

**PERBEDAAN EFEK ANTIBAKTERI ANTARA DAUN MIMBA,
DAUN SIRIH MERAH DAN KLOORHEKSIDIN GLUKONAT
TERHADAP *Enterococcus faecalis***

Penelitian *in vitro*

TESIS

**DIAJUKAN UNTUK MEMENUHI SEBAGIAN DARI
PERSYARATAN GUNA MEMPEROLEH GELAR
SPESIALIS KONSERVASI GIGI**



Oleh:
Rosita Stefani
114.414.006

**PROGRAM STUDI SPESIALIS KONSERVASI GIGI (Sp-1)
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS TRISAKTI
JAKARTA
2016**

No KLAS :	617.634.2 Ste p
No INDIK :	T/000247/16 KST
TG TERIMA :	Scp 2016
HADIAH DARI :	
DARI :	



UNIVERSITAS TRISAKTI-FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
PROGRAM STUDI SPESIALIS KONSERVASI GIGI

Dengan ini menyatakan bahwa Tesis dengan judul:

**PERBEDAAN EFEK ANTIBAKTERI ANTARA DAUN MIMBA, DAUN
SIRIH MERAH DAN KLOORHEKSIDIN GLUKONAT
TERHADAP *Enterococcus faecalis*
Penelitian *in vitro***

Yang dipersiapkan dan disusun oleh:

Rosita Stefani

Telah dibaca dengan seksama dan telah dinyatakan memenuhi standar ilmiah,
baik jangkauan maupun kualitasnya, sebagai Tesis jenjang
Pendidikan Dokter Gigi Spesialis
Program Studi Spesialis Konservasi Gigi

Pembimbing I

(drg. Yanti L. Siswadi, M.Kes, Sp.KG)

Pembimbing II

(drg. Juanita A. Gunawan, M.Kes, Sp.KG(K))

Tesis ini telah diserahkan kepada Program Studi Spesialis Konservasi Gigi
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Trisakti, dan telah diterima sebagai syarat untuk
memenuhi jenjang Pendidikan Dokter Gigi Spesialis
Program Studi Spesialis Konservasi Gigi

Jakarta, 1 Agustus 2016

Program Studi
Spesialis Konservasi Gigi
Ketua,

(Prof. Dr. drg. Si S. Winanto, Sp.KG(K))

Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Trisakti
Dekan/ Penanggung Jawab

(Prof. Dr. drg. Tri Erri Astoeti, M.Kes)

PRAKATA

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena berkat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan Tesis yang berjudul “Perbedaan efek antibakteri antara daun mimba dengan daun sirih merah dan klorheksidin glukonat terhadap jumlah koloni *Enterococcus faecalis* secara *in vitro*”.

Dalam kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan maupun dukungannya baik moral maupun material dalam proses penyusunan Tesis ini. Untuk itu penulis ingin mengucapkan terima kasih dan rasa hormat kepada yang terhormat:

1. Prof. DR. drg. Tri Erri Astoeti, M.Kes selaku Dekan dan pimpinan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Trisakti yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk mengikuti program pendidikan spesialis Konservasi Gigi Universitas Trisakti.
2. Prof. DR. drg. Sri Subekti Winanto, Sp. KG(K) selaku Kepala Program Studi Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Konservasi Gigi atas kesempatan dan arahan yang diberikan dalam menjalankan program pendidikan.
3. Drg. Bernard O. Iskandar, Sp.KG selaku kepala bagian Departemen Ilmu Konservasi Gigi Universitas Trisakti atas arahan dan dukungan yang diberikan selama penulis menjalani pendidikan.
4. Drg. Yanti L. Siswadi M.kes Sp.KG selaku pembimbing akademik I yang telah memberikan bantuan, masukan dan motivasi hingga penulis dapat menyelesaikan program pendidikan.
5. Drg. Selviana Wulansari Sp.KG selaku pembimbing akademik II yang telah memberikan bantuan, masukan, dan motivasi hingga penulis dapat menyelesaikan program pendidikan.

6. Prof. Dr. drg. Lies Zubardiah Sp.Perio selaku penguji yang telah memberikan saran dan arahan dalam penulisan tesis ini.
7. Prof. Dr. drg. E. Arlia SU Sp.KGA selaku penguji yang telah memberikan saran dan arahan dalam penulisan tesis ini.
8. drg. Juanita A., M.kes, SP.KG selaku penguji yang telah memberikan saran dan arahan dalam penulisan tesis ini.
9. Prof. Dr. dr. Adi Hidayat, MS. Selaku dosen yang mengajarkan saya banyak hal tentang statistik.
10. Seluruh staf pengajar Konservasi Gigi yang telah bersedia untuk berbagi ilmu dan memberikan motivasi selama saya mengikuti perkuliahan, klinik, dan penulisan tesis ini.
11. Rasa sayang dan hormat yang mendalam kepada kedua orang tua saya, papa, mama, cici Lita Rosalia, suami saya tercinta Denny, Hernari, cici Tinneke, teman-teman lainnya di PPDGS angkatan V, VI, dan semua pihak yang terkait dalam pembuatan tesis ini. atas waktu yang telah disediakan untuk membimbing penulis.

Penulis menyadari bahwa Tesis ini masih jauh dari sempurna karena keterbatasan waktu dan penyajian serta kelemahan penulis. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan. Akhirnya semoga Tesis ini dapat bermanfaat khususnya bagi pihak-pihak yang membutuhkan demi penelitian selanjutnya yang lebih sempurna.

Jakarta, 22 Juli 2016

Rosita Stefani

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PRAKATA	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	ix
DAFTAR SINGKATAN	x
ABSTRAK	xi
ABSTRACT	xii
 BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar belakang dan Identifikasi Masalah	1
B. Perumusan masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat penelitian	5
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Perawatan saluran akar	6
B. <i>Enterococcus faecalis</i>	7
C. Larutan irigasi saluran akar	8
D. Perhitungan koloni kuman.....	14
 BAB III KERANGKA TEORI KERANGKA KONSEP HIPOTESIS	15
A. Kerangka teori.....	15
B. Kerangka konsep.....	18
C. Hipotesis	18
 BAB IV METODE PENELITIAN	19
A. Jenis Penelitian	19
B. Rancangan Penelitian.....	19
C. Sampel Penelitian	19
D. Variabel Penelitian.....	20
E. Definisi Operasional Variabel	21
F. Alat dan Bahan.....	21
G. Jalannya Penelitian	24
H. Skema Alur Penelitian	32
I. Analisis Data.....	33

BAB V HASIL PENELITIAN	34
BAB VI PEMBAHASAN	36
BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN.....	40
DAFTAR PUSTAKA	41

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Rata-rata dan standard deviasi jumlah koloni <i>Enterococcus faecalis</i> sebelum perlakuan	34
Tabel 2. Tabel Uji ANOVA.....	35
Tabel 3. Tabel Uji Post Hoc.....	35
Tabel 4. Rata-rata dan standard deviasi jumlah koloni <i>Enterococcus faecalis</i> sesudah perlakuan	35

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Gambar daun sirih merah.....	9
Gambar 2. Gambar daun mimba.....	12
Gambar 3. Gambar Jarum <i>file</i> Protaper dan Rotary instrument motor.....	22
Gambar 4. Gambar <i>syringe</i> , <i>endo gauge</i> , pinset endodontik dan <i>handpiece</i>	23
Gambar 5. Gambar laminar <i>airflow</i> dan inkubator.....	23
Gambar 6. Gambar gigi premolar bawah dengan saluran akar tunggal.....	24
Gambar 7. Gambar larutan irigasi.....	24
Gambar 8. Gambar bakteri <i>Enterococcus faecalis</i>	24
Gambar 9. Gambar pembuatan infusum daun mimba	25
Gambar 10. Gambar pembuatan infusum daun sirih merah	26
Gambar 11. Gambar Pengambilan radiograf pada sampel gigi penelitian	27
Gambar 12. Gambar Pemotongan <i>sample</i> gigi penelitian	28
Gambar 13. Gambar Pengukuran panjang kerja, preparasi bio mekanik	28
Gambar 14. Gambar bagian luar akar gigi dilapisi cat kuku	29
Gambar 15. Gambar gigi diberi perlakuan di dalam laminar <i>airflow</i>	30
Gambar 16. Gambar koloni bakteri setelah diberi perlakuan	31
Gambar 17. Skema alur penelitian.....	32

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Uji Normalitas	47
Lampiran 2. Uji Fitokimia	48
Lampiran 3. Surat Keterangan Penelitian	50

DAFTAR SINGKATAN

CFU	= <i>Colony Forming Unit</i>
SD	= Standar deviasi
p	= Nilai probabilitas

ABSTRAK

Latar belakang: Keberhasilan suatu perawatan endodontik tergantung pada banyak faktor seperti eliminasi mikroorganisme. Mikroorganisme dapat dieliminasi dengan melakukan preparasi saluran akar secara mekanis dan kimiawi dengan menggunakan larutan irigasi. Larutan irigasi memegang peranan penting selama perawatan endodontik karena anatomi akar gigi yang kompleks. Larutan irigasi yang paling umum digunakan dalam bidang kedokteran gigi adalah natrium hipoklorit (NaOCl), klorheksidin glukonat, *Ethylenediaminetetraacetic-acid* (EDTA). Terdapat banyak bahan alami sebagai sumber obat tradisional yang dapat digunakan sebagai bahan irigasi seperti daun mimba dan daun sirih merah. **Tujuan Penelitian:** untuk mengetahui perbedaan efek antibakteri antara daun mimba dengan daun sirih merah dan klorheksidin glukonat terhadap *Enterococcus faecalis* secara *in vitro*. **Metode:** Penelitian dilakukan pada 20 sampel gigi setiap sampel dilakukan preparasi bio-mekanis hingga F3, kemudian disterilisasi pada suhu 121°C selama 30 menit, diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 jam. Sampel masing masing kelompok gigi dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan irigasi yang berbeda: dengan bahan irigasi infusum daun sirih merah 30%, infusum daun mimba 15%, infusum daun mimba 50% dan klorheksidin glukonat.2%, kemudian diinkubasi kembali 37°C selama 18 jam Efektivitas bakteri diukur dengan perhitungan jumlah koloni yang terbentuk kemudian dihitung dengan menggunakan metode hitungan cawan dengan satuan CFU/mL. **Hasil:** terdapat perbedaan efektivitas antibakteri antara daun sirih merah, daun mimba dan klorheksidin glukonat.

Kata Kunci: daun sirih merah (*Piper crocatum*), daun mimba (*Azadirachta indica*), klorheksidin glukonat, bahan irigasi, bakteri *Enterococcus faecalis*, hitungan cawan.

ABSTRACT

Background: The successful outcome of endodontic treatment depends on many factors such as elimination of microorganism. Microorganism can be eliminated by cleaning and shaping the root canal with instrumentation and irrigation. Irrigation has an important role during endodontic treatment due to complexity of root canal anatomy. The most common used in dentistry are sodium hypochlorite (NaOCl), Chlorheksidine gluconate, and *Ethylenediaminetetraacetic-acid* (EDTA). There are many natural ingredients as a traditional medicine that can be used as an irrigation solution such as neem leaf and red betel leaf. **Objective:** to find out the difference in antibacterial effect between neem leaf, red betel leaf, and chlorhexidine to *Enterococcus faecalis* *in vitro*. **Method :** 20 extracted human premolar were prepared to F3, sterilized with autoclave in 121°C for 30 minutes. Root canal was contaminated with bacteria *Enterococcus faecalis*, incubated in 37°C for 18 hours. Each sample is divided into four groups with different irrigation treatment : 30% red sirih leaf infusa, 15% mimba leaf infusa, 50% mimba leaf infusa, and 2% chlorheksidine gluconate. Samples are incubated in 37°C for 18 hours. The bacterial effectivity is measured with calculation of the colonization amount and then measured using a cup with CFU/mL unit. **Result:** there is a difference in antibacterial effectivity between red sirih leaf, mimba leaf, and chlorheksidine gluconate.

Key words : red betel leaf (*Piper crocatum*), neem leaf (*Azadirachta indica*) chlorheksidine gluconate, irrigation solution, *Enterococcus faecalis*, counting plate

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Perawatan endodontik merupakan suatu prosedur perawatan dengan tingkat prognosis yang baik. Keberhasilan perawatan tergantung pada banyak faktor seperti pembuangan jaringan pulpa, debris, eliminasi mikroorganisme dan pengisian saluran akar yang baik. Preparasi saluran akar dapat menunjang proses disinfeksi sehingga, keberhasilan perawatan dapat dicapai. Preparasi saluran akar dilakukan secara kimia-mekanis, yaitu preparasi secara mekanis menggunakan instrumen dan secara kimiawi dengan larutan irigasi.^{1,2}

Terdapat lebih dari 700 spesies bakteri dalam rongga mulut yang dapat menyebabkan infeksi saluran akar dalam rongga mulut. Penyebab infeksi saluran akar terutama disebabkan oleh mikroorganisme yang sulit dieliminasi dalam saluran akar, di antaranya *Enterococcus faecalis*, *Actinomyces* dan *Candida*.³ Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa hampir 90% bakteri yang ditemukan di dalam saluran akar terinfeksi merupakan bakteri anaerob.^{4,5} Salah satu bakteri anaerob yang paling sering ditemukan pada infeksi pulpa adalah *Enterococcus faecalis*. *Enterococcus faecalis* merupakan bakteri fakultatif anaerob gram positif, sering kali ditemukan pada perawatan endodontik yang gagal.⁶

Irigasi saluran akar merupakan kunci penting dalam keberhasilan perawatan endodontik. Irigasi memiliki beberapa fungsi yang penting, yaitu untuk mengurangi gesekan antara dentin pada saluran akar dengan instrumen yang digunakan pada saat preparasi bio mekanis, meningkatkan efektifitas preparasi dentin, melarutkan jaringan, mendinginkan *file* dan gigi, dan terutama sebagai agen antimikrobia.² Larutan irigasi bertujuan untuk menghilangkan debris sisa preparasi mekanis, jaringan nekrotik, *smear layer* dan disinfeksi di dalam saluran akar.^{2,7} Macam-

macam larutan irigasi yang banyak digunakan sekarang adalah, natrium hipoklorit (NaOCl), klorheksidin glukonat, iodine, hidrogen peroksida, *Ethylenediaminetetraacetic-acid* (EDTA), asam sitrat, *Mixed Tetracyclin, Acid and Detergen* (MTAD), *tetraclean*, terapi *photodynamic*, ozon, dan laser.^{1,8}

Natrium hipoklorit telah menjadi bahan irigasi utama yang paling sering digunakan untuk perawatan endodontik. Natrium hipoklorit digunakan untuk melarutkan jaringan organik, membunuh mikroba secara efektif, serta jaringan nekrotik. Akan tetapi, konsentrasi tinggi natrium hipoklorit (NaOCl) dapat menyebabkan inflamasi jaringan periodontal apabila cairan keluar dari ujung apikal saluran akar. Kerugian lainnya bahan ini adalah bersifat korosif, adanya reaksi alergi dan bau yang tajam yang menimbulkan rasa tidak nyaman bagi pasien.^{2,9}

Klorheksidin glukonat biasanya digunakan sebagai obat kumur dalam mencegah penyakit periodontal dan karies. Klorheksidin glukonat merupakan larutan irigasi banyak digunakan dalam perawatan endodontik karena bersifat antibakteri yang berspektrum luas, sitotoksitasnya relatif rendah dan memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri tertentu yang resisten, terutama bakteri *Enterococcus faecalis*.¹⁰

Sebenarnya, klorheksidin glukonat hanya dapat berfungsi sebagai larutan irigasi tambahan atau sebagai bilasan akhir setelah pemakaian larutan NaOCl. Hal ini disebabkan oleh ketidakmampuan klorheksidin glukonat dalam menghilangkan jaringan organik atau sisa-sisa jaringan nekrotik dan memiliki aktivitas antibakteri yang lebih rendah terhadap bakteri Gram-negatif dibandingkan dengan bakteri Gram-positif.^{10,11} Klorheksidin juga bereaksi dengan NaOCl dan menghasilkan suatu endapan yang berwarna merah sehingga penggunaannya harus hati-hati.^{12,13} Klorheksidin juga memiliki kekurangan lainnya yaitu memiliki efek samping berupa iritasi pada gingiva.⁷

Sekarang ini banyak tanaman obat yang digunakan sebagai sumber bahan obat tradisional. Bahan alamiah juga banyak dieksploitasi sebagai bahan obat-obatan karena mempunyai nilai toksisitas yang lebih rendah, memiliki lebih sedikit efek

samping, dan mudah didapatkan.¹⁴ Bahan alamiah yang sering digunakan di antaranya adalah daun mimba dan daun sirih. Daun mimba merupakan tanaman obat yang paling berguna. Hampir semua bagian dari tanaman ini dapat digunakan sebagai obat-obatan. Bagian dari tanaman ini seperti buah, biji, daun, kulit dan akar mengandung bahan antiseptik, antivirus, anti peradangan, antioksidan, antipiretik, analgesik dan anti jamur. Ekstrak daun mimba memiliki efek antioksidan dan bersifat biokompatibel. Rasa pahit dari daun mimba dapat dihilangkan dengan menambahkan bahan pemanis atau perasa untuk meningkatkan kepatuhan dan kenyamanan pasien.^{15,16}

Penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun mimba memiliki efek menghambat bakteri *Enterococcus faecalis* dan *Candida albicans*. Penemuan ini juga disetujui oleh Hedge dkk., bahwa efek antimikroba ekstrak daun mimba yang dibandingkan dengan sodium hipoklorit, sehingga, disimpulkan bahwa ekstrak daun mimba memiliki efek aktifitas antimikroba melawan organisme *Enterococcus faecalis* dan *Candida albicans*.¹⁷

Nayak Aarati dkk., menyatakan bahwa *Enterococcus faecalis* menunjukkan adanya sensitifitas pada ekstrak daun mimba konsentrasi 15%, 7.5%, resisten pada konsentrasi 3.75%, 1.88%, 0.94%, 0.47%, 0.23%, 0.12%, 0.06% dan 0.03%. *Candida albicans* menunjukkan sensitifitas pada ekstrak daun mimba konsentrasi 15%, 7.5%, resisten pada konsentrasi 3.75%, 1.88%, 0.94%, 0.47%, 0.23%, 0.12%, 0.06% dan 0.03%.¹⁸ Akan tetapi, menurut Dhanya Kumar, konsentrasi 10% ekstrak daun mimba tidak efektif untuk bakteri *Enterococcus faecalis*. Ekstrak daun mimba dengan konsentrasi tertinggi yaitu 50% baru efektif terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*.¹⁸ Menurut penelitian yang dilakukan oleh Mistry KS. dkk., menyatakan bahwa konsentrasi kadar hambat minimal daun mimba terhadap bakteri *Enterococcus faecalis* adalah 50%.¹⁷

Daun sirih diketahui memiliki khasiat yang sama seperti larutan irigasi dan medikamen yaitu sebagai antibakteri. Daun sirih juga memiliki bermacam-macam khasiat lainnya, seperti fungisida, antioksidan, memiliki sifat menahan pendarahan,

penyembuhan luka pada kulit, obat saluran cerna. Daun sirih merah memiliki sifat antibakteri, karena daun sirih merah memiliki senyawa flavonoid, saponin, alkaloid minyak atsiri, polivenolad dan tanin. Menurut Ariesdyanata, daun sirih merah memiliki kemampuan antibakteri terhadap bakteri gram positif dan gram negatif.¹⁹ Pada konsentrasi 20% bekerja baik terhadap bakteri *Streptococcus viridans* dan *Enterococcus faecalis*.^{20,21}

Akan tetapi, menurut Saraswati, konsentrasi hambat minimal infusum daun sirih merah terhadap bakteri *Enterococcus faecalis* adalah 12.5% dan konsentrasi bunuh minimal infusum daun sirih merah terhadap bakteri *Enterococcus faecalis* adalah 25%.²² Menurut penelitian yang dilakukan oleh Pangabdian, infusum daun sirih merah dengan konsentrasi 30% dan 40% memiliki efektivitas dalam membersihkan dinding saluran akar dari *smear layer* dibandingkan dengan konsentrasi lainnya.²³ Karena ada banyak perbedaan kontroversi persentase yang belum jelas dari bahan infusum daun mimba dan daun sirih merah dari beberapa hasil penelitian sebelumnya sehingga timbul masalah ada tidaknya perbedaan efek antibakteri antara daun mimba dengan daun sirih merah dan klorheksidin glukonat terhadap jumlah koloni *Enterococcus faecalis* secara *in vitro*.

B. Rumusan Masalah

Apakah ada perbedaan efek antibakteri antara daun mimba dengan daun sirih merah dan klorheksidin glukonat terhadap *Enterococcus faecalis* secara *in vitro*?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan efek antibakteri antara daun mimba dengan daun sirih merah dan klorheksidin glukonat terhadap *Enterococcus faecalis* secara *in vitro*.

D. Manfaat Penelitian

Bagi ilmu pengetahuan, penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai penelitian bahan irigasi saluran akar dalam bidang kedokteran gigi, terutama dalam bidang ilmu konservasi gigi dan dapat mengembangkan fungsi tanaman obat yang dapat digunakan dibidang kedokteran gigi. Bagi praktisi kedokteran gigi di bidang endodontik adalah menemukan bahan alami alternatif untuk irigasi saluran akar sehingga tingkat keberhasilan perawatan saluran akar meningkat. Bagi masyarakat agar diperoleh pelayanan perawatan gigi yang lebih baik ditinjau dari tingkat keamanan bahan irigasi saluran akar yang akan digunakan dan dari segi ekonomis.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Perawatan Saluran Akar

Mikroorganisme yang terdapat pada dinding saluran akar dapat berkembang dan menyebabkan kerusakan pada jaringan periapikal. Keberhasilan perawatan endodontik tergantung pada tahapan preparasi biomekanik, sterilisasi dan pengisian saluran akar.²⁴ Preparasi biomekanik saluran akar adalah langkah penting dalam perawatan endodontik. Tujuan umum preparasi biomekanik adalah membersihkan saluran akar dari sisa-sisa bahan organik dan pembentukan saluran akar sehingga dapat diisi dengan padat dan kedap. Preparasi biomekanik akan menunjang proses disinfeksi dan pengisian saluran akar yang baik, sehingga keberhasilan perawatan dapat dicapai. Prosedur perawatan saluran akar dilakukan secara kimia-mekanis, yaitu preparasi secara mekanis menggunakan instrumen dan secara kimiawi dengan larutan irigasi.²⁵

Tindakan irigasi akan sangat penting karena bertujuan untuk mengeliminasi debris, *smear layer* serta mikroorganisme yang mungkin tidak dapat dijangkau oleh instrumen mekanis. Eliminasi jaringan nekrotik dan terinfeksi dalam saluran akar akan menghindari terjadinya infeksi sekunder, serta meningkatkan keberhasilan perawatan endodontik.¹ Infeksi pulpa adalah infeksi yang disebabkan oleh banyak bakteri, yang memiliki faktor virulensi yang bervariasi. *Enterococcus faecalis* merupakan yang paling sering dan merupakan salah satu mikroorganisme yang dominan dalam ekosistem dan persisten pada lesi periradikular dalam kasus-kasus perawatan ulang.²⁶

B. Bakteri *Enterococcus faecalis*

Beberapa penelitian menyatakan bahwa 80-90% bakteri penyebab infeksi saluran akar dan jaringan periapikal adalah bakteri Gram positif dan sebagian besar disebabkan oleh bakteri fakultatif anaerob dan anaerob obligat. *Enterococcus faecalis* merupakan bakteri fakultatif anaerob yang dapat ditemukan sebagai flora normal pada manusia. Prevalensi bakteri *Enterococcus faecalis* meningkat pada pasien yang sedang dilakukan perawatan endodontik. Bakteri ini selalu berhubungan dengan penyakit periradikular dan infeksi yang persisten. *Enterococcus faecalis* merupakan salah satu mikroorganisme yang dominan dalam ekosistem dan persisten pada lesi periradikular terutama kasus periodontitis apikalis akut, abses periradikular akut serta kasus-kasus perawatan ulang.^{26,27}

Enterococcus faecalis adalah salah satu organisme utama penyebab kegagalan pada perawatan endodontik. *Enterococcus faecalis* sembilan kali lebih banyak ditemukan pada gigi yang mengalami kegagalan perawatan saluran akar dibandingkan dengan infeksi endodontik yang pertama dan memiliki sifat virulensi yang mampu untuk bertahan dan masuk ke dalam tubulus dentin.²⁷

Bakteri *Enterococcus faecalis* merupakan bakteri kokus gram positif dan tidak membentuk spora. Bentuknya adalah ovoid dengan diameter 0,5-1µm dan terdiri dari rantai pendek, berpasangan atau bahkan tunggal. Dinding sel dari bakteri *Enterococcus faecalis* terdiri dari peptidoglikan 40%, sisanya merupakan *teichoic acid* dan polisakarida. Sintesis peptidoglikan dihasilkan oleh keseimbangan antara enzim polimerisasi dan hidrolitik. Peptidoglikan merupakan makromolekul utama yang terlibat dalam penentuan bentuk sel dan peliharaanya. Zat ini juga berguna sebagai lapisan pelindung dari kerusakan oleh tekanan osmotik sitoplasma yang tinggi.²⁸

Bakteri *Enterococcus faecalis* dapat menempel pada dinding saluran akar, berakumulasi dan membentuk biofilm.²⁹ *Enterococcus faecalis* dapat masuk ke dalam sistem saluran akar selama perawatan endodontik, di setiap kunjungan ke

dokter gigi dan bahkan sesudah perawatan endodontik karena terjadi kebocoran pada restorasi atau pengisian yang kurang baik. Bakteri ini paling resisten dalam saluran akar dan tetap dapat hidup dalam tubuli dentin dengan pH 11,5. Hal ini diperkirakan mendapat pengaruh dari impermeabilitas membrane terhadap asam dan alkali.³⁰

C. Larutan Irigasi Saluran Akar

Semua teknik instrumentasi, tergantung pada penggunaan bahan irigasi untuk membantu dalam mengangkat debris dari dalam saluran akar. Bahan irigasi yang ideal tidak boleh toksik, dapat melarutkan baik jaringan pulpa vital maupun nekrotik, membunuh mikroorganisme, sebagai lubrikasi, dan mengangkat *smear layer*. Bahan irigasi yang paling sering digunakan adalah natrium hipoklorit (NaOCl), hydrogen peroksida, *Ethylenediaminetetraacetic-acid* (EDTA), asam sitrat, dan MTAD. Meskipun natrium hipoklorit tampak sangat efektif sebagai bahan antimikroba, namun, bakteri tidak pernah tereliminasi secara sempurna.³¹

1. Klorheksidin glukonat

Klorheksidin dapat digunakan sebagai bahan irigasi serta medikamen saluran akar karena memiliki sifat biokompatibel dan memiliki efek antimikroba yang luas. Terlebih lagi klorheksidin sangat efektif dalam mengeliminasi kuman *Enterococcus faecalis*, yaitu salah satu bakteri pathogen yang paling sering ditemukan pada perawatan saluran akar yang gagal. Secara medis, bahan ini dapat digunakan dalam konsentrasi 0,12%-2%.³²

Daya tahan antibakteri larutan klorheksidin glukonat 2% sebagai irigasi saluran akar dapat bertahan selama 72 jam, sedangkan menurut Khademi dengan pengaplikasian selama 5 menit dapat menimbulkan daya tahan hingga 4 minggu.³² Walton dan Rivera mengevaluasi bahwa setelah 10 menit pengaplikasian klorheksidin 2%, efek antibakterinya dapat bertahan hingga 12 minggu. Klorheksidin memiliki daya kompatibilitas yang sangat baik pada sifat perlekatan dalam mukosa mulut untuk jangka waktu yang panjang.

Zat ini melekat pada dinding sel bakteri Gram positif dan negatif, menyebabkan presipitasi protein dari dinding sel, koagulasi sitoplasma dan pemecahan komponen intraseluler. Mekanisme ini memungkinkan klorheksidin glukonat bekerja sebagai agen bakteriostatik pada konsentrasi rendah dan sebagai agen bakterisida pada konsentrasi yang tinggi.³³ Daya tahan antibakteri dari klorheksidin tergantung pada jumlah molekul klorheksidin glukonat yang tersedia untuk berinteraksi dengan dentin. Kekurangan klorheksidin adalah tidak dapat melarutkan jaringan organik dan efek samping berupa iritasi pada gingiva.⁷

2. Daun sirih merah (*Piper crocatum*)

Sirih merupakan tumbuhan terna yang termasuk family *piperaceae*. Sirih memiliki jenis yang beragam, seperti sirih hijau, sirih hitam, sirih kuning dan sirih merah. Semua jenis tanaman sirih memiliki ciri yang hampir sama yaitu tanamannya merambat dengan bentuk daun menyerupai hati dan bertangkai yang tumbuh berselang seling dari batangnya. Daun sirih merah merupakan tanaman menjalar, merambat pada batang pokok di sekelilingnya dengan daunnya yang memiliki bentuk pipih seperti bentuk hati, tangkainya agak panjang, tepi daun rata, ujung daun meruncing, pangkal daun berlekuk, tulang daun menyirip (Gambar1). Daun sirih merah yang memenuhi syarat untuk dipanen adalah daun yang sudah berumur lebih dari satu bulan. Daun sirih yang umurnya kurang dari satu bulan, memiliki kandungan kimia yang belum maksimal sehingga, daya penyembuhnya tidak sebaik daun yang sudah berumur satu bulan atau lebih.³⁴



Gambar 1. Daun sirih merah, daun yang berbentuk pipih, hati, tangkai panjang, ujung daun meruncing, pangkal daun melekok, tulang daun menyirip³⁴

Secara umum daun sirih mengandung minyak atsiri hingga 4,2%, senyawa tannin, fenil propanoid. Daun tanaman sirih dalam pengobatan modern sering dipergunakan sebagai adstringensia, diuretika dan antiinflamasi, sebagai bahan obat umumnya digunakan dalam bentuk infusum dengan dosis 6% hingga 15%.^{35,36}

Daun sirih memiliki aroma yang khas yaitu rasa pedas dan tajam. Rasa dan aroma yang khas tersebut disebabkan oleh kavikol dan bethelphenol yang terkandung dalam minyak atsiri. Beberapa faktor lain juga menentukan aroma dan rasa daun sirih seperti jenis sirih itu sendiri, umur sirih, jumlah sinar matahari yang hingga ke bagian daun, dan kondisi dedaunannya. Daun sirih dapat digunakan dalam bentuk segar, simplisia atau dikeringkan, diekstrak, maupun dibuat infusum.³⁷ Metode fraksinasi digunakan untuk mendapatkan senyawa-senyawa flavonoid, tannin yang aktif sebagai antimikroba dari ekstrak etanol menggunakan pelarut polar (etilasetat).³⁶

Daun sirih merah memiliki pigmen karoten, xantofil, klorofil a, dan klorofil b. kadar klorofil pada daun sirih merah lebih besar dibandingkan kadar klorofil pada daun sirih hijau.³⁸ Klorofil merupakan zat pewarna utama pada tumbuhan, yang bisa ditemukan pada semua tumbuhan berwarna hijau. Klorofil merupakan faktor penting selama proses fotosintesis. Selain itu, klorofil dapat menyebabkan perubahan warna pada gigi dan gigi tiruan. Pada penelitian yang dilakukan oleh Kristina, menyatakan bahwa bahan pembersih gigi tiruan yang berasal dari daun sirih, mempunyai efektifitas untuk menghilangkan lapisan plak bakteri, akan tetapi, bahan ini memiliki efek samping seperti perubahan warna.³⁹

Daun sirih merah, merupakan bahan alami yang dapat digunakan sebagai bahan irigasi saluran akar. Daun ini mengandung saponin yang memiliki karakter sebagai surfaktan, yang memiliki kemampuan dalam menurunkan tegangan permukaan, sehingga dapat melarutkan material organik, anorganik dan sekaligus menghilangkan mikroorganisme dalam saluran akar.²³ Kandungan tanin yang ada pada daun sirih merah juga bersifat antibakteri dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein lalu merusak sel membran sitoplasma bakteri yang

menyebabkan denaturasi protein dan kematian bakteri secara permanen.⁴⁰

Flavonoid merupakan golongan fenol dan dapat membunuh bakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan protein melalui ikatan hidrogen. Terbentuknya senyawa kompleks menyebabkan terganggunya struktur tersier protein yang menyebabkan protein tidak dapat berfungsi lagi sehingga terjadi denaturasi pada protein dan asam nukleat. Denaturasi molekul-molekul protein dan asam nukleat menyebabkan koagulasi atau pembekuan protein yang akan menyebabkan gangguan metabolisme dan fungsi fisiologis bakteri sehingga dapat membunuh bakteri.⁴¹ Polivenolad merupakan koagulator protein bakteri sehingga protein yang menggumpal tidak dapat berfungsi lagi. Kerusakan protein bakteri ini menyebabkan sel bakteri mengalami gangguan dalam fungsi fisiologis sel yang normal, terjadi inhibisi dalam fungsi metabolisme bakteri. Terganggunya metabolisme ini menyebabkan kebutuhan energi tidak terpenuhi sehingga menyebabkan kerusakan bakteri.⁴³

Pada penelitian yang dilakukan oleh Saraswati, dinyatakan bahwa infusum daun sirih merah mempunyai pengaruh terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Enterococcus faecalis*. Konsentrasi hambat minimal infusum daun sirih merah terhadap bakteri *Enterococcus faecalis* adalah 12,5% dan konsentrasi bunuh minimal terhadap bakteri *Enterococcus faecalis* adalah 25%.²² Menurut penelitian yang dilakukan oleh Pangabdian, infusum daun sirih merah dengan konsentrasi 30% dan 40% memiliki efektivitas dalam membersihkan dinding saluran akar dari *smear layer* dibandingkan dengan konsentrasi lainnya.²³

3. Daun mimba (*Azadirachta indica*)

Azadirachta indica merupakan tanaman yang sangat terkenal di India dan negara-negara tetangganya karena khasiat tanaman ini memiliki aktivitas biologis dengan spektrum yang luas. Tanaman ini sering dianggap sebagai “*village dispensary*” di India. Merupakan tanaman tradisional yang paling berguna dan memiliki manfaat yang sangat banyak bagi kehidupan manusia. Setiap bagian dari tanaman tersebut dapat digunakan sebagai obat sehingga, tanaman ini dieksploitasi

secara komersial. Selama lima dekade terakhir ini, tanaman ini mulai diaplikasikan untuk bidang kedokteran.⁴⁴ *Azadirachta indica* diketahui memiliki efek antibakteri, antijamur dan aktivitas antivirus terhadap penyakit chikungunya, campak, coxsackie B. Bagian daun, kulit kayu, minyak dari biji tanaman ini menunjukkan aktivitas antioksidan, antimalaria dan anti inflamasi.⁴⁵

Tanaman mimba memiliki banyak sebutan dalam bahasa inggris yaitu *Neem*, *Nim*, *Margosa*, *Indian Lilac*, *Bead Tree*, *Pride of China*, *Holy tree*, *Persian Lilac*. Daun mimba tersusun spiralis, mengumpul di ujung ranting dan merupakan daun majemuk menyirip genap. Tepi anak daun mimba bergerigi, memiliki helaian tipis seperti kulit, bangun memanjang hingga tengah lanset, pangkal yang runcing, dengan ujung yang meruncing, setengah meruncing, dapat berbulu maupun tidak berbulu. Panjang daun mimba itu sendiri sekitar 3-10,5 cm dan lebarnya daun 0,5-3,5 cm (Gambar 2).⁴⁶



Gambar 2. Daun mimba, bergerigi, memiliki helaian tipis seperti kulit, bangun memanjang hingga tengah lanset, pangkal yang runcing, dengan ujung yang meruncing.

Penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun mimba memiliki efek menghambat bakteri *Enterococcus faecalis* dan *Candida albicans*. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Ghonmode, ekstrak daun mimba terbukti lebih efektif dibandingkan dengan sodium hipoklorit.⁴⁷ Hal ini diperkuat oleh penelitian Vinothkumar yang menyatakan bahwa ekstrak daun mimba menunjukkan hasil yang lebih efektif melawan bakteri *Enterococcus faecalis* dan *Candida albicans* dibandingkan dengan larutan irigasi 5,25% NaOCl.⁴⁸ Penemuan ini juga disetujui

oleh Hedge dkk., bahwa efek antimikroba ekstrak daun mimba yang dibandingkan dengan sodium hipoklorit, sehingga, disimpulkan bahwa ekstrak daun mimba memiliki efek aktifitas antimikroba melawan organisme *Enterococcus faecalis* dan *Candida albicans*.

Nayak Aarati menyatakan bahwa *Enterococcus faecalis* menunjukkan adanya sensitifitas pada ekstrak daun mimba konsentrasi 15%, 7.5%.¹⁸ Menurut penelitian yang dilakukan oleh Dhanya Kumar, konsentrasi 10% ekstrak daun mimba tidak efektif untuk bakteri *Enterococcus faecalis*. Ekstrak daun mimba dengan konsentrasi tertinggi yaitu 50% baru efektif terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*.¹⁸ Menurut penelitian yang dilakukan oleh Mistry K.S. dkk., menyatakan bahwa konsentrasi kadar hambat minimal daun mimba terhadap bakteri *Enterococcus faecalis* adalah 50%

Timothy dkk., menyatakan bahwa ekstrak daun mimba mengandung bahan aktif saponin, tannin, glikosida, flavonoid, alkaloid, fenol, *azadirachtin*, nimbin, dan terpenoid. Bahan aktif ini merupakan bahan yang bersifat antibakteri melawan bakteri *Enterococcus faecalis*.^{4,45,47}

Ekstrak etanol dari biji mimba mengandung asam palmitat, asam stearate, asam aleat, etil oleat, asam oktadekanoat, etil oktadekanoat dan ester dioktil heksadioat.^{46,47} Ekstrak daun mimba memiliki beberapa senyawa aktif seperti nimbin, nimbinin, nimbidinin yang dapat menghambat sintesis dari membran sel. Ekstrak daun mimba juga memiliki fungsi sebagai antiinflamasi yaitu memiliki kemampuan untuk mencegah terproduksi prostaglandin terutama PGE1 yang merupakan karakteristik yang dibutuhkan dalam sebuah larutan irigasi.^{50,51} Nimbin dan nimbidin berperan sebagai anti mikro organisme seperti anti-virus, bakterisida, fungisida sangat bermanfaat untuk digunakan dalam mengendalikan penyakit tanaman. Tidak terbatas hal itu, bahan-bahan ini sering digunakan dan dipercaya masyarakat sebagai obat tradisional yang mampu menyembuhkan segala jenis penyakit pada manusia.⁵¹

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Giri S. dkk., menyatakan bahwa daun

mimba memiliki pigmen klorofil a, klorofil b dan karoten. Gigi yang berkontak dengan zat klorofil akan menyebabkan perubahan warna hijau kehitaman.⁵² Pada penelitian yang dilakukan oleh Kutchers dan David, menyatakan bahwa, gigi yang dioleskan minyak klorofil sebanyak tiga kali sehari selama empat bulan, menyebabkan gigi berwarna hijau kehitaman.^{53,54}

D. Perhitungan Jumlah Koloni

Penghitungan jumlah sel dapat dilakukan dengan beberapa cara seperti metode hitungan cawan (*Total Plate Count*), hitungan mikroskopis langsung (*Direct Count*) dan penghitung Coulter. Cara lain penentuan jumlah sel adalah dengan menyaring sampel dengan saringan membran kemudian saringan tersebut diinkubasi pada permukaan media yang sesuai. Koloni-koloni yang terbentuk berasal dari satu sel tunggal yang dapat hidup.⁵⁵

Metode hitungan cawan menggunakan anggapan bahwa setiap sel akan hidup berkembang menjadi satu koloni. Jumlah koloni yang muncul menjadi indeks bagi jumlah organisme yang terkandung di dalam sampel. Teknik perhitungan ini membutuhkan kemampuan melakukan pengenceran dan mencawankan hasil pengenceran. Cawan-cawan tersebut kemudian diinkubasi dan kemudian dihitung jumlah koloni yang terbentuk. Cawan yang dipilih untuk penghitungan koloni, sesuai dengan kaidah statistik adalah cawan yang berisi 30-300 koloni. Jumlah organisme yang terdapat dalam sampel asal dihitung dengan cara mengalikan jumlah koloni yang terbentuk dengan faktor pengenceran pada cawan bersangkutan.⁵⁵

BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS

A. Kerangka Teori

Perawatan endodontik bertujuan untuk menghilangkan bakteri dari dalam saluran akar. Tujuan tersebut dapat dicapai dengan dilakukan preparasi biomekanik. Preparasi saluran akar dilakukan untuk menghilangkan jaringan nekrotik, debris dentin yang terinfeksi, dan untuk eliminasi mikroorganisme dalam saluran akar. Preparasi saluran akar dilakukan secara biomekanik, yaitu preparasi secara mekanis menggunakan instrumen dan secara kimiawi dengan larutan irigasi. Bahan irigasi yang optimal harus dapat membuang debris, lubrikasi saluran akar dan eliminasi mikroorganisme.

Tetapi menurut penelitian ada bakteri yang tidak mudah dihilangkan dalam saluran akar, yaitu *Enterococcus faecalis* merupakan salah satu mikroorganisme yang dominan dalam ekosistem dan persisten pada lesi periradikular dalam kasus-kasus perawatan ulang dan mengingat adanya anatomi saluran akar yang kompleks. Sehingga dibutuhkan larutan irigasi yang mampu mengeliminasi mikroba tersebut. Bahan yang biasa digunakan sebagai bahan irigasi adalah natrium hipoklorit, klorheksidin glukonat, iodine, hidrogen peroksida, *Ethylenediaminetetraacetic-acid* (EDTA), asam sitrat, dan MTAD.

Klorheksidin glukonat merupakan larutan irigasi yang digunakan secara luas untuk bahan disinfeksi karena memiliki efek antimikroba yang baik. Klorheksidin merupakan bahan antimikroba spektrum luas yang efektif untuk bakteri gram positif, negatif, serta terbukti efektif terhadap eliminasi *Enterococcus faecalis*. Klorheksidin glukonat memiliki bahan aktif bisbiguanida yang bersifat bakterisid, bisbiguanida ini akan diserap ke dalam sel bakteri dan menyebabkan kerusakan komponen intraselular bakteri. Efek antimikrobia dari klorheksidin tergantung

pada banyaknya jumlah molekul dan lamanya klorheksidin yang berinteraksi dengan dinding saluran akar. Akan tetapi, klorheksidin memiliki kekurangan, yaitu tidak dapat melarutkan jaringan organik, memiliki efek samping berupa iritasi pada gingiva, gingivitis deskuamatif, perubahan warna pada gigi. Klorheksidin dapat menghasilkan endapan merah jika bereaksi dengan natrium hipoklorit.

Saat ini sudah dikembangkan suatu bahan alami yang efektif terhadap *Enterococcus faecalis*, yaitu daun mimba dan daun sirih. Infusum daun sirih merah mengandung minyak atsiri yang komponen utamanya adalah senyawa fenol dan mempunyai daya antibakteri dan antijamur yang kuat serta dapat menghambat pertumbuhan beberapa jenis bakteri.

Daun mimba telah ditemukan oleh beberapa peneliti, memiliki kemampuan antimikroba terutama *Enterococcus faecalis* dan *Candida albicans*. Daun mimba memiliki bahan aktif saponin, tanin, flavonoid. Bahan aktif ini merupakan bahan yang bersifat antibakteri melawan bakteri *Enterococcus faecalis*. Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler keluar. Menurut Senyawa ini berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan, lalu mengikat membran sitoplasma dan mengganggu serta mengurangi kestabilan bakteri. Hal ini menyebabkan sitoplasma bocor, keluar dari sel yang menyebabkan kematian sel. Nimbin dan nimbidin berperan sebagai anti mikro organisme seperti anti-virus, bakterisida, fungisida sangat bermanfaat untuk digunakan dalam mengendalikan penyakit tanaman.

Mekanisme kerja dari tanin yaitu dengan kemampuannya menginaktifkan enzim *reverse transcriptase* dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel sehingga menyebabkan sel bakteri menjadi lisis. Bahan aktif lain yang terdapat pada daun mimba adalah flavonoid. Flavonoid bekerja sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan menyebabkan keluarnya senyawa intraseluler.

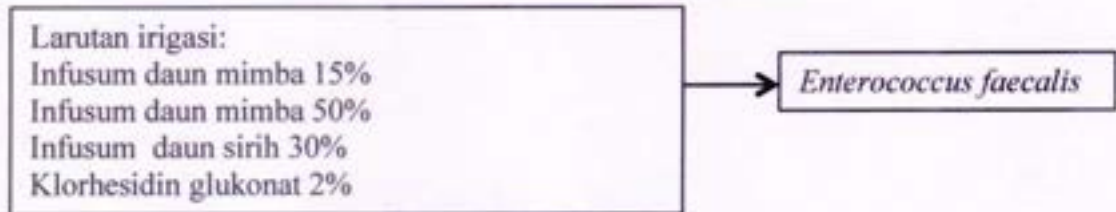
Daun sirih merah memiliki senyawa aktif fenol dari minyak atsiri yang dapat menyebabkan denaturasi protein dan asam nukleat bakteri. Kandungan tannin, saponin dan polivenolad pada daun sirih merah bersifat antibakteri. Flavonoid pada daun sirih merah memiliki mekanisme antibakteri melalui berbagai macam cara yaitu inhibisi sintesis asam nukleat, inhibisi fungsi membrane sitoplasma melalui pembentukan kompleks terhadap protein ekstraseluler, dan melalui penghambatan metabolisme bakteri. Hal ini dapat menyebabkan terjadinya kerusakan sel. Daun sirih merah juga memiliki bahan aktif steroid. Steroid bekerja dengan mengganggu sitoplasma bakteri sehingga menyebabkan kerusakan bakteri.

Menurut penelitian terdahulu, ekstrak daun mimba memiliki sensitifitas terhadap bakteri *Enterococcus faecalis* dalam konsentrasi 15%, tetapi, pada penelitian lainnya, disebutkan bahwa konsentrasi bunuh minimal daun mimba terhadap bakteri *Enterococcus faecalis* adalah 50%. Infusum daun sirih merah dengan konsentrasi 30% merupakan konsentrasi terbaik dalam efektivitasnya membunuh bakteri *Enterococcus faecalis* dan dapat membersihkan dinding saluran akar dari *smear layer* dibandingkan dengan konsentrasi lainnya. Sifat-sifat larutan irigasi diatas dan perbedaan konsentrasi, dapat mempengaruhi keberhasilan perawatan saluran akar terutama dari efek antimikrobial yang berbeda-beda dan belum ada penelitian yang dilakukan secara langsung pada gigi yang sudah diekstraksi.

Daun mimba dan daun sirih merah mengandung zat klorofil a, klorofil b dan karoten. Klorofil merupakan zat warna utama yang dimiliki oleh semua jenis tumbuhan hijau. Klorofil sendiri memiliki banyak fungsi bagi tumbuhan tersebut. Klorofil dapat membantu proses fotosintesis pada semua bagian tumbuhan yang berwarna hijau, termasuk stem dan buahnya. Akan tetapi, bila gigi berkontak terlalu sering dengan zat warna klorofil ini, akan menyebabkan timbulnya pewarnaan hijau kehitaman pada gigi yang sering berkontak melebihi 3 bulan pemakaian.

B. Kerangka Konsep

Kerangka konsep penelitian dapat digambarkan sebagai berikut:



C. Hipotesis

Ada perbedaan efek antibakteri antara daun mimba dengan daun sirih merah dan klorheksidin glukonat terhadap *Enterococcus faecalis* secara *in vitro*.

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris untuk mengetahui perbedaan efek antibakteri antara infusum daun mimba, infusum daun sirih merah, dan klorheksidin glukonat terhadap *Enterococcus faecalis* secara *in vitro*.

B. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan paska perlakuan dengan kontrol

C. Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan gigi premolar rahang bawah yang telah diekstraksi untuk keperluan orthodonti di dua klinik gigi yang ada di Jakarta Barat. Setelah diekstraksi, gigi dibersihkan dari debris dan jaringan periodontal yang tertinggal, lalu disimpan di dalam larutan salin. Kriteria sampel penelitian ini adalah gigi premolar yang telah dikumpulkan harus sehat, memiliki akar yang telah terbentuk sempurna dan belum dilakukan perawatan saluran akar, serta memiliki saluran akar tunggal dan lurus yang dikonfirmasi dengan foto periapikal dari arah mesiodistal dan bukolingual.

Perhitungan jumlah sampel didapat dengan melakukan penelitian pendahuluan terlebih dahulu. Jumlah sample penelitian dihitung berdasarkan rumus Lwanga dan Lemeshow;⁵⁶

$$n = \frac{2 \sigma^2 (Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta})^2}{(\mu_1 - \mu_2)^2}$$

Keterangan:

n = jumlah sampel

σ = standar deviasi

$\sigma = 1,6$

$Z_{1-\alpha/2}$ = deviat baku normal untuk tingkat kemaknaan (1,96) ($Z_{-\alpha/2} = 1,96$)

$Z_{1-\beta}$ = deviat baku normal untuk kekuatan uji ($Z_{1-\beta} = 0,845$)

μ_1 = rata-rata besarnya daya hambat pertumbuhan koloni bakteri *Enterococcus faecalis* pada larutan pertama $\mu_1 = 7,000$

μ_2 = rata-rata besarnya daya hambat pertumbuhan koloni bakteri *Enterococcus faecalis* pada larutan kedua $\mu_2 = 4,000$

Berdasarkan penelitian pendahuluan, diperoleh bahwa besar sampel minimal adalah

4. Dalam penelitian ini akan dipakai 5 sampel untuk setiap kelompok, sehingga untuk 4 kelompok, jumlah total sampel adalah 20.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel pengaruh atau bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah larutan infusum daun mimba (*Azadirachta indica*), infusum daun sirih merah (*piper crocatum*), dan klorheksidin glukonat 2%

2. Variabel terpengaruh atau tergantung

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah jumlah koloni bakteri *Enterococcus faecalis*

3. Variabel luar

Variabel terkendali pada penelitian ini adalah:

- Operator
- Jenis file
- Teknik preparasi

- d. Jenis bakteri
- e. Jumlah bakteri yang diinokulasikan ke dalam saluran akar
- f. Ukuran standar dari tiap lubang
- g. Cara memasukan larutan

E. Definisi Operasional Variabel

1. Infusum daun mimba (*Azadirachta indica*)

Larutan infusum daun mimba adalah larutan infusum daun mimba konsentrasi 15%, dan 50%. Uji fitokimia infusum daun mimba yang dihasilkan akan dilakukan di Pusat Studi Biofarmaka Bogor.

2. Daun sirih merah (*Piper crocatum*)

Larutan infusum daun sirih adalah larutan infusum daun sirih merah konsentrasi 30%. Uji fitokimia infusum daun sirih merah yang dihasilkan akan dilakukan di Pusat Studi Biofarmaka Bogor.

3. Klorheksidin glukonat 2%

Klorheksidin glukonat 2% adalah larutan *Chlorhexidine Gluconate 2% (cavity cleaner, ultradent)*.

4. Efek antibakteri

Efek antibakteri adalah efek antibakteri dari larutan irigasi dalam mengurangi jumlah koloni bakteri *Enterococcus faecalis* dalam saluran akar. Upaya tersebut dilakukan dengan pemberian larutan daun sirih merah, Efek antibakteri dari larutan daun sirih merah, larutan daun mimba, klorheksidin glukonat terlihat dari jumlah koloni bakteri *Enterococcus faecalis* yang masih terdapat di dalam saluran akar setelah perlakuan.

Skala: rasio

F. Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat penelitian

- a. *Handpiece contra angle high speed (KaVo, Germany)*

- d. Jenis bakteri
- e. Jumlah bakteri yang diinokulasikan ke dalam saluran akar
- f. Ukuran standar dari tiap lubang
- g. Cara memasukan larutan

E. Definisi Operasional Variabel

1. Infusum daun mimba (*Azadirachta indica*)

Larutan infusum daun mimba adalah larutan infusum daun mimba konsentrasi 15%, dan 50%. Uji fitokimia infusum daun mimba yang dihasilkan akan dilakukan di Pusat Studi Biofarmaka Bogor.

2. Daun sirih merah (*Piper crocatum*)

Larutan infusum daun sirih adalah larutan infusum daun sirih merah konsentrasi 30%. Uji fitokimia infusum daun sirih merah yang dihasilkan akan dilakukan di Pusat Studi Biofarmaka Bogor.

3. Klorheksidin glukonat 2%

Klorheksidin glukonat 2% adalah larutan *Chlorhexidine Gluconate 2% (cavity cleaner, ultradent)*.

4. Efek antibakteri

Efek antibakteri adalah efek antibakteri dari larutan irigasi dalam mengurangi jumlah koloni bakteri *Enterococcus faecalis* dalam saluran akar. Upaya tersebut dilakukan dengan pemberian larutan daun sirih merah, Efek antibakteri dari larutan daun sirih merah, larutan daun mimba, klorheksidin glukonat terlihat dari jumlah koloni bakteri *Enterococcus faecalis* yang masih terdapat di dalam saluran akar setelah perlakuan.

Skala: rasio

F. Alat dan Bahan Penelitian

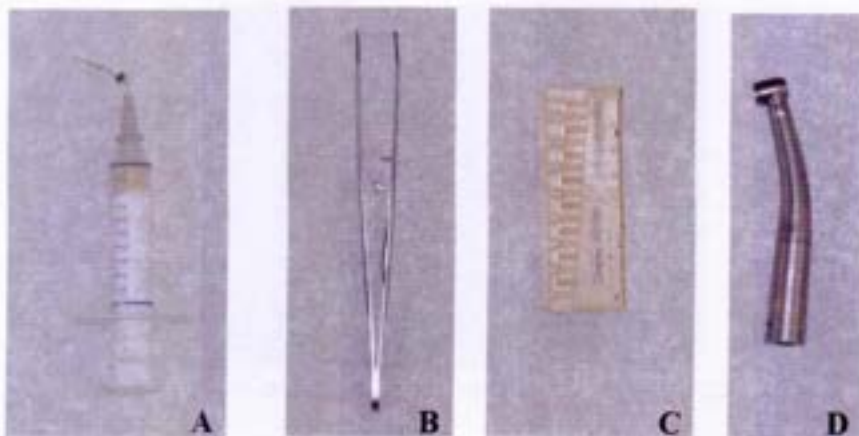
1. Alat penelitian

- a. *Handpiece contra angle high speed (KaVo, Germany)*

- b. *Round bur*
- c. *Round edge wheel bur*
- d. *C+ file #8, #10*
- e. *File Protaper (Maillefer, Dentsply)*
- f. *Endo gauge (Maillefer, Dentsply)*
- g. *Rotary instrument motor X-smart Plus (Mailefer, Dentsply)*
- h. *Disposable syringe dan jarum irigasi Max i-probe ukuran 30 gauge*
- i. *Pinset endodontik*
- j. *Pipet mikro*
- k. *Triangle spread*
- l. *Inkubator*
- m. *Inkubator shaker*
- n. *Rotary evaporator*
- o. *Cawan petri*
- p. *Colony counter*
- q. *Hand counter*
- r. *Bunsen*



Gambar 3. (A) Jarum file Protaper Rotary; (B) *Rotary instrument motor X-smart Plus (Mailefer, Dentsply)*



Gambar 4. (A) *syringe*; (B) Pinset endodontik; (C) *Endo gauge*; (D) *Handpiece contra angle high speed*



Gambar 5. (A) *Laminar airflow*; (B) Inkubator

2. Bahan penelitian

- a. Bakteri *Enterococcus faecalis* UICC
- b. Gigi yang diekstraksi (20 gigi)
- c. Larutan infusum daun mimba
- d. Larutan infusum daun sirih merah
- e. Larutan NaOCl 2,5%
- f. Larutan klorheksidin glukonat 2%
- g. Larutan salin
- h. *Paper point*
- i. *Trypton Soya Broth* (TSB)
- j. *Glucose Broth*



Gambar 6. Gigi premolar bawah dengan saluran akar tunggal



Gambar 7. Larutan infusum daun sirih merah dan larutan infusum daun mimba; (B) Larutan NaOCl 2,5%; (C) Klorheksidin Glukonat 2%; (D) EDTA 17%.



Gambar 8. Bakteri *Enterococcus faecalis* berbentuk kokus, bulat.

G. Jalannya Penelitian

1. Tahap identifikasi tanaman

Identifikasi daun sirih merah (*Piper crocatum*) dan daun mimba (*Azadirachta indica*) dilakukan di LIPI Bogor.

2. Pembuatan infusum daun mimba

Infusum daun mimba yang dipakai sebagai bahan uji pada penelitian ini dibuat di LIPI kimia Puspitek Serpong dengan konsentrasi 100%. Pembuatan infusum daun mimba dibuat dengan memotong daun mimba segar dengan diameter kurang lebih 0,5 cm, kemudian dikeringkan dengan cara dijemur pada sinar matahari langsung dengan bagian atas ditutupi dengan kain hitam selama 4 hari, kemudian pengeringan dilanjutkan menggunakan oven suhu 50°C selama 24 jam sehingga daun tersebut berwarna kehitaman dan rapuh, sehingga mudah untuk diremas.

Daun mimba yang telah kering dihaluskan dengan blender untuk mendapatkan bubuk mimba. Konsentrasi 100% didapatkan dari 100 g daun mimba ditambahkan akuades 100cc dipanaskan dengan suhu 90°C selama 15 menit kemudian disaring dengan kertas saring steril (Gambar 9). Pada konsentrasi infusum 15% dan 50% dilakukan pengenceran sesuai konsentrasi masing-masing. Larutan infusum daun mimba kemudian dimasukkan ke dalam saluran akar, didiamkan selama 5 menit, kemudian dibilas.



Gambar 9. (A) Menimbang bubuk daun mimba; (B) daun mimba dipanaskan selama 15 menit dengan suhu 90°C.

3. Pembuatan infusum daun sirih merah

Infusum daun sirih merah yang dipakai sebagai bahan uji pada penelitian ini dibuat di LIPI kimia Puspitek Serpong dengan konsentrasi 100%. Pembuatan

larutan infusum daun sirih merah (*Piper Crocatum*) konsentrasi 100% dibuat dengan diencerkan dengan akuades hingga konsentrasi 30%. Larutan daun sirih merah dibuat dengan memotong daun sirih merah segar dengan diameter kurang lebih 0,5 cm, kemudian dikeringkan dengan cara dijemur pada sinar matahari langsung dengan bagian atas ditutupi dengan kain hitam selama 4 hari, kemudian pengeringan dilanjutkan menggunakan oven suhu 50°C selama 24 jam sehingga daun tersebut berwarna kehitaman dan rapuh, sehingga mudah untuk diremas.

Daun sirih merah yang telah kering dihaluskan dengan blender untuk mendapatkan bubuk sirih. Konsentrasi 100% didapatkan dari 100 gram daun sirih merah ditambahkan akuades 100cc dipanaskan dengan suhu 90°C selama 15 menit kemudian disaring dengan kertas saring steril (Gambar 10). Pada konsentrasi infusum 30% dilakukan pengenceran sesuai konsentrasi masing-masing. Larutan infusum daun sirih merah kemudian dimasukkan ke dalam saluran akar, didiamkan selama 5 menit, kemudian dibilas.



Gambar 10. (A) Menimbang bubuk daun sirih merah; (B) daun sirih merah dipanaskan selama 15 menit dengan suhu 90°C.

4. Tahap persiapan bakteri

Persiapan inokulasi bakteri *Enterococcus faecalis* dibuat sesuai standar di laboratorium Biologi Oral Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

Bakteri *Enterococcus faecalis* didapatkan dari *Cultiloop* yang berisi *Enterococcus faecalis* dimasukkan ke dalam 1,5 mL *Trypton Soya Broth*

(TSB) 0,5% untuk melarutkan gelatin. Kemudian larutan TSB yang mengandung bakteri dipindahkan ke dalam 25 mL *Glucose Broth* sebagai media pertumbuhan bakteri lalu diinkubasi selama 18 jam pada suhu 37°C dan kecepatan 150 rpm. Setelah itu dilakukan penghitungan jumlah bakteri dengan cara mengulas bakteri pada cawan petri berisi *Glucose Broth Agar* kemudian diinkubasi.

5. Tahap persiapan gigi

Sampel gigi premolar bawah yang telah dipilih sesuai kriteria disimpan di dalam larutan salin hingga saat akan dilakukan eksperimen. Pada setiap gigi dilakukan pengambilan radiografi dari arah mesiodistal dan bukolingual untuk memastikan bahwa sampel memiliki saluran akar tunggal, lurus, dan tidak resorpsi (Gambar 11).



Gambar 11. Pengambilan radiograf pada sampel gigi penelitian, tampak terdapat satu saluran akar, dan saluran akar lurus.

Tahap selanjutnya dilakukan dekoronisasi dengan *round edge wheel bur* sehingga semua sampel memiliki panjang akar yang sama, yaitu 15 mm. Panjang kerja ditentukan sepanjang 14 mm dengan memasukkan jarum *K-file* #8 dan #10 ke dalam saluran akar hingga terlihat pada foramen apikal lalu dikurangi 1 mm (Gambar 12).



Gambar 12. (A) Pemotongan sampel gigi; (B) Sampel gigi setelah dilakukan dekoronisasi sepanjang 15mm.

Saluran akar setiap gigi kemudian dipreparasi dengan teknik *crown down* menggunakan *rotary file* Protaper (Maillefer, Dentsply). Teknik ini menganjurkan bahwa setiap *file* diukur dan ditandai sepanjang 14 mm dengan *rubber stop*. Setiap saluran akar dipreparasi dengan urutan *file* S1, S2, F1, F2 dan F3. *File* digerakkan dengan *rotary instrument X-smart Plus* (Mailefer, Dentsply). Setiap pergantian instrument, saluran akar diirigasi dengan NaOCl 2,5% sebanyak 2,5 mL menggunakan *disposable syringe* dan jarum irigasi *Max i-probe* ukuran 30 gauge. Pada akhir preparasi, saluran akar diirigasi dengan NaOCl 2,5% dan EDTA 17%, dan klorheksidin glukonat 2 % masing-masing 2,5mL (Gambar 13,14).



Gambar 13. (A) Gigi dilakukan pengukuran kerja; (B) Gigi dilakukan preparasi saluran akar dengan teknik *crown down*; (C) Gigi dilakukan irigasi saluran akar.



Gambar 14. Bagian luar akar gigi dilapisi dengan cat kuku

Setelah itu saluran akar dikeringkan dengan *paper point*. Kemudian semua sampel disterilkan di dalam *autoclave* selama 30 menit dengan suhu 121°C. Setelah itu permukaan akar diberi dua lapis cat kuku untuk mencegah kontaminasi eksternal.⁵⁷ Setelah disterilkan, sampel dimasukkan ke dalam *microtube* kemudian saluran akar diisi dengan disuntikkan 40 µL bakteri *Enterococcus faecalis* yang telah dilarutkan ke dalam media *tripton soya broth* 0,5% (1×10^{10} CFU/mL) menggunakan mikropipet, kemudian gigi dimasukkan ke dalam mikrotube yang steril dan diinkubasi pada suhu 37°C.

Selanjutnya dilakukan penghitungan koloni bakteri yang terbentuk untuk mendapatkan jumlah koloni awal sebelum diberikan perlakuan. Caranya dengan mengambil 10µL *tripton soya broth* dari dalam saluran akar lalu diletakkan ke dalam cawan petri yang berisi *Glucose Broth Agar*. Bakteri tersebut diulas dengan *triangle spread* agar menyebar dan dapat dihitung koloni yang terbentuk.

6. Tahap perlakuan

Sampel gigi dibagi menjadi 3 kelompok dan 1 kelompok kontrol secara acak kemudian tiap kelompok diberi perlakuan yang berbeda-beda. Kelompok 1, saluran akar diirigasi dengan NaOCl 2,5% 2,5mL, kemudian diirigasi dengan akuades, kemudian dilanjutkan diirigasi dengan larutan daun mimba 15 % 2,5mL. kelompok 2, saluran akar diirigasi dengan NaOCl 2,5% 2,5mL, kemudian diirigasi dengan akuades, kemudian dilanjutkan diirigasi dengan

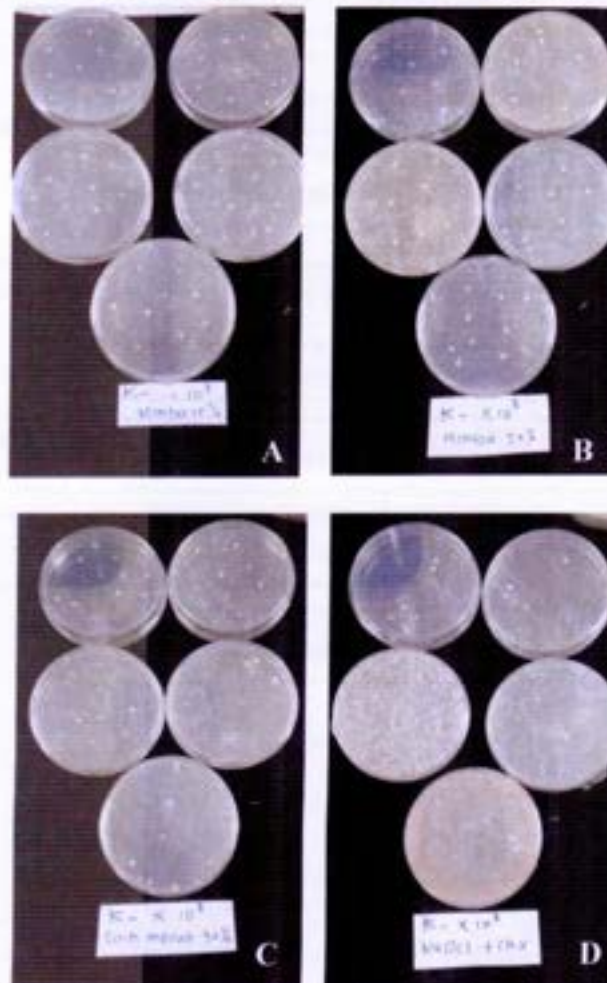
larutan daun mimba 50% 2,5ml. Kelompok 3, saluran akar diirigasi dengan NaOCl 2,5% 2,5mL, kemudian diirigasi dengan akuades, kemudian dilanjutkan diirigasi dengan larutan daun sirih merah 30% 2,5mL. kelompok 4 (kelompok kontrol), saluran akar diirigasi dengan NaOCl 2,5% 2,5ml, kemudian diirigasi dengan akuades, kemudian dilanjutkan diirigasi dengan klorheksidin glukonat 2% 2,5mL. keempat kelompok ini kemudian didiamkan selama 5 menit.



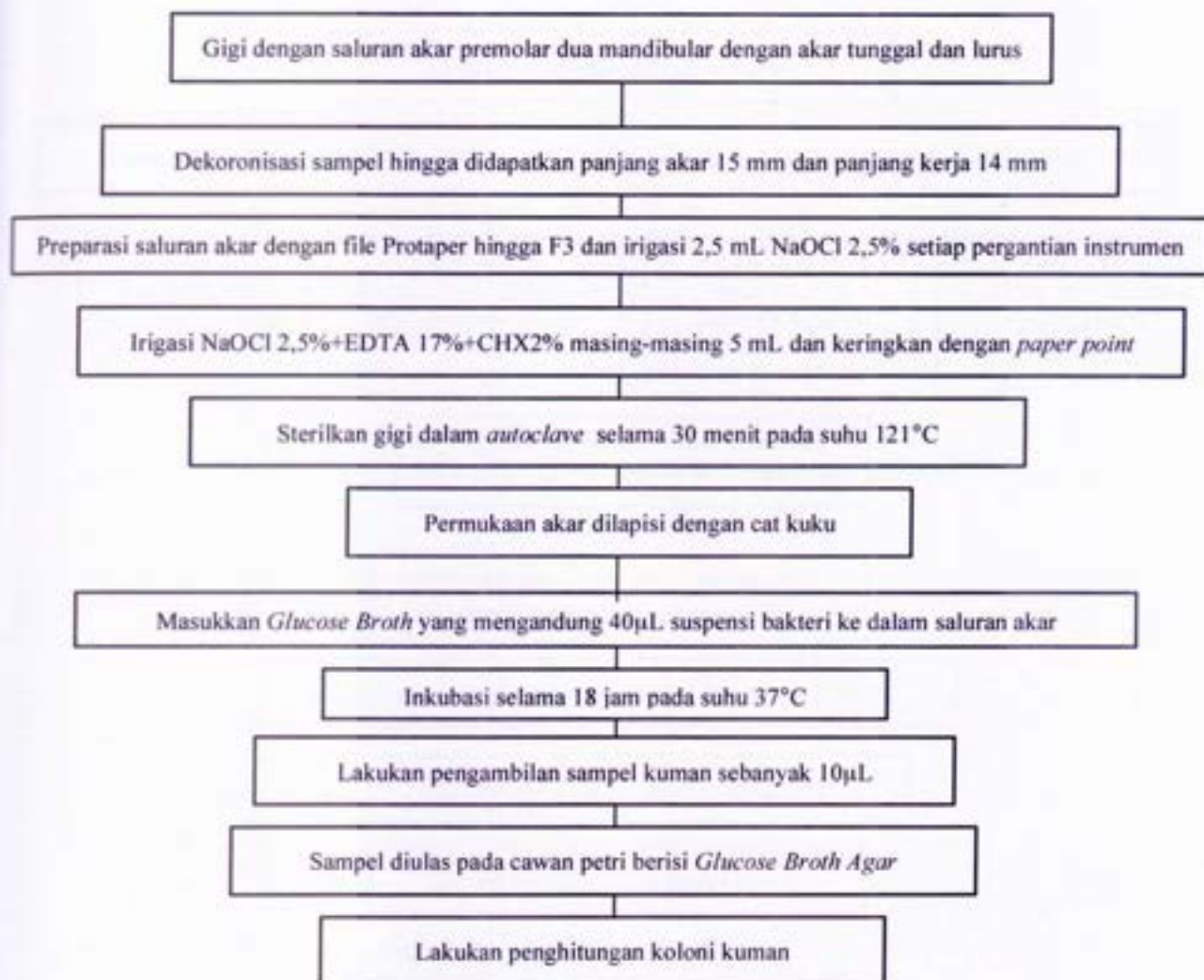
Gambar 15. (A) Gigi dilakukan perlakuan irigasi di dalam laminar *air flow*; (B) Kelompok sampel gigi setelah diberi perlakuan

Setelah protokol dari masing-masing kelompok diberi perlakuan, saluran akar kelompok 1, 2, 3, dan 4 dibilas dengan 3 mL akuades sebanyak tiga kali terlebih dahulu untuk menghilangkan larutan yang ada dalam saluran akar.

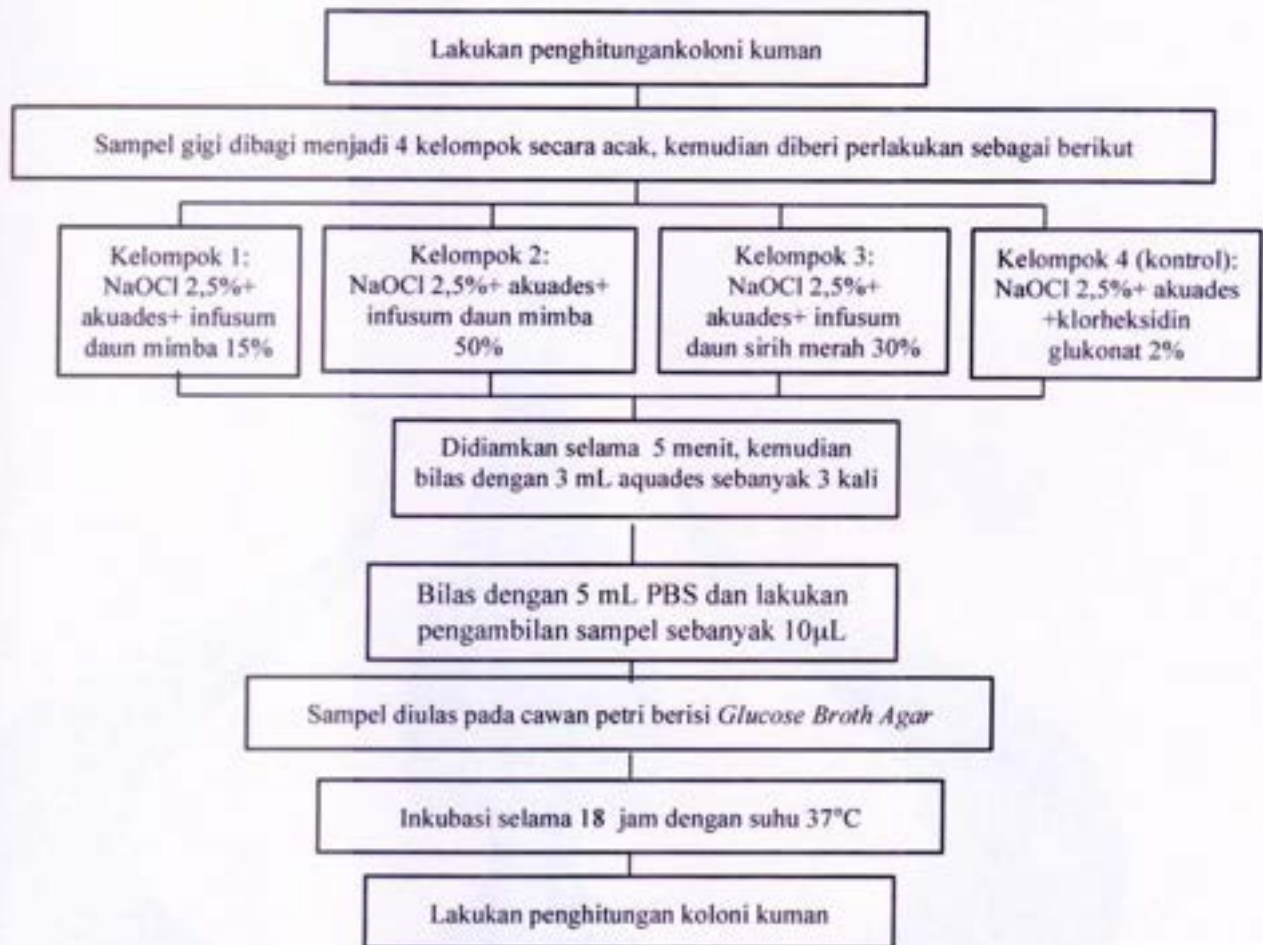
Setelah itu dibilas dengan 5 mL *Phosphate Buffered Saline (PBS)*, kemudian diisi kembali dengan PBS sesuai volume saluran akar dan diaspirasi sebanyak 10 μ L menggunakan pipet mikro. Disiapkan cawan petri berisi *Glucose Broth*. Hasil aspirasi dari tiap sample diulas pada cawan petri. Kemudian sampel diinkubasi selama 18 jam pada suhu 37°C, dan setelah itu dilakukan penghitungan koloni bakteri. Perhitungan jumlah koloni bakteri yang terbentuk (*colony forming units* – CFU) kemudian dihitung dengan menggunakan metode hitungan cawan. Satuannya adalah CFU/mL.



Gambar 16. (A) Jumlah koloni bakteri *Enterococcus faecalis* kelompok mimba 15%; (B) Jumlah koloni bakteri *Enterococcus faecalis* kelompok mimba 15%; (C) Jumlah koloni bakteri *Enterococcus faecalis* kelompok sirih merah 30%; (D) jumlah koloni bakteri *Enterococcus faecalis* pada kelompok klorheksidin 2%.



Gambar 17. Skema alur penelitian



Gambar 17. Skema alur penelitian.

H. Analisis Data

Penelitian dilakukan untuk mengetahui perbedaan efek antibakteri antara daun mimba, daun sirih merah dan klorheksidin glukonat terhadap pertumbuhan *Enterococcus faecalis* secara *in vitro*. Normalitas data hasil perhitungan efek antibakteri diuji dengan *Kolmogorov-Smirnov*. Apabila distribusi data normal, uji statistik yang digunakan adalah ANOVA satu arah, dan bila ditemukan perbedaan yang bermakna dilakukan uji *post hoc* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok.

BAB V

HASIL PENELITIAN

A. Deskripsi Data

Penelitian ini menggunakan sampel sebanyak 20 gigi, kemudian dipilih secara acak, dan dibagi menjadi 4 kelompok yang setiap kelompoknya terdiri dari 5 sampel. Pada penelitian ini didapatkan data rata-rata ($\pm$ simpang baku) jumlah koloni (CFU/mL) sampel yang menerima perlakuan dengan infusum daun mimba 15%, infusum daun mimba 50%, infusum daun sirih merah dan klorheksidin glukonat, masing-masing adalah: 17×10^8 ; $17,8 \times 10^8$; $15,6 \times 10^8$; 20×10^8 (Tabel 1).

Tabel 1. Rata-rata dan standard deviasi jumlah koloni *Enterococcus faecalis* sebelum perlakuan (CFU/mL)

	n	Rata-rata Perubahan Koloni
Mimba 15%	5	$17 \times 10^8 \pm 2,82 \times 10^8$
Mimba 50%	5	$17,8 \times 10^8 \pm 1,78 \times 10^8$
Sirih Merah 30%	5	$15,6 \times 10^8 \pm 1,81 \times 10^8$
CHX 2%	5	$20 \times 10^8 \pm 2,73 \times 10^8$
Total	20	$17,6 \times 10^8 \pm 2,7 \times 10^8$

Sebelum dilakukan uji hipotesis, dilakukan uji normalitas data dengan uji *Kolmogorov-Smirnov*, hasil menunjukkan semua kelompok memiliki distribusi normal dengan ($p > 0,05$) (Lampiran 1). Selanjutnya, karena data jumlah koloni berdistribusi normal, selanjutnya dalam penelitian ini dilakukan uji Analysis of Varians (ANOVA) satu jalan dan didapatkan nilai $p < 0,05$ (Tabel 2). Pada perbedaan antar kelompok, diuji dengan menggunakan uji *Post Hoc* (Tabel 3) menggunakan metode Tukey. Dalam uji Tukey ini terbukti bahwa perbandingan antara perlakuan menggunakan infusum daun sirih merah 30% dengan infusum

daun mimba 15% tidak memiliki perbedaan yang bermakna, dan perbandingan antara infusum daun mimba 15% dan infusum daun mimba 50% tidak terdapat perbedaan yang bermakna, sedangkan antara infusum daun mimba 50% dan infusum daun sirih merah 30% terdapat perbedaan yang bermakna. Pada perlakuan klorheksidin 2% dan infusum daun sirih merah 30%, infusum daun mimba 15% dan infusum daun mimba 50%, terdapat perbedaan yang bermakna.

Tabel 2. Uji *One Way ANOVA*

		n	Rerata (CFU/mL)	Nilai p
Larutan Irigasi	Mimba 15%	5	$7,6 \times 10^8$	.000
	Mimba 50%	5	$10,8 \times 10^8$	
	Sirih merah 30%	5	$5,8 \times 10^8$	
	CHX 2%	5	16×10^8	

Tabel 3. Uji Post-hoc Efektivitas Antibakteri Larutan Irigasi

Irigasi	Perbedaan Rerata	Minimum	Maksimum	Nilai p
Mimba 15% vs sirih merah 30%	$1,8 \times 10^8$	5×10^8	12×10^8	.639
Mimba 15% vs mimba 50%	$-3,2 \times 10^8$	8×10^8	15×10^8	.188
Mimba 15% vs CHX 2%	$-8,4 \times 10^8$	4×10^8	8×10^8	.000
Mimba 50% vs sirih merah 30%	5×10^8	14×10^8	19×10^8	.02
Mimba 50% vs CHX 2%	$-5,2 \times 10^8$	9×10^8	13×10^8	.016
Sirih Merah 30% vs CHX 2 %	$-10,2 \times 10^8$	8×10^8	15×10^8	.000

Tabel 4. Rata-rata dan standard deviasi jumlah koloni *Enterococcus faecalis* setelah perlakuan (CFU/mL)

		Rata-rata			
	n	Perubahan Koloni	Simpang Baku	Minimum	Maksimum
Mimba 15%	5	$7,6 \times 10^8$	$2,7 \times 10^8$	5×10^8	12×10^8
Mimba 50%	5	$10,8 \times 10^8$	$2,77 \times 10^8$	8×10^8	15×10^8
Sirih Merah 30%	5	$5,8 \times 10^8$	$2,04 \times 10^8$	4×10^8	8×10^8
CHX 2%	5	16×10^8	$1,87 \times 10^8$	14×10^8	19×10^8
Total	20	$10,05 \times 10^8$	$4,53 \times 10^8$	4×10^8	19×10^8

BAB VI

PEMBAHASAN

Penelitian ini menunjukkan adanya perbedaan efek antibakteri antara infusum daun sirih merah, infusum daun mimba dan klorheksidin glukonat. Terdapat perbedaan efek antibakteri yang bermakna antara infusum daun mimba 15% dengan infusum daun mimba 50%. Pada penelitian ini terlihat, infusum daun mimba 50% memiliki efek antibakteri yang paling mendekati dengan efek antibakteri klorheksidin glukonat 2%. Pada penelitian ini juga terlihat bahwa efek antibakteri sirih merah 30% terlihat lebih rendah dibandingkan dengan daun mimba 15%. Tetapi, tidak terlihat adanya perbedaan efek antibakteri yang bermakna, antara infusum daun mimba 15% dengan infusum daun sirih merah 30%.

Preparasi kimia-mekanis memegang peranan penting dalam perawatan saluran akar. Preparasi yang baik memerlukan bahan irigasi yang dapat membunuh bakteri terutama bakteri *Enterococcus faecalis*. Irigasi juga sangat penting dalam membantu proses preparasi kimia-mekanis, bahan irigasi berfungsi untuk eliminasi jaringan nekrotik yang tidak dapat dijangkau oleh instrumen mekanis. Bakteri merupakan penyebab utama dalam penyakit pulpa dan periapikal. Bentuk sistem anatomi saluran akar yang sangat kompleks, invasi bakteri ke dalam tubuli dentin, terbentuknya lapisan *smear layer* selama instrumentasi merupakan masalah dalam mengeliminasi bakteri selama proses preparasi kimia-mekanis. Hal-hal tersebut dapat mempersulit operator dalam melakukan preparasi biomekanis yang baik. Oleh sebab itu, dibutuhkan bahan irigasi yang dapat bertindak sebagai antibakteri..^{1,58}

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui efek antibakteri dari tiga jenis bahan irigasi terhadap jumlah koloni kuman di dalam saluran akar. Jenis bahan irigasi yang digunakan adalah infusum daun mimba 15%, infusum daun mimba 50%, infusum daun sirih merah 30%, dan klorheksidin glukonat 2%. Bakteri

yang digunakan adalah bakteri *Enterococcus faecalis*, karena bakteri ini merupakan bakteri yang paling sering ditemukan di dalam saluran akar yang telah mengalami kegagalan dalam perawatan saluran akar. Bakteri ini juga memiliki virulensi yaitu berkemampuan dalam melakukan penetrasi ke dalam tubuli dentin dan dapat berkolonisasi di dalam saluran akar serta bertahan hidup tanpa bantuan dari bakteri lain. Bakteri ini juga memiliki kemampuan dalam beradaptasi dengan adanya perubahan lingkungan.^{27,59}

Tahap awal penelitian ini dilakukan identifikasi tanaman daun mimba dan daun sirih merah, dan pada uji fitokimia ditemukan adanya bahan aktif tanin, saponin dan flavonoid pada infusum daun mimba. Hal ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Timothy dkk. yang menyatakan bahwa daun mimba mengandung bahan aktif saponin, tanin, glikosida, flavonoid, alkaloid dan fenol.⁴⁷ Pada uji fitokimia infusum daun sirih merah pada penelitian ini, ditemukan bahan aktif saponin, tanin, flavonoid dan steroid. Hal ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Hidayat T. yang menyatakan bahwa daun sirih merah memiliki bahan aktif minyak atsiri, flavonoid dan saponin.³⁴

Penelitian ini menggunakan bahan alami dan bahan irigasi yang paling sering digunakan pada saat preparasi kimia-mekanis yaitu natrium hipoklorit dan klorheksidin glukonat yang bersifat antibakteri. Natrium hipoklorit merupakan bahan irigasi utama dalam melakukan perawatan saluran akar, karena memiliki kemampuan dalam membunuh bakteri secara efektif.^{2,32} Klorheksidin glukonat juga merupakan bahan irigasi antibakteri dengan spektrum luas, akan tetapi, bahan ini memiliki kekurangan dapat menyebabkan adanya endapan berwarna merah bila berinteraksi dengan natrium hipoklorit sehingga dapat menyebabkan terjadinya pewarnaan pada gigi, untuk mencegah terjadinya pewarnaan, sebelum aplikasi klorheksidin, sebaiknya lakukan irigasi dengan akuades terlebih dahulu.¹²

Klorheksidin glukonat memiliki banyak efek samping yaitu, perubahan warna pada lidah, dapat menyebabkan terjadinya gingivitis deskuamatif, dan menyebabkan iritasi pada gingiva. Bahan aktif bisbiguanida dari klorheksidin juga dapat

menyebabkan adanya perubahan warna pada gigi menjadi kemerahan. Pewarnaan ini juga akan terjadi bila bisbiguanida bercampur dengan bahan aktif dari natrium klorida yaitu klorin.⁷ Kekurangan dari klorheksidin glukonat menimbulkan keinginan bagi peneliti untuk mencari bahan alami seperti daun sirih dan daun mimba yang diketahui memiliki efek antibakteri yang terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*. Beberapa penelitian menyatakan bahwa daun mimba dan daun sirih merah memiliki efektivitas antibakteri melalui zat aktifnya yaitu flavonoid, tanin dan saponin. Menurut penelitian oleh Nayak Aarati dkk., menyatakan bahwa mimba 15% dan 50% efektif untuk bakteri *Enterococcus faecalis*.¹⁵

Penelitian lainnya menyatakan, bahwa daun sirih merah memiliki kemampuan antibakteri dengan konsentrasi 30%.²³ Efek antibakteri pada infusum daun sirih merah dan infusum daun mimba dapat diketahui dengan dilakukan penelitian pada gigi yang telah diekstraksi. Selanjutnya dimasukkan bakteri *Enterococcus faecalis* ke dalam saluran akar kemudian diinkubasi. Setelah itu, bakteri dilakukan perhitungan jumlah koloni bakteri awal, kemudian diberi perlakuan masing-masing bahan, kemudian dihitung kembali jumlah koloni bakteri akhir yang terdapat pada cawan petri.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Nayak Aarati dkk.,¹ menyatakan bahwa ditemukan adanya sensitifitas bakteri *Enterococcus faecalis* terhadap ekstrak daun mimba 15% dan 7.5%. Diperlukan minimal konsentrasi 15% untuk mengeliminasi bakteri *Enterococcus faecalis*. Oleh karena itu, pada penelitian ini sampel diberi perlakuan dengan menggunakan infusum daun mimba 15% dan 50% sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Dhanya Kumar.¹⁸

Pada hasil penelitian ini memperlihatkan efektivitas bahan irigasi klorheksidin dengan bahan irigasi yang berasal dari bahan alami yaitu infusum daun mimba dan infusum daun sirih merah terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*. Hasil yang didapat, yaitu bahan irigasi infusum daun sirih merah 30%, infusum daun mimba 15% dan 50% dapat mengurangi jumlah bakteri *Enterococcus faecalis*. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Pangabdian yang menyatakan bahwa infusum daun

sirih merah konsentrasi 30% memiliki efektifitas membunuh bakteri *Enterococcus faecalis*. Pada penelitian yang dilakukan oleh Mistry KS. Dkk., menunjukkan bahwa ekstrak daun mimba 50% memiliki efektifitas dalam membunuh bakteri *Enterococcus faecalis*.^{15,17,18,23} Hal ini sesuai dengan hasil penelitian ini, bahwa daun mimba 50% memiliki efektivitas terhadap bakteri *Enterococcus faecalis* yang hasilnya mendekati efektivitas klorheksidin glukonat 2%.

Akan tetapi, ketiga bahan ini baik infusum daun sirih merah 30% ,infusum daun mimba 15%, maupun infusum daun mimba 50% tidak dapat seefektif klorheksidin glukonat 2%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa efek antibakteri bahan infusum mimba 15% dan 50% lebih baik dibandingkan dengan infusum daun sirih merah 30% yaitu dengan jumlah koloni yang berkurang sebanyak $7,6 \times 10^8$ dan $10,8 \times 10^8$ dibandingkan jumlah koloni daun sirih merah yang berkurang sebanyak $5,8 \times 10^8$.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Kristina, menyatakan bahwa, bahan pembersih daun sirih merah, dapat menyebabkan perubahan warna pada gigi dan gigi tiruan.³⁸ Hal ini berbeda dengan hasil penelitian ini, infusum daun sirih merah tidak memberikan pewarnaan pada sampel gigi. Pada penelitian yang dilakukan oleh Kutscher dan Dragiff, menyatakan bahwa penggunaan klorofil selama empat bulan, dapat menyebabkan perubahan warna gigi menjadi hijau kehitaman.⁵⁴ Daun mimba memiliki pigmen warna klorofil dan karoten.⁵² Akan tetapi, pada penelitian ini, gigi sampel yang diirigasi dengan menggunakan infusum daun mimba konsentrasi 15% dan 50%, tidak mengalami perubahan warna. Hal ini terjadi, karena lama paparan ketiga bahan irigasi pada sampel gigi dilakukan hanya dalam waktu lima menit, kemudian diirigasi dengan menggunakan akuades.

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian mengenai perbedaan efek antibakteri antara infusum daun mimba dengan infusum daun sirih merah dan klorheksidin glukonat, dapat disimpulkan bahwa bahan irigasi alamiah infusum daun sirih merah dan infusum daun mimba memiliki efektivitas terhadap *Enterococcus faecalis*. Akan tetapi, efektifitas bahan irigasi alami ini tidak setara dengan klorheksidin glukonat 2%.

Dari hasil penelitian ini, ditemukan bahwa bahan irigasi klorheksidin memiliki efektivitas antibakteri terbaik terhadap bakteri *Enterococcus faecalis* dibandingkan dengan efektivitas infusum daun sirih merah dan infusum daun mimba. Sehingga, dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan bermakna efek antibakteri infusum daun sirih merah, daun mimba dan klorheksidin glukonat terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*.

B. SARAN

Infusum daun mimba dan sirih merah dapat digunakan untuk mengurangi bakteri *Enterococcus faecalis*, tetapi diperlukan penelitian lebih lanjut untuk efek sitotoksitas dari masing-masing bahan alami. Selain itu, pada bahan infusum ini memiliki kekurangan tidak dapat bertahan lebih dari satu minggu, oleh sebab itu dapat dipertimbangkan untuk membuat larutan irigasi yang berasal dari ekstrak daun mimba dan daun sirih merah.

DAFTAR PUSTAKA

1. Asghar S Ali A, Somoro S, Rashid S. Antimicrobial solutions used for root canal disinfection. *Pakistan Oral & Dent J.* 2013;33(1):165-71.
2. Haapasalo M, Shen Y, Wang Z dan Gao Y. Irrigation in endodontics. *British Dental Journal.* 2014;216:299 – 303.
3. Peters OA dan Peters CI. Cleaning and shaping of the root canal system In: Cohen's Pathways of the Pulp. Hangreaves, K.M dan Cohen, S., editors. 10th ed. St. Louis, Missouri; 2011;311-5.
4. Narayana LL.C Vaishani. Endodontic microbiologi *J.Conserv Dent* 2010;13. 233-4.
5. Ferreira C.M., Torres S.A., Benardinelli N. Activity of endodontic antibacterial agents against selected anaerobic bacterio. *Braz Dent J.* 2002;13.
6. Zenhder M. Root canal irrigatians, [serial online] 2006,32(5)391
7. Walton RE, Rivera EM. Prinsip dan Praktik Ilmu Endodonsia. Ed. ke-3. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta 2008.
8. Estrela C, Silva JA, de Alencar AH, Leles CR, Decurcio DA. Efficacy of sodium hypochlorite and chlorhexidine against *Enterococcus faecalis*--a systematic review. *J Appl Oral Sci.* 2008;16(6):364-8.
9. Resmiye ET, Haluk B, Bilge S dan Elif S. Evaluation of the antimicrobial activities of chlorhexidine gluconate, sodium hypochlorite and octenidine hydrochloride in vitro. *Aust Endod J.* 2013. 39: 15–18.
10. Thilla SV, Mohamed IR, Lakshmi B, dan In vitro evaluation of five different herbal extracts as an antimicrobial endodontic irrigant using real time quantitative polymerase chain reaction. Deivanayagam K. *J Conserv Dent.* 2013. Mar-Apr; 16(2): 167–170.
11. Camara AC, Muniz de Albuquerque M, Aguiar CM, Regis de Barros Correia AC. Antimicrobial activity of chlorhexidine in root canals instrument with the protaper universal system. *Braz J Oral Sci.* 2010;9(3):402-9.

12. Tanumihardja M. Larutan irigasi saluran akar. *Dentofas J Ked Gi.* 2010;9(2):108-12.
13. Waish LJ, Athanassiadis B. Endodontic aesthetic iatrodontics. *Aus Dent Pract.* 2007;18(3):62-4.
14. Sari, Lork. Pemanfaatan obat tradisional dengan pertimbangan dan keamannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian.* 2006; 3(1):1-7.
15. Mistry KS, Sanghvi Z, Parmar G, Shah S. The antimicrobial activity of *Azadirachta indica*, *Mimusops elengi*, *Tinospora cardifolia*, *Ocimum sanctum* and 2% chlorhexidine gluconate on common endodontic pathogens: An in vitro study. *Eur J Dent* 2014;8:172-7.
16. Vibha H, Dhaval PK. Comparative evaluation of antimicrobial activity of neem, propolis, turmeric, liquorice and sodium hypochlorite as root canal irrigants against *E. Faecalis* and *C. Albicans* - An in vitro study *Endod.* 2013;25(2): 38-45.
17. Nayak Aarati. Evaluation of Antibacterial and anticandidal efficacy of aqueous and alcoholic extract of neem (*Azadirachta Indica*) an in vitro study. *Int J. Of Research in Aryurveda and Pharmacy.* 2011. 2(1): 230-235.
18. Dhanya Kumar NM, Sidhu P. The antimicrobial activity of *Azadirachta Indica*, *Glycyrrhiza glabrat*, *Cinnamum zeylanicum*, *Syzygium aromaticum*, *Acacia nilotica* on *Streptococcus mutans* and *Enterococcus faecalis*: An in vitro study. *Endod* 2011;23:18-25.
19. Ariesdyanata, C. Perbedaan daya hambat ekstrak daun sirih hijau (*Piper bettle lynn*) dengan daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap *Staphylococcus aureus*. *ADLN Journal.* 2008.
20. Indah TS, Retno S, Ristanto. Pengaruh teknik penyimpanan daun sirih sebagai obat kumur terhadap akumulasi plak gigi dan pertumbuhan bakteri *S Sanguis*. *Jogjakarta: Laporan penelitian: UGM; 1990.*
21. Mieke HS, Yanti M, Razak U. Usaha pemeriksaan daya anti mikroba dan ekstrak daun sirih terhadap beberapa bakteri. *Denpasar: Konas XVI. PDGI; 1985.*
22. Saraswati RS. Daya antibakteri infusum daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap bakteri *Enterococcus faecalis* (Penelitian Eksperimental Laboratoris).

[Skripsi]. Fakutan Universitas Airlangga. Surabaya. 2011.

23. Pangabdian F SS, Suardita K. The effective concentration of red betel leaf (*piper crocatum*) infusion as root canal irrigant solution. *Media Dent J*. 2012;45(1):12-6.
24. Grossman LI, Oliet S, Rio CED. *Endodontic practice*: Lea & Febiger; 1988.
25. Harty's. *Endodontics in clinical practice*. Chong BS., editor. 6th ed.. Churchill Livingstone Elsevier, Toronto; 2010.
26. Norhayati, L. dan Hanny MAA. The antibacterial activity of sodium hypochlorite and chlorhexidine against *Enterococcus faecalis*: A review on agar diffusion and direct contact methods. *J Conserv Dent*. 2013. Jan-Feb; 16(1): 9–16.
27. Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ. *Enterococcus Faecalis*: Its Role in Root Canal Treatment Failure and Current Concepts and Retreatment. *J Endod* 2006; 32(2): 93-7.
28. Metzger, Z, Basranii, B., Goodis, H.E. *Instrument, Material and Devices*. Dalam Cohen's *Pathways of the Pulp*. Hangreaves, K.M dan Cohen, S (editor). Ed. Ke-10 St. Louis, Missouri. 2011; 223-82.
29. Arif, S. Pengaruh Minyak atsiri kayu manis terhadap jaringan ginjal mencit (*Mus musculus*). *Biodiversitas*. 2006. 7(3):278-81.
30. Sassone LM, Fidel R, Fidel S, Vieira M, Hirata JrR. The influence of organic load on antimicrobial activity of different concentrations of NaOCl and chlorhexidine in vitro. *Intl Endod J*. 2003;36:848-52.
31. Krell V. Keith. 2002. Canal Preparation. Dalam *Color Atlas of Endodontics*. Johnson , W.T (editor). W.B Saunders, Iowa. Hlm. 68-70.
32. Kandaswamy D, Venkateshbabu N. Root canal irrigants. *J Conserv Dent*. 2010;13(4):256-64.
33. Leonardo MR, Filho MT, Silva LA, Filho N. In vivo antimicrobial activity of 2% chlorhexidine used as root canal irrigating solution. *J Endod* 1999;25:167-71.

34. Hidayat T. Sirih Merah Budidaya dan Pemanfaatan untuk Obat. Yogyakarta: Pustaka Baru Press. 2013; 2-4.
35. Mahendra B. Jenis Tanaman Obat Ampuh. Jakarta: Penebar swadaya. 2005.
36. Kartsapoerta G. Budidaya Tanaman Berkhasiat Obat. Cetakan kedua. Jakarta: Penerbit Rineka Cipta. 1992.
37. Moeljanto RD & Mulyono. Khasiat & Manfaat Daun Sirih: Obat Mujarab Dari Masa ke Masa. Jakarta: PT. Agromedia Pustaka; 2003.
38. Hopkins WG., dan Huner N.P.A. Introduction to plant physiology. John Wiley & Sons, Inc. 2008.
39. Kristiana D. Kekuatan transversa (transversal strength) akrilik self cured dan akrilik heat cured direndam rebusan daun sirih (*piper bite*) sebagai bahan pembersih gigitiruan lepasan, *J Scien Dent* ;2007;22(4):121-7.
40. Hidayat T. Sirih merah budidaya & pemanfaatan untuk obat. Pustaka Baru Press. Yogyakarta. 2008. Hlm. 8-10,22-23,27.
41. Harborne JB. Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan, terjemahan K. Padmawinata. Edisi II. Bandung : ITB Press; 1987.
42. Sanjaya, Helen. Khasiat Anti Bakteri Bahan Irigasi Infusum Daun Sirih 20%. Sodium Hipoklorit 2,5% dan Hidrogen Peroksida Terhadap *Streptococcus Viridans*. Surabaya: FKG Unair; 2007; p.31-32.
43. Farida, J.R. Dewa Ayu Citra. Manfaat Sirih Merah Sebagai Agen Anti Bakterial Terhadap Bakteri Gram Positif dan Negatif. *J.Ked dan Kesehatan Indonesia*; 2010;1-9.
44. Biswas K, Chattopadhyay I, Banerjee R, dan Bandyopadhyay U. Biological Activities and Medical Properties of Neem (*Azadirachta indica*). *Current Science*. 2002. 82 (11):1336-45.
45. Reddy R.R., dkk. Antimicrobial activity of *Azadirachta Indica* (neem) leaf, bark and seed extracts *Int. J. Res. Phytochem. Pharmacol*. 2013. 3(1):1-4.
46. Apristiani D., Astuti P. Isolasi Komponen Aktif Antibakteri Ekstrak Kloroform Daun Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) dengan Bioautografi. *Biofarmasi*. 2005. 3(2):43-6.

47. Ghonmode W.N., dkk. Comparison of the antibacterial efficiency of neem leaf extracts, grape seed extracts and 3% sodium hypochlorite against *E. faecalis* – An in vitro study. *Intl Oral Health J.* Nov-Des. 2012. 5(6):61-6.
48. Vinothkumar T.S. dkk. In vitro evaluation of five different herbal extracts as an antimicrobial endodontic irrigant using real time quantitative polymerase chain reaction. *J Conserv Dent.* Mar-Apr. 2013. 16(2):167-70.
49. Timothy, S.Y., Goji S.Y., Abdussalam B., Galadima I.H. Antibacterial and phytochemical screening of the ethanolic leaf extract of *Azadirachta indica*. *IJABPT.* 2011;2:194-9.
50. Handayani N., Wartono M.W., Murti R.K. Identifikasi dan uji aktivitas antibakteri fraksi teraktif daun mimba (*Azadirachta Indica* A. Juss) *Alchemy jurnal penelitian kimia.* Surakarta. 2012. 8:57-69.
51. Kundabala M., Dutta A. Comparative anti-microbial efficacy of *Azadirachta indica* irrigant with standard endodontic irrigants: A preliminary study. *J. Conserv Dent.* 2014; 17(2):133-7
52. Giri S., Shrivastava D., Deshmukh K., dan Dubey P. Effect of Air Pollution on chlorophyll Content Leaves. *Indian Institute of Soil Science, Bhopal;* 2013;1(2): 93-98.
53. Gloria RY. dan Iswari RS. Analysis of chlorophyll content in six traditional medicinal plants as an alternative food supplement. *Proceedings of the IConSSE FSM SWCU;* 2015: 9-12.
54. Kutscher AH. Dan Dragiff DA. Chlorophyll Stain Penetration of a Tooth. *Oral Surgery, Oral Medicine, oral Pathology;* 2004;7(3):312-313.
55. Aneja K.R. *Experiments in Microbiology Plant Pathology and Biotechnology.* Ed ke-4. New Age International. 2003. 274-6.
56. Lwangs SK, Lemeshow S. *Sample size determination in health studies: a practical manual.* WHO. Geneva. 1991:1-3.
57. Javidi M., Zarei M., Afkhami F. Antibacterial Effect of Calcium Hydroxide on Intraluminal and Intratubular *Enterococcus Faecalis*. *Iran Endod J.* 2011; 6(3):103-106.

58. Estrela C. dkk. Efficacy of sodium hypochlorite and chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* – a systematic review. *J. Appl Oral Sci* 2008; 16:364-8.
59. Tyne D., Martin M., Gilmore M.S. Structure, Function, and Biology of *Enterococcus faecalis* Cytolysin- a review. *Toxins* 2013;5:895-911.

LAMPIRAN 1

Uji Normalitas Efektivitas Antibakteri Larutan Irigasi

		Kolmogorov-Smirnov		
	Pertakuan	Statistic	df	Nilai p
koloni	Mimba 15%	.241	5	.200
	Mimba 50%	.213	5	.200
	Sirih Merah 30%	.258	5	.200
	NaOCl+Aquades+CHX	.300	5	.161

LAMPIRAN 2

Uji Fitokimia Larutan Irigasi Infusum Daun Mimba dan Infusum Daun Sirih



LABORATORIUM PUSAT STUDI BIOFARMAKA

LPPM - INSTITUT PERTANIAN BOGOR

Jl. Taman Kencana No. 03 Bogor 16151

Telp/Fax: +62-251-8373561/ +62-251-8347525;

website: www.biofarmaka.or.id; Email: bfarmaka.lub@gmail.com

No : 543/I3.11.7/LPSB/15 Bogor, 18 Desember 2015
Lampiran : 1 halaman
Perihal : Laporan Hasil Uji

Kepada Yth.

drg. Rosita Stefani

Universitas Tri Sakti

Jl Kyai Tapa (Grogol) Jakarta Barat 11440

Dengan hormat,

Berdasarkan formulir permohonan analisis order no 040/X, maka bersama ini kami sampaikan hasil uji analisis laboratorium untuk sampel:

Nama sampel: Daun Mimba dan Sirih Merah

Jenis analisis: Fitokimia

Demikian surat ini kami sampaikan semoga dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Atas kerjasamanya diucapkan terima kasih.

Hormat kami,

Laboratorium Pusat Studi Biofarmaka

LPPM IPB

Rudi Heryanto, MSI

Manajer Teknis

Hasil pengukuran/analisis hanya berlaku dengan barang yang diuji.
Dilansir berdasarkan Laporan hasil uji tanpa penyesuaian terdapat dari Laboratorium Pusat Studi Biofarmaka, LPPM IPB

Mera

h

**LABORATORIUM PUSAT STUDI BIOFARMAKA**

LPPM - INSTITUT PERTANIAN BOGOR

Jl. Taman Kencana No. 03 Bogor 16151

Telp/Fax: +62-251-8373561/ +62-251-8347525;

website: www.biofarmaka.or.id; Email: bfarmaka.lub@gmail.com**LAPORAN HASIL UJI**

No. (sertifikat) 405.031/LPSB IPB/X/15

No Order : 040/X
 Nama / Instansi : drg. Rosita Stefani / Universitas Tri Sakti
 Alamat : Jl Kyai Tapa (Grogol) Jakarta Barat 11440
 Jenis analisis : Fitokimia
 Tanggal Terima : 26 Oktober 2015
 Tanggal pengujian : 17 November 2015

Nama Sampel	Identitas & keadaan sampel	Parameter		Hasil	Satuan	Teknik Analisis
Daun Mimba	Serbuk - Padatan	Fitokimia:				Visualisasi Warna
		Flavonoid		positif	-	
		Alkaloid	Wagner	negatif	-	
			Mayer	negatif	-	
			Dragendorf	negatif	-	
		Tanin		positif	-	
		Saponin		positif	-	
		Quinon		negatif	-	
		Steroid		negatif	-	
Triterpenoid		negatif	-			
Sirih Merah	Serbuk - Padatan	Fitokimia:				Visualisasi Warna
		Flavonoid		positif	-	
		Alkaloid	Wagner	negatif	-	
			Mayer	negatif	-	
			Dragendorf	negatif	-	
		Tanin		positif	-	
		Saponin		positif	-	
		Quinon		negatif	-	
		Steroid		positif	-	
Triterpenoid		negatif	-			
Keterangan:						

Bogor, 18 Desember 2015

Manajer Teknis, *[Signature]**[Signature]*

Rudi Heryanto, MSI

NIP. 19760428 200501 1002

Hasil pengujian / pengujian hanya berhubungan dengan barang yang diuji.
 Ditang. memperbanyak Laporan hasil uji tanpa persetujuan tertulis dari Laboratorium Pusat Studi Biofarmaka, LPPM IPB

LPSB IPB-IV.25.2

1 dari 1

LAMPIRAN 3

Surat Keterangan Penelitian

LTB

LABORATORIUM TEKNOLOGI BIOINDUSTRI
PUSAT TEKNOLOGI BIOINDUSTRI
BPT TEKNOLOGI
Gd. 611 Kawasan Puspiptek Serpong Tangerang Selatan 15314
Telp. +62-21-7560536; Fax. +62-21-7566922

Surat Keterangan Penelitian

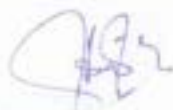
№ 2 /LTB/PTB/BPPT/XII/2015

Nama	: drg. Rosita Stefani
NIM	: 114414006
Fakultas dan Jurusan	: Kedokteran Gigi-Konservasi Gigi
Alamat	: Jl. Kyai Tapa Grogol Jakarta Barat 11440
Telp./Fax/HP	: 085216151616
Judul Thesis	: Perbedaan Efek Antibakteri Antara Daun Mimba, Daun Sirih Merah dan Klorheksidin Glukonat terhadap Pertumbuhan Enterococcus Faecalis Secara in vitro
Jenis Sampel	: Gigi Premolar Bawah
Jumlah Sampel	: 20
Metode Analisa	: TPC (Total Plate Count)

Telah melakukan penelitian di Laboratorium Teknologi Bioindustri - LAPTIAB mulai dari tanggal 8 Desember - 15 Desember 2015

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya

Serpong, 21 Desember 2015
Kepala Laboratorium Teknologi Bioindustri



Karnadi, S.Si