hal ini diperkirakan terjadi karena dengan adanya peningkatan konsentrasi ekstrak etanol kulit pisang kepok kuning, maka kandungan zat aktif di dalam ekstrak etanol kulit pisang kepok kuning juga ikut meningkat. Selanjutnya, pada Uji Regresi diketahui bahwa R square bernilai 0,701 atau sebesar 70,1% yang berarti pengaruh ekstrak etanol kulit pisang kepok kuning terhadap pertumbuhan jumlah koloni *E. faecalis* sebesar 70,1%. Sisanya 29,9% dapat dipengaruhi berbagai macam faktor yang tidak diukur pada saat penelitian seperti pengaruh kualitas udara, kelembaban, dan pencahayaan (Fithri *et al*, 2016).

Berdasarkan hasil pembahasan di atas, diketahui bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak etanol kulit pisang kepok kuning dapat menurunkan pertumbuhan jumlah koloni bakteri *E. faecalis*, tetapi konsentrasi ekstrak yang tinggi terkadang dapat memunculkan efek toksisitas yang terkandung di dalamnya (Jumain *et al.*, 2018). Oleh karena itu perlu dilakukan uji toksisitas dan penelitian lebih lanjut sebelum dilakukan pengembangan sebagai obat sterilisasi saluran akar.

BAB VI PENUTUP

1.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian di atas, penulis menyimpulkan bahwa:

- Ekstrak etanol kulit pisang kepok kuning mempunyai efek antibakteri terhadap *E. faecalis* secara *in vitro*
- Nilai Kadar Hambat Minimum (KHM) ekstrak etanol kulit pisang kepok kuning terhadap *E. faecalis* adalah konsentrasi 50%
- Nilai Kadar Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol kulit pisang kepok kuning terhadap *E. faecalis* adalah konsentrasi 60%
- Terdapat perbedaan yang signifikan dari perubahan konsentrasi ekstrak etanol kulit pisang kepok kuning terhadap pertumbuhan jumlah koloni bakteri *E. faecalis*

1.2 Saran

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

- Perlu dilakukan penelitian dengan metode lain untuk mengetahui efektifitas ekstrak etanol kulit pisang kepok kuning dalam menghambat bakteri *E. faecalis*
- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efektifitas ekstrak etanol kulit pisang kepok kuning dalam menghambat bakteri lain pada saluran akar; seperti *Actinomyces spp.*, *Streptococcus spp.*, dan *Staphylococcus aureus*
- Perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui toksisitas sebelum melakukan penelitian lebih lanjut
- Perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui dosis efektif dan efek samping ekstrak etanol kulit pisang kepok kuning secara *in vivo*.



DAFTAR PUSTAKA

- Anggraini R, Aliza D, Mellisa S. 2016. Identifikasi Bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan Uji Mikrobiologi pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) yang Dibudidayakan di Kecamatan Baitussalam Kabupaten Aceh Besar. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan Perikanan Unsyiah*. Vol 1 No.2. 270-286
- Ariani N, Norjannah. 2017. Daya Hambat Ekstrak Etanol Kulit Buah Pisang Kepok Mentah (*Musa paradisiaca* forma typical) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* secara *in vitro*. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*. 2 (2): 296-303
- Ariani NGA, Hadriyanto W. 2013. Perawatan Ulang Saluran Akar Insisivus Lateralis Kiri Maksila dengan Medikamen Kalsium Hidroksida-*Chlorhexidine*. *Maj Ked Gi*. 20 (1): 52-57
- Bachtiar ZA. 2016. Perawatan Saluran Akar pada Gigi Permanen Anak dengan Bahan Gutta Percha. *Jurnal PDGI*. Vol 65 No. 2. 60-67
- Bagul U, Sivakumar SM. 2016. *Antibiotic Susceptibility Testing: A Review on Current Practices*. *International Journal of Pharmacy*. 6(3): 11-17
- Blesson J, Sebastian J, Chinju AR, Saiji CV, Pillai DV, Manohar G, Jose J. 2014. *South Indian plants Lawsonia inermis L., Ocimum sanctum L., Ficus religiosa L., and Callitamon citrinus L. exhibit antibiotic resistance modifying effect on native strain of Staphylococcus aureus*. *Int. Journal of Applied Sciences and Engineering Research*. Vol 3 No 4. 869-878
- Cahyono, Bambang. 2016. *Sukses Budi Daya Pisang di Pekarangan dan Perkebunan*. Yogyakarta: Lily Publisher
- Cross AS. 2008. *What is Virulence Factor??. Critical Care*. Vol 12 No.1:96
- Damayanti VN. 2016. Pengaruh Konsentrasi Larutan Getah Tangkai Daun Kamboja Putih (*Plumeria acuminata* W. T. AIT) terhadap Hambatan Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus*



- mutans* (In Vitro). Publikasi Ilmiah. Universitas Brawijaya
- Dewi AK. 2013. Isolasi, Identifikasi, dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap *Amoxicillin* dari Sampel Susu Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. Jurnal Sain Veteriner. Vol 31 No 2. 138-150. Universitas Brawijaya
- Enterococcus faecalis* (Andrewes and Horder, 1906) Schleifer and Kilpper-Bälz, 1984. (n.d). Diakses 30 November 2018, dari ITIS. Universitas Brawijaya
- Fatimah S, Nadifah F, Burhanudin I. 2016. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Kubis (*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *alba* terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. Biogenesis Jurnal Ilmiah Biologi. Vol 4 No.2. 102-106. Universitas Brawijaya
- Fithri NK, Handayani P, Vionalita G. Faktor-Faktor yang Berhubungan dengan Jumlah Mikroorganisme Udara dalam Ruang Kelas Lantai 8 Universitas Esa Unggul. Forum Ilmiah. Vol 13 No 1. 21-26. Universitas Brawijaya
- Fitri L, Yasmin Y. 2011. Isolasi dan Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri Kitinolitik. Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi. Vol 3 No 2. 20-25. Universitas Brawijaya
- Grossman LI, Oliet S, Rio CED. 2015. Ilmu Endodontik dalam Praktek Edisi 11. Jakarta: EGC. Universitas Brawijaya
- Hastuti, US. 2015. Petunjuk Praktikum Mikrobiologi. Malang: UMM Press. Universitas Brawijaya
- Hegde V. 2009. *Enterococcus faecalis: Clinical Significance & Treatment Considerations. Department of Conservative Dentistry and Endodontics, YMT Dental College and Hospital*, Khargar, Navi Mumbai. Universitas Brawijaya
- Heni, Arreneuz S, Zaharah TA. 2015. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Belimbing Hutan (*Baccaurea angulata* Merr.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Jurnal Kimia Khatulistiwa. Vol 4 No 1. 84-90. Universitas Brawijaya
- Hidayat R, Alhadi F. 2012. Identifikasi *Streptococcus equi* dari Kuda yang Diduga Menderita Strangles. Jurnal Ilmu Pertanian. Universitas Brawijaya

- Indonesia. Vol 17 No 3: 199-203.
- Howarto MS, Wowor PM, Mintjelungan CN. 2015. Uji Efektifitas Antibakteri Minyak Atsiri Sereh Dapur sebagai Bahan Medikamen Saluran Akar terhadap Bakteri *Enterococcus faecalis*. Jurnal e-GiGi. Vol 3 No 2: 432-438.
- Imam MZ, Akter S. 2011. *Musa paradisiaca L. and Musa sapientum L.: A Phytochemical and Pharmacological Review*. Journal of Applied Pharmaceutical Science. Vol 1 No 5: 14-20.
- Jayanti N. 2016. Uji Efektivitas Ekstrak Kulit Pisang Kepok (*Musa paradisiaca L.*) terhadap Penurunan Kadar Gula Darah pada Mencit Jantan (*Mus musculus*). Publikasi Ilmiah.
- John G, Kumar KP, Gopal SS, Kumari S, Reddy BK. 2015. *Enterococcus faecalis, A Nightmare to Endodontist: A Systematic Review*. African Journal of Microbiology Research. Vol 9 No 13: 898-908.
- Jumain, Syahruni, Farid FT. 2018. Uji Toksisitas Akut dan LD₅₀ Ekstrak Etanol Daun Kirinyuh (*Eupatorium odoratum* Linn) pada Mencit (*Mus musculus*). Media Farmasi Vol XIV No 1: 65-72.
- Kayaoglu G, Ørstavik D. 2004. *Virulence Factors of Enterococcus faecalis: Relationship to Endodontic Disease*. Crit Rev Oral Biol Med. Vol 15 No 5: 308-320.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2011. Profil Kesehatan Indonesia 2010.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2018. Riskesdas 2018.
- Kurniawan B, Aryana WF. 2015. Binahong (*Cassia Alata L.*) as Inhibitor of *Escherichia Coli* Growth. J Majority. Vol 4 No 4: 100-104
- Kurniawan R, Yuniarto B. 2016. Analisis Regresi. Jakarta: Kharisma Putra Utama
- Lumowa SVT, Bardin S. 2018. Uji Fitokimia Kulit Pisang Kepok (*Musa paradisiaca L.*) Bahan Alam sebagai Pestisida Nabati Berpotensi Menekan Serangan Serangga Hama Tanaman Umur Pendek. Jurnal Sains dan Kesehatan. Vol 1 No 9: 465-

- Mawan AR, Indriwati SE, Suhadi. 2018. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Buah *Syzygium polyanthum* terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherchia coli*. Bioeksperimen. Vol 4 No 1. 64-68.
- Mohhamadi Z. 2007. *Chlorhexidine gluconate, Its Properties and Applications in Endodontics*. *Iran Endodontic Journal*. Vol 2 No 4. 113-125.
- Mubarak Z, Chismirina S, Daulay HH. 2016. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Propolis Alami dari Sarang Lebah terhadap Pertumbuhan *Enterococcus faecalis*. *Journal of Syiah Kuala Dentistry Society*. Vol 1 No 2. 173-186.
- Muhson A. 2016. Pedoman Praktikum Analisis Statistik. Fakultas Ekonomi Universitas Negeri Yogyakarta.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*. Vol 7 No 2. 361-367.
- Mulyawati E. 2011. Peran Bahan Disinfeksi pada Perawatan Saluran Akar. *Maj Ked Gi*. Vol 18 No 2. 205-209.
- Musa X paradisiaca L. (pro sp)*. (n.d). Diakses 30 November 2018, dari ITIS.
- Mustikasari K, Ariyani D. 2010. Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Biji Kalangkala (*Litsea angulata*). *Sains dan Terapan Kimia*. Vol 4 No 2. 131-136.
- Mutmainnah H, Gobel RB, Djide N, Dwyana Z. 2008. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Probiotik dari Saluran Pencernaan Ayam Kampung *Gallus domesticus*. *Publikasi Ilmiah*.
- Nababan ELI, Suryanto D, Lesmana I. 2008. Identifikasi Bakteri Potensial Probiotik pada Saluran Pencernaan Ikan Bawal Air Tawar (*Colossoma macropomum*). *Jurnal Aquacoastmarine*. Vol 6 No 1.
- Narayanan LL, Vaishnavi C. 2010. *Endodontic Microbiology*. *Journal of Conservative Dentistry*. Vol 13 No 4. 233-239.
- Nisaa U, Darjono A. Analisis Minyak atsiri Serai (*Cymbopohon*

citratu) sebagai Alternatif Bahan Irigasi Saluran Akar Gigi dengan Menghambat Pertumbuhan *Enterococcus faecalis*. Majalah Ilmiah Sultan Agung. Vol 49 No 124.

Nugraha AC, Prasetya AT, Mursiti S. 2017. Isolasi, Identifikasi, Uji Aktivitas Senyawa Flavonoid sebagai Antibakteri dari Daun Mangga. *International Journal of Chemical Science*. Vol 6 No 2. 92-96.

Nurdin D, Satari MH. 2011. Peranan *Enterococcus faecalis* terhadap Persistensi Infeksi Saluran Akar. Pustaka Ilmiah Universitas Pajajaran.

Nuria MC, Faizatun A, Sumantri. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas L.*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian. Vol 5 No 2. 26-37.

Pasril Y, Yuliasanti A. 2014. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) terhadap Bakteri *Enterococcus faecalis* sebagai Bahan Medikamen Saluran Akar dengan Metode Dilusi. *Insisiva Dental Journal*. Vol 3 No 1. 88-95.

Peciuliene V, Maneliene R, Balcikonyte E, Drukteinis S, Rutkunas V. 2008. *Microorganisms in Root Canal Infections: A Review*. *Stomatologija, Baltic Dental and Maxillofacial Journal*. Vol 10 No 1. 4-9.

Pinheiro ET, Mayer MPA. 2014. *Enterococcus faecalis* in Oral Infections. *Journal of Interdisciplinary Medicine and Dental Science*. Vol 3 No 1. 1-5.

Pratiwi ST. 2008. Mikrobiologi Farmasi. Jakarta: Erlangga

Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian. 2016. Outlook Komoditas Pisang. Sekretaris Jenderal Kementerian Pertanian.

Purnamasari MR, Sudarmaja IM, Swastika IK. 2017. Potensi Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (*Pandanus Amaryllifolius* ROXB.) sebagai Larvasida Alami bagi *Aedes Aegypti*. E-Jurnal Medika. Vol 6 No 6. 1-5.

Puspitasari G, Murwani S, Herawati. 2012. Uji Daya Antibakteri

- Perasan Buah Mengkudu Matang (*Morinda citrifolia*) terhadap Bakteri *Methicillin Resistan Staphylococcus aureus* (MRSA0 M.2036.T secara *in vitro*. Publikasi Ilmiah
- Putri TK, Veronika D, Ismail A, Karuniawan A, Maxiselly Y, Irwan AW, Sutari W. 2015. Pemanfaatan Jenis-Jenis Pisang (*Banana* dan *Plantain*) Lokal Jawa Barat Berbasis Produk Sale dan Tepung. Jurnal Kultivasi. Vol 14 No 2. 63-70
- Putranto RH, Sariatji K, Sunarno, Roselinda. 2014. *Corynebacterium diphtheriae*: Diagnosis Laboratorium Bakteriologi. Jakarta: Yayasan Pustaka Obor Indonesia.
- Qudsi DCM, Sudjari, Rahayu SI. 2016. Perbandingan Efektivitas Kitosan (2-Acetamido-2-Deoxy-D-Glucopyranose) dan Nano Kitosan terhadap Pertumbuhan Bakteri *Enterococcus faecalis* secara. *In vitro*. Majalah Kesehatan FK UB. 229-240.
- Rijayanti RP. 2014. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida L.*) terhadap *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. Jurnal Mahasiswa PSPD FK Universitas Tanjungpura. Vol 1 No 1. 1-18.
- Santosa I, Sulistiawati. 2014. Ekstraksi Abu Kayu dengan Pelarut Air Menggunakan Sistem Bertahap Banyak Beraliran Silang. *Chemica Jurnal Teknik Kimia*. Vol 1 No 1. 33-39
- Saraswati FN. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Limbah Kulit Pisang Kepok Kuning (*Musa balbisiana*) terhadap Bakteri Penyebab Jerawat (*Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, dan *Propionibacterium acne*). *Jurnal Kimia*. Vol 13 No 1. 9-15.
- Sardiani N, Litaay M, Budji RG, Priosambodo D. 2015. Potensi Tunikata *Rhopalaea sp* sebagai Sumber Inokulum Bakteri Endosimbion Penghasil Antibakteri; 1. Karakterisasi Isolat. *Jurnal Alam dan Lingkungan*. Vol 6 No 11
- Sedgley CM, Lennan SL, Appelbe OK. 2005. *Survival of Enterococcus faecalis in Root Canals Ex Vivo*. *International Endodontic Journal*. Vol 38 No 10. 735-742
- Senja RY, Issusilaningtyas E, Nugroho AK, Setyowati EP. 2014.

Perbandingan Metode Ekstraksi dan Variasi Pelarut terhadap Rendemen dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kubis Ungu (*Brassica oleracea L. var. capitata f. rubra. Trad. Med. Journal.* Vol 19 No 1. 43-48.

Setiawan E, Setyaningtyas T, Kartika D, Ningsih DR. 2017. Potensi Ekstrak Metanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida L.*) sebagai Antibakteri terhadap *Enterobacter aerogenes* dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktifnya. *Jurnal Kimia Riset.* Vol 2 No 2. 108-117.

Soedjono P, Mooduto L, Setyowati L. 2009. Penutupan Apeks pada Pengisian Saluran Akar dengan Bahan Kalsium Oksida Lebih Baik dibanding Kalsium Hidroksida. *Jurnal PDGL.* Vol 58 No 2. 1-5.

Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB. 2006. *Enterococcus faecalis: Its Role in Root Canal Treatment Failure and Current Concepts in Retreatment.* *Journal of Endodontic.* Vol 32 No 2. 93-98.

Subandi M. 2014. *Mikrobiologi: Kajian dalam Perspektif Islam.* Bandung: PT. Remaja Rosdakarya Offset.

Sugiyono. 2017. *Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif, dan R&D.* Bandung: Alfabeta

Tim Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. 2003. *Bakteriologi Medik.* Malang: Bayumedia Publishing.

Tjitrosoepomo, Gembong. 1988. *Morfologi Tumbuhan.* Yogyakarta: Gadjah Mada University Press

Tyne DV, Martin MJ, Gilmore MS. 2013. *Structure, Function, and Biology of the Enterococcus faecalis Cytolysin. Toxins.* Vol 5 No5. 895-911

Verawati, Nofiandi D, Petmawati. 2017. Pengaruh Metode Ekstraksi terhadap Kadar Fenolat Total dan Aktivitas Antioksidan Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.). *Jurnal Katalisator.* Vol 2 No 2. 53-57.

Widyawati H, Untara TE, Hadriyanto W. 2013. Pengaruh Berbagai Konsentrasi Larutan Irigiasi Sodium Hipoklorit terhadap

Kekerasan Mikro Dentin pada Tiga Segmen Saluran Akar yang Berbeda. *Jurnal Kedokteran Gigi*. Vol 6 No 2. 81-87.

Yaqin A. 2014. Potensi Antibakteri Ekstrak Etanol, Fraksi Etanol-Air dan Fraksi N-Heksan Ekstrak Etanol Daun Anggur (*Vitis vinifera L.*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* Multiresisten. Publikasi Ilmiah

Yulvizar C. 2013. Isolasi dan Identifikasi Bakteti Probiotik pada *Rastrelliger sp.* (Online). *Biospecies*. Vol 6 No 2. 1-7.

Zehnder M, Belibasakis GN. 2015. *On The Dynamics of Root Canal Infections—What We Understand and What We Don't*. *Virulence*. Vol 6 No 3. 216-222.

