

**EFEKTIVITAS NANOEMULSI GEL DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica*
I.) KONSENTRASI 25%, 50% DAN 75% TERHADAP KETEBALAN
BIOFILM BAKTERI *Staphylococcus aureus* (IN VITRO)**

Karya Tulis Ilmiah

Untuk memenuhi sebagian persyaratan

Mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi



Diajukan oleh

Bunga Clarissa Soegiharto

31101700020

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG**

SEMARANG

2021



KARYA TULIS ILMIAH
**EFEKTIVITAS NANOEMULSI GEL DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica*
L.) KONSENTRASI 25%, 50%, DAN 75% TERHADAP KETEBALAN
BIOFILM BAKTERI *Staphylococcus aureus* (IN VITRO)**

Diajukan oleh
Bunga Clarissa Soegiharto
31101700020

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji

Pada Tanggal 27 Mei 2021

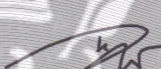
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Sasaran Tim Penguji

Ketua Tim Penguji


drg. Adisty Restu Poetry, M.DSc., Sp.Perio

Anggota Tim Penguji I


drg. Rosa Pratiwi, Sp.Perio

Anggota Tim Penguji II


drg. Erdianto Setya Wardhana, MHL Kes

Semarang, 8 Juni 2021

Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Islam Sultan Agung

Dekan,




drg. Suryono., SH., M.M., Ph.D
NIK. 231014025

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Bunga Clarissa Soegiharto

NIM : 31101700020

Dengan ini saya nyatakan bahwa Karya Tulis Ilmiah yang berjudul :

“Efektivitas Nanoemulsi Gel Daun Pegagan (*Centella asiatica* L.) Konsentrasi 25%, 50% Dan 75% terhadap Ketebalan Biofilm Bakteri *Staphylococcus aureus* (*In Vitro*)”

Adalah benar hasil karya saya dan penuh kesadaran bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiasi atau mengambil alih seluruh atau sebagian besar karya tulis orang lain tanpa menyebutkan sumbernya. Jika saya terbukti melakukan tindakan plagiasi, saya bersedia menerima sanksi sesuai aturan yang berlaku.

Semarang, 23 Mei 2021



(Bunga Clarissa Soegiharto)



MOTTO DAN PERSEMBAHAN

MOTTO

“... dan janganlah kamu berputus asa dari rahmat Allah. Sesungguhnya tiada berputus asa dari rahmat Allah melainkan kaum yang kafir.”

(QS. Yusuf : 87)

“Jangan menyerah untuk mencoba, jangan mencoba untuk menyerah”

PERSEMBAHAN

Karya Tulis Ilmiah ini saya persembahkan untuk
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Islam Sultan Agung Semarang
Dosen Pembimbing dan Dosen Penguji
Orang Tua
Sahabat dan teman-teman
Semua pihak yang membantu dalam penulisan Karya Tulis Ilmiah ini

PRAKATA

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Alhamdulillahirrabbi lalamin, segala puji syukur kehadiran Allah SWT atas berkah, rahmat, dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan karya tulis ilmiah. Shalawat serta salam semoga senantiasa tercurahkan kepada Rasulullah Muhammad SAW yang selalu kita nantikan dan harapkan syafaatnya.

Penulis merasa bahwa terselesaikannya penulisan karya tulis ilmiah dengan judul “Efektivitas Nanoemulsi Gel Daun Pegagan (*Centella asiatica* L.) Konsentrasi 25%, 50% Dan 75% Terhadap Ketebalan Biofilm Bakteri *Staphylococcus aureus* (In Vitro)” tidak lepas dari bimbingan, bantuan, dan dukungan dari berbagai pihak.

Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih sebesar – besarnya kepada :

1. drg. Suryono, S.H., M.M., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. drg. Rosa Pratiwi, Sp.Perio dan drg. Erdianto Setya Wardhana, MH.Kes., selaku dosen pembimbing I dan II yang telah memberikan ilmu, membimbing, mengarahkan, serta meluangkan waktu dan pikiran untuk penulis sehingga karya tulis ilmiah ini dapat terselesaikan. Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan berkah dan rahmat-Nya atas kesabaran dan ketulusan yang diberikan.

3. drg. Adisty Restu Poetri, MDSc, Sp. Perio selaku dosen penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji, mengarahkan, dan memberi masukan hingga terselesaikannya karya tulis ilmiah ini. Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan berkah dan rahmat-Nya atas kebaikan yang diberikan.
4. Keluarga penulis yang selalu mendo'akan dan membantu dalam menyelesaikan karya tulis ilmiah ini.
5. Teman dekat penulis Farah Syafira, Indah, Feny, dan Rafi yang selalu memberikan semangat, motivasi, nasehat, dan do'a untuk segera menyelesaikan karya tulis ilmiah ini.
6. Sinta, dan Berli yang selalu memberikan semangat, tempat berdiskusi, dan membantu dalam penelitian serta penyusunan karya tulis ilmiah ini.
7. Warga Xalvadenta 2017 dan seluruh pihak yang ikut serta membantu dalam menyelesaikan karya tulis ilmiah ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa karya tulis ilmiah ini masih jauh dari sempurna, sehingga kritik dan saran membangun sangat diharapkan oleh penulis.

Akhir kata, semoga Allah SWT membalas kebaikan dan bantuan yang telah diberikan. Penulis berharap semoga karya tulis ini bermanfaat dan dapat memberikan wawasan bagi pembaca.

Wassalamu'alaikum Wr.Wb

Semarang, 23 Mei 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN.....	iii
SURAT PERSETUJUAN UNGGAH KARYA TULIS ILMIAH.....	iv
MOTTO DAN PERSEMBAHAN	v
PRAKATA.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
ABSTRACT.....	xiv
ABSTRAK.....	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.3.1 Tujuan Umum	5
1.3.2 Tujuan Khusus	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	6
1.4.1 Manfaat Teoritis	6
1.4.2 Manfaat Praktis	6
1.5 Orisinalitas Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	9
2.1 Tinjauan Pustaka	9
2.1.1 Dental Plak.....	9
a. Definisi Dental Plak	9
b. Komposisi Dental Plak.....	9
c. Tahapan pembentukan Dental Plak	11
2.1.2 Penyakit Periodontal	14
a. Definisi Penyakit Periodontal.....	14
b. Klasifikasi Penyakit Periodontal	15
c. Patogenesis Penyakit Periodontal.....	18
2.1.3 Tanaman Pegagan (<i>Centella asiatica l.</i>)	19
a. Taksonomi Tanaman Pegagan (<i>Centella asiatica l.</i>).....	20
b. Khasiat Antibakteri Daun Pegagan	21
c. Manfaat Daun Pegagan dalam Bidang Kedokteran Gigi	23
2.1.4 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	24
b. Anatomi Morfologi.....	25
c. Peranan Bakteri <i>Staphylococcus Aureus</i> pada Penyakit Periodontal.....	25
2.1.5 Nanoemulsi Gel.....	26
a. Definisi Nanoemulsi Gel	26

b.	Pemanfaatan Nanoemulsi Gel pada Bidang Kedokteran Gigi	27
2.2	Kerangka Teori	29
2.3	Kerangka Konsep	30
2.4	Hipotesis	30
BAB III METODE PENELITIAN		31
3.1	Jenis Penelitian	31
3.2	Rancangan Penelitian	31
3.3	Variabel	31
3.3.1	Variabel Bebas	31
3.3.2	Variabel Terikat	31
3.3.3	Variabel Terkendali	31
3.4	Definisi Operasional	32
3.5	Sampel Penelitian	33
3.5.1	Sampel Bakteri	33
3.5.2	Bahan Uji	33
3.5.3	Besar Sampel	34
3.6	Alat dan Bahan Penelitian	35
3.7	Prosedur Penelitian	35
3.7.1	Ethical Clearance	35
3.7.2	Sterilisasi Alat	35
3.7.3	Pengambilan Saliva dengan Metode Spitting	36
3.7.4	Pembuatan Ekstrak Daun Pegagan (<i>Centella asiatica</i> L.)	37
3.7.5	Pembuatan Nanoemulsi Ekstrak Daun Pegagan (<i>Centella asiatica</i>)	37
3.7.6	Pembuatan Nanoemulsi Gel Daun Pegagan	38
3.7.7	Uji Biofilm dengan Metode Microtiter Plate Biofilm Assay	39
3.8	Kriteria Inklusi dan Kriteria Eksklusi	40
3.9	Tempat dan Waktu Penelitian	40
3.10	Analisis Hasil	41
3.11	Alur Penelitian	42
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN		43
4.1	Hasil Penelitian	43
4.2	Pembahasan	46
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		53
5.1	Kesimpulan	53
5.2	Saran	54
DAFTAR PUSTAKA		55
LAMPIRAN		60

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Patogenesis Dental Plak	11
Gambar 2.2 Tanaman Pegagan	20
Gambar 2.3 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dalam Pewarnaan Gram	24



DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Orisinalitas Penelitian	6
Tabel 2.1 Klasifikasi Penyakit Periodontal	15
Tabel 3.1 Tabel Definisi Operasional.....	32
Tabel 3.2 Alat Penelitian dan Bahan Penelitian	35
Tabel 3.3 Perhitungan Optimalisasi Ekstrak Daun Pegagan dengan Formula Gel ...	38
Tabel 4.1 Hasil Pembacaan <i>Nilai Optical Density</i> (OD).....	44
Tabel 4.2 Uji Normalitas dan Uji Homogenitas.....	44
Tabel 4.3 Rerata Nilai Standar Deviasi dan Uji Kruskal-Wallis.....	45



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 <i>Ethical Clearance</i>	59
Lampiran 2 Hasil Analisis SPSS	61
Lampiran 3 Surat Izin Penelitian Terpadu Nanobio Teknologi UNDIP	67
Lampiran 4 Surat Izin Penelitian Lab Mikrobiologi FK UNDIP	68
Lampiran 5 Surat Selesai Penelitian Lab Terpadu Bionano Teknologi UNDIP	69
Lampiran 6 Surat Selesai Penelitian Lab Mikrobiologi FK UNDIP	70
Lampiran 7 Dokumentasi	71



DAFTAR SINGKATAN

WHO	: <i>World Health Organization</i>
RISKESDAS	: Riset Kesehatan Dasar Nasional
MMPs	: <i>Matrix Metalloproteinase</i>
IL	: Interleukin
PGE2	: <i>Prostaglandin E2</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
(NH ₂)	: Amonia
(H ₂ S)	: Hidrogen sulfida
OD	: <i>Optical Density</i>



ABSTRACT

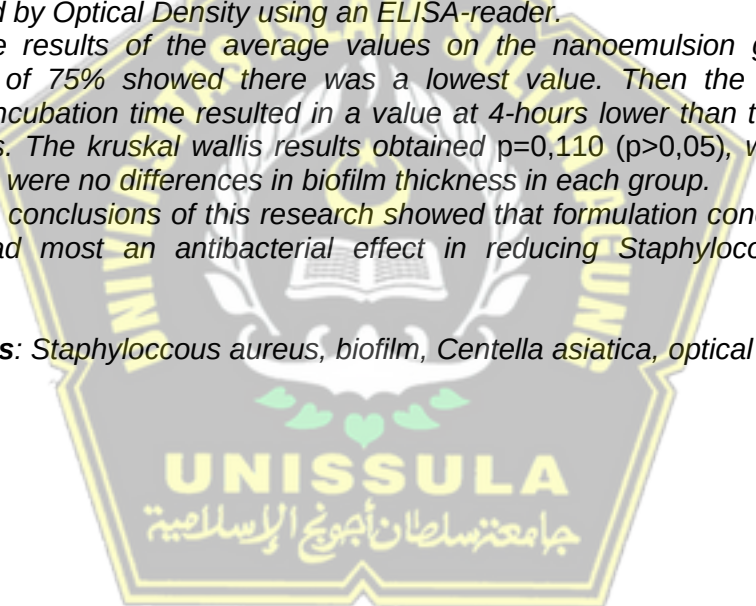
Periodontal disease is an infection of the oral cavity caused by an excessive of bacteria in plaque accumulation. Specifically, *Staphylococcus aureus* was an prokaryotic microorganism that grows and survives as a commensal and turns into a pathogen due to several predisposing factors. The leaves of pegagan (*Centella asiatica* L.) contains antibacterial substances that inhibit the growth of various types of bacteria. Tannins as one of the chemical components are known to have antibacterial activity. This study aims to determine the antibacterial effect of nanoemulsion gel leaves pegagan with various concentrations of 25%, 50%, and 75% against *Staphylococcus aureus* biofilms with differences incubation time of saliva.

This research method was an experimental type with post test only control group design with a sample of 24 divided into 8 groups. Each group was incubated 24 hours. The biofilm formation was observed at 4 and 8 hours and measured by Optical Density using an ELISA-reader.

The results of the average values on the nanoemulsion gel of leaves pegagan of 75% showed there was a lowest value. Then the difference of salivary incubation time resulted in a value at 4-hours lower than the 8-hours in all groups. The kruskal wallis results obtained $p=0,110$ ($p>0,05$), which showed that there were no differences in biofilm thickness in each group.

The conclusions of this research showed that formulation concentrations of 75% had most an antibacterial effect in reducing *Staphylococcus aureus* biofilms.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, biofilm, *Centella asiatica*, optical density



ABSTRAK

Penyakit periodontal adalah infeksi rongga mulut akibat dari bakteri berlebihan yang terdapat pada penumpukan plak. Salah satu bakteri penyebab yaitu *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus aureus* adalah mikroorganisme prokariotik yang tumbuh dan bertahan hidup sebagai komensal dan berubah menjadi patogen karena beberapa faktor prediposisi. Pegagan (*Centella asiatica* L.) merupakan tanaman herbal yang memiliki kandungan senyawa antibakteri yang dapat digunakan dalam bidang kesehatan. Tanin sebagai salah satu komponen kimia yang diketahui mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antibakteri nanoemulsi daun pegagan konsentrasi 25%, 50%, dan 75% terhadap biofilm *Staphylococcus aureus* dengan perbedaan waktu inkubasi saliva.

Metode penelitian ini berjenis eksperimental dengan *post test only control group design* dengan sampel berjumlah 24 yang dibagi menjadi 8 kelompok. Masing-masing kelompok diinkubasi 24 jam. Pembentukan biofilm diukur pada jam ke 4 dan ke 8 dengan menghitung *Optical Density* menggunakan *ELLISA-reader*.

Hasil data rerata nilai *optical density* pada nanoemulsi daun pegagan konsentrasi 75% menghasilkan nilai yang paling rendah. Kemudian hasil dari perbedaan waktu inkubasi saliva menghasilkan nilai pada waktu 4 jam lebih rendah dibandingkan waktu 8 jam dalam semua kelompok percobaan. Hasil *Kruskal-Wallis* diperoleh $p=0,110$ ($p>0,05$) yang menunjukkan tidak terdapat perbedaan ketebalan biofilm pada masing-masing kelompok.

Penelitian ini menunjukkan bahwa nanoemulsi daun pegagan konsentrasi 75% memiliki efek antibakteri paling efektif dalam menurunkan ketebalan biofilm bakteri *Staphylococcus aureus*.

Kata kunci: *Staphylococcus aureus*, biofilm, *Centella asiatica*, *optical density*

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit periodontal merupakan hasil dari interaksi yang sangat kompleks antara invasi bakteri biofilm dengan imun host yang tidak adekuat. Gingiva dan jaringan periodontal akan merespon dengan berbagai perubahan ketika terinisiasi dengan bakteri. Dalam respon inflamasi tersebut peran dari biofilm yang ada di subgingiva sangat penting, di mana mikroorganisme yang ada pada subgingiva akan secara langsung merusak jaringan ikat dengan cara melepaskan substansi berbahaya dengan mudah. Sedangkan apabila respon imun tubuh rendah dengan adanya kerusakan pada jaringan ikat maka dengan mudah bakteri akan merusak jaringan lebih dalam dan membentuk poket periodontal (Newman *et al.*, 2019).

Berdasarkan Data Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) tahun 2018 menunjukkan bahwa 57,6% penduduk Indonesia mengalami masalah kesehatan gigi dan mulut di antaranya karies dan penyakit periodontal. Sedangkan prevalensi penyakit periodontal dari seluruh dunia menurut WHO yaitu penyakit periodontal sudah mengenai pada suatu populasi berdasarkan aspek semua usia berkisar sekitar 20%-50% (Wang, 2008).

Peningkatan prevalensi penyakit periodontal dapat disebabkan oleh beberapa faktor ialah faktor lokal, faktor sistemik, maupun faktor lingkungan. Salah satu faktor lokal yang menyebabkan adanya penyakit periodontal yaitu akumulasi plak yang terbentuk oleh mikroorganisme di rongga mulut. Plak merupakan kumpulan dari akumulasi biofilm yang melekat pada permukaan gigi (Berger & Rakhamimova, 2018).

Pembentukan biofilm diawali dengan adanya *acquired pellicle* yang melekat pada semua permukaan rongga mulut 3 menit setelah menyikat gigi. Bakteri yang ada di rongga mulut akan melekat ke permukaan gigi melalui adhesin yang ada di *acquired pellicle*. Kemudian dilanjutkan dengan kolonisasi primer yang didominasi oleh bakteri aerob dan bakteri fakultatif anaerob selama 4 – 8 jam yang akan memberikan reseptor baru bagi bakteri lain untuk berkolonisasi. Kolonisasi sekunder didominasi oleh bakteri gram negatif yang akan membentuk jembatan *coaggregation* dan akan bermetabolisme secara terus menerus sampai terbentuk maturasi plak (Marsh and Zaura, 2017).

Bakteri flora normal dalam rongga mulut pada umumnya baik bagi kesehatan gigi dan mulut apabila terjadi keseimbangan atau hubungan antara flora normal dan imun host. Namun, lingkungan rongga mulut yang mengalami perubahan akan mengganggu hubungan tersebut sehingga memicu adanya bakteri patogen. Bakteri patogen terdiri atas bakteri fakultatif anaerob, kokus, dan batang gram positif. Salah satu jenis bakteri gram positif yang berperan dalam tahap kolonisasi primer pembentukan plak yaitu bakteri *Staphylococcus*

aureus, bakteri tersebut bersifat asidogenik yang akan menghasilkan fermentasi dan mengubah suasana rongga mulut menjadi asam (Lindhe and Lang, 2015).

Pengendalian penyakit yang disebabkan oleh bakteri plak ini dapat dilakukan melalui beberapa cara. Salah satunya dengan adanya senyawa bahan antibakteri yang dapat yang diperoleh dari tumbuh-tumbuhan herbal. Indonesia kaya akan tanaman herbal, sehingga dapat dipergunakan sebagai pengobatan alternatif. Penggunaan tanaman herbal memiliki efek samping yang lebih sedikit, mudah didapatkan, dan terjangkau. Salah satu alternatif zat antibakteri yang dapat dikembangkan adalah daun pegagan. Seperti tanaman herbal lainnya, tanaman pegagan (*Centella asiatica* L.) tumbuh liar di iklim yang tropis seperti Indonesia dan memiliki banyak senyawa kimia yang baik bagi tubuh (Yusran *et al.*, 2016).

Pada penelitian (Azzahra and Hayati, 2018), ekstrak etanol daun pegagan (*Centella asiatica* L.) mengandung senyawa aktif seperti saponin, tanin, flavonoid, triterpenoid, dan minyak atsiri. Flavonoid merupakan senyawa fenol yang berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran dan dinding sel bakteri. Saponin bersifat antibakteri karena dapat membentuk senyawa kompleks dengan membran sel melalui ikatan hidrogen, lalu menghancurkan permeabilitas dinding sel bakteri (Haryati *et al.*, 2015). Hasil penelitian menurut (Nurrosyidah *et al.*, 2019), ekstrak daun pegagan yang dikombinasikan dengan formulasi gel efektif menghambat pertumbuhan

bakteri *Staphylococcus aureus*. Penggunaan formulasi basis gel akan memudahkan dalam pengaplikasian penggunaan tanaman herbal serta dapat meningkatkan stabilitas dari kandungan bahan herbal.

Obat yang dikonsumsi, umumnya dapat terhambat oleh efisiensi pada kemampuan obat itu sendiri. Adanya nanoemulsi dapat membantu penghantaran obat terhadap tubuh. Nanoemulsi merupakan sistem penghantaran suatu bahan aktif maupun obat yang terdiri atas fase air dan minyak yang distabilkan oleh surfaktan untuk meningkatkan kelarutan serta efek farmakologi dari suatu bahan herbal (Gurpreet and Singh, 2018). Nanoemulsi memiliki beberapa keuntungan yaitu ukurannya yang sangat kecil berkisar 50-1000 nm memudahkan dalam laju penyerapan obat yang lipofilik terhadap tubuh serta menghindari adanya oksidasi dan hidrolisis karena bentuk sediaan minyak didalam air. Selain itu, nanoemulsi juga dapat menggabungkan obat lipofilik dan hidrofilik serta mengurangi efek samping dari pemakaian obat (Pradhan *et al.*, 2017).

Berdasarkan uraian teori diatas, peneliti ingin melakukan penelitian tentang potensi nanoemulsi gel daun pegagan (*Centella asiatica l.*) terhadap ketebalan biofilm yang dihasilkan dari kolonisasi bakteri *Staphylococcus aureus*.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah nanoemulsi gel daun pegagan (*Centella asiatica* L.) dengan berbagai konsentrasi (25%, 50%, dan 75%) efektif terhadap ketebalan biofilm bakteri *Staphylococcus aureus*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui efektivitas nanoemulsi gel daun pegagan (*Centella asiatica* L.) berbagai konsentrasi (25%, 50%, dan 75%) terhadap ketebalan biofilm bakteri *Staphylococcus aureus*.

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Mengetahui efektivitas nanoemulsi gel daun pegagan (*Centella asiatica* L.) dalam konsentrasi 25 % terhadap ketebalan biofilm bakteri *Staphylococcus aureus*.
- b. Mengetahui efektivitas nanoemulsi gel daun pegagan (*Centella asiatica* L.) dalam konsentrasi 50 % terhadap ketebalan biofilm bakteri *Staphylococcus aureus*.
- c. Mengetahui efektivitas nanoemulsi gel daun pegagan (*Centella asiatica* L.) dalam konsentrasi 75 % terhadap ketebalan biofilm bakteri *Staphylococcus aureus*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Memberikan informasi tentang efektivitas nanoemulsi gel pegagan (*Centella asiatica l.*) terhadap penurunan ketebalan biofilm bakteri *Staphylococcus aureus* sehingga dapat menjadi dasar untuk penelitian lebih lanjut.

1.4.2 Manfaat Praktis

- Penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi tentang manfaat dari daun pegagan (*Centella asiatica l.*).
- Penelitian ini diharapkan sebagai alternatif perawatan mengurangi ketebalan biofilm sebagai salah satu penyebab penyakit periodontal.
- Penelitian ini diharapkan sebagai terapi untuk mengurangi keparahan penyakit periodontal.

1.5 Orisinalitas Penelitian

Penelitian terdahulu yang menjadi acuan untuk mendukung penelitian ini:

Tabel 1. 1 Orisinalitas Penelitian

Peneliti	Judul Peneliti	Perbedaan
(Azzahra and Hayati, 2018)	Uji Aktivitas Ekstrak Daun Pegagan (<i>Centella asiatica l. urb</i>) Terhadap Pertumbuhan <i>Streptococcus mutans</i>	Pada penelitian ini meneliti pengujian efek anti bakteri ekstrak daun pegagan terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri <i>Streptococcus mutans</i> dengan konsentrasi 10%,20%,40%, 60%, 80%.

(Khasanah <i>et al.</i> , 2019)	Effectiveness Antimicrobial Infusion Test Gotu Kola Leaf Extract (<i>Centella asiatica l.</i>) On The Growth <i>Staphylococcus aureus</i>	Pada penelitian ini meneliti pengujian ekstrak daun pegagan (<i>Centella asiatica l.</i>) terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dengan konsentrasi sebesar 12,5%, 25%, 50%, 100%, dan tetrasiklin (+) 500 mg sebagai kontrol positif
(Nasution <i>et al.</i> , 2018)	Antimicrobial Activities of <i>Centella asiatica</i> Leaf and Root Extracts on Selected Patogenic Micro-organisms	Pada penelitian ini meneliti pengujian ekstrak daun pegagan (<i>Centella asiatica l.</i>) dan ekstrak akar pegagan (<i>Centella asiatica l.</i>) sebanyak 2.5, 5.0 dan 7.5 mg terhadap beberapa bakteri dan jamur.
(Buzanello <i>et al.</i> , 2020)	Nanoemulsions Containing Oil And Aqueous Extract Of Green Coffee Beans With Antioxidant And Antimicrobial Activities	Pada penelitian ini meneliti pengujian efektivitas antibakteri nanoemulsi biji kopi hijau terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , dan <i>Escherichia coli</i> dengan konsentrasi sebesar 0.1%, 0.2%, 0.5%, 1.0%, 5.0%, 10%, and 12.5%.
(Hassan and Mujtaba, 2019)	Antibacterial Efficacy Of Garlic Oil Nano-Emulsion	Pada penelitian ini meneliti pengujian efektivitas antibakteri nanoemulsi minyak bawang putih dan minyak bawang putih terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i>

Berdasarkan penelitian sebelumnya, terdapat perbedaan penelitian ini dengan penelitian sebelumnya yaitu efektivitas sediaan nanoemulsi gel daun pegagan (*Centella asiatica* L.) dalam konsentrasi 25%, 50%, dan 75% terhadap ketebalan biofilm bakteri *Staphylococcus aureus*.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Pustaka

2.1.1 Dental Plak

a. Definisi Dental Plak

Dental plak merupakan gambaran klinis substansi yang akan terlihat berwarna kuning – keabu-abuan dan berkembang secara terus menerus di rongga mulut dimana terletak pada permukaan jaringan keras gigi juga termasuk restorasi. Pada dental plak terdiri dari kumpulan beberapa bakteri yang kompleks yang terdiri dari 500 jenis bakteri yang ada di rongga mulut (Basavaraju *et al.*, 2016).

Biofilm merupakan suatu lapisan tipis awal terbentuknya plak gigi, berupa kumpulan agregasi mikroorganisme yang saling tersusun dan menempel, sehingga bakteri-bakteri tersebut akan memproduksi matriks polimer dan melekat pada permukaan gigi. Penumpukan biofilm pada rongga mulut disebut plak gigi. Plak merupakan istilah yang digunakan untuk menggambarkan kumpulan berbagai mikroorganisme bakteri pada permukaan gigi yang berada dalam suatu matriks ekstraseluler (Marsh and Zaura, 2017).

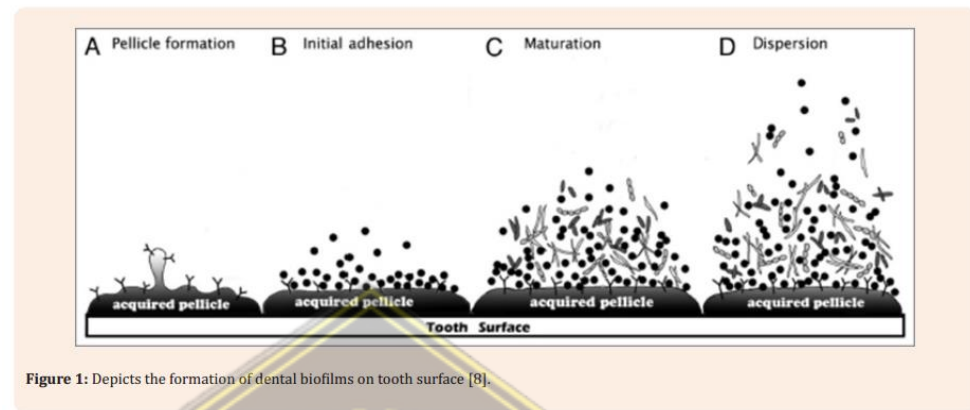
b. Komposisi Dental Plak

Estimasi dari kandungan dental plak yaitu sebanyak 70% mengandung bakteri yang terdapat pada rongga mulut dan 30%

merupakan matriks intraseluler (Vasudevan, 2017). Dental plak didominasi oleh mikroorganisme yang saling berinteraksi di dalam rongga mulut. Setiap bakteri akan menghasilkan zat substansi yang akan mendukung metabolisme dengan bakteri yang lain. Selain itu, sebagai upaya mempertahankan aktivitas metabolismenya, bakteri tersebut mendapatkan nutrisi dari kandungan matriks intraseluler (Berger *et al.*, 2018).

Matriks intraseluler berasal dari cairan yang ada di rongga mulut seperti saliva, cairan sulkus gingiva, dan produk yang dihasilkan dari bakteri. Kandungan matriks terdiri dari kandungan organik maupun anorganik yang berasal dari cairan yang ada di rongga mulut. Kandungan organik yang ada dalam dental plak yaitu glikoprotein, polisakarida, protein, lipid, dan DNA. Glikoprotein yang terdapat pada saliva merupakan komponen yang sangat penting bagi pelikel pada saat inisiasi awal pada permukaan gigi. Selain glikoprotein, terdapat polisakarida yang memegang peran utama dalam menyeimbangkan integritas dari dental plak. Kandungan anorganik yang ada pada dental plak didominasi oleh kalsium dan fosfor tetapi terdapat beberapa mineral seperti sodium, pottasium dan fluoride yang terkandung dalam dental plak (Marsh and Zaura, 2017; Seneviratne and Suriyanarayanan, 2017).

c. Tahapan pembentukan Dental Plak



Gambar 2. 1 Patogenesis dental plak (Vasudevan, 2017)

1) Pembentukan formasi pelikel

Semua permukaan yang di rongga mulut termasuk jaringan keras maupun jaringan lunak selalu dilapisi material organik yang disebut *acquired pellicle*. Pelikel tersebut melapisi permukaan gigi terdiri dari 180 peptida, protein, glikoprotein termasuk keratin, mucin, protein kaya- prolin, phosphoprotein. Pada proses pembentukan dental plak, bakteri tidak secara langsung melekatkan diri ke permukaan gigi, tetapi bakteri tersebut akan berkontak maupun bereaksi langsung dengan *acquired pellicle* (Newman *et al.*, 2019; Marsh and Zaura, 2017).

2) Perlekatan Bakteri / Initial Adhesi

Bakteri tersebut tidak dapat secara langsung melekat ke permukaan gigi, tetapi bakteri tersebut akan berkontak langsung dengan pelikel. Permulaan reaksi tersebut diawali dengan bakteri akan melepaskan komponen karbohidrat dan protein yang akan berkontak dengan pelikel. Molekul adhesin yang terdapat pada bakteri juga akan berinteraksi dengan reseptor pelikel. Hanya beberapa bakteri yang memiliki reseptor adhesin berguna untuk interaksi pelikel (Newman *et al.*, 2019; Seneviratne and Suriyanarayanan, 2017).

Permukaan gigi yang telah dibersihkan menggunakan sikat gigi tidak maksimal karena tidak seluruhnya mikroorganisme yang melekat pada permukaan gigi akan terlepas. Tiga menit setelah pembersihan, bakteri akan kembali membentuk koloni (rekolonisasi) dan melekat ke enamel tersebut. Lebih dari 4 sampai 8 jam umumnya didominasi oleh bakteri aerob dan bakteri fakultatif anaerob yang merupakan pemeran utama dari kolonisasi awal atau kolonisasi primer. Metabolisme bakteri tersebut akan menciptakan suasana lingkungan yang baik bagi bakteri lain untuk bertahan hidup di dalam dental plak (Newman *et al.*, 2019).

3) Kolonisasi Awal

Kolonisasi awal atau kolonisasi primer merupakan tempat berkumpulnya bakteri yang telah melekat ke permukaan gigi dengan mengundang bakteri lain untuk melekat ke permukaan gigi tersebut, dan sering disebut “*Coadhesion*”. Pada tahap ini akan terjadi metabolisme bakteri di mana bakteri yang berperan pada tahap ini akan menghasilkan lingkungan yang semakin anaerob bagi bakteri lain dengan cara menggunakan oksigen sebanyak-banyaknya agar oksigen di dalam rongga mulut semakin berkurang (Lindhe and Lang, 2015).

4) Kolonisasi Sekunder

Pada fase ini lingkungan rongga mulut semakin anaerob akan meningkatkan populasi dari bakteri anaerob. Meningkatnya substrat organik yang dihasilkan seperti asam maupun alkohol akan memicu meningkatnya kolonisasi sekunder yang didominasi oleh bakteri anaerob gram negatif. Senyawa organik yang dihasilkan bakteri gram positif merupakan nutrisi untuk kelangsungan hidup bakteri gram negatif. Pada plak supragingiva yang akan terjadi maturasi akan terjadi peningkatan dari mikroorganisme yang ada pada dental plak (Vasudevan, 2017).

5) Maturasi Dental Plak

Beberapa bakteri akan mensintesis matriks ekstraseluler yang akan memperkuat perlekatan bakteri terhadap dental plak. Pada tahap terakhir, bakteri yang ada pada dental plak tetap melakukan metabolisme secara terus menerus yang berfungsi sebagai nutrisi primer. Tidak hanya itu, semakin banyak bakteri yang ada di dental plak akan memaksimalkan kinerja antar sesama bakteri untuk mematangkan dental plak (Basavaraju *et al.*, 2016; Newman *et al.*, 2019).

2.1.2 Penyakit Periodontal

a. Definisi Penyakit Periodontal

Penyakit periodontal merupakan hasil dari interaksi yang sangat kompleks antara invasi bakteri biofilm dengan imun host yang tidak adekuat. Gingiva dan jaringan periodontal akan merespon dengan berbagai perubahan ketika terinisiasi dengan bakteri. Dalam respon inflamasi tersebut peran dari biofilm yang ada di subgingiva sangat penting, dimana mikroorganisme yang ada pada subgingiva akan secara langsung merusak jaringan ikat dengan cara melepaskan substansi berbahaya dengan mudah. Sedangkan apabila respon imun tubuh rendah dengan adanya kerusakan pada jaringan

ikat maka dengan mudah bakteri akan merusak jaringan lebih dalam dan membentuk poket periodontal (Newman *et al.*, 2019).

b. Klasifikasi Penyakit Periodontal

Klasifikasi penyakit periodontal berdasarkan etiologi dari penyakit periodontal dapat dibagi menjadi dua kategori yaitu gingivitis dan periodontitis (Newman *et al.*, 2019).

Tabel 2. 1 Klasifikasi Penyakit Periodontal (Newman *et al.*, 2019)

Klasifikasi penyakit periodontal
Gingivitis
A. Gingivitis diinduksi dengan dental plak
B. Gingivitis yang tidak diinduksi dengan dental plak
Periodontitis
A. <i>Chronic periodontitis</i>
B. <i>Aggresive periodontitis</i>
C. <i>Periodontitis As A Manifestation Of Systemic Disease</i>
D. <i>Necrotizing Periodontal Disease</i>
E. <i>Abcesses Of The Periodontium</i>
F. <i>Periodontal-Endodontic Lesions</i>
G. <i>Developmental Or Acquired Deformities And Conditions</i>

1) Gingivitis

Gingivitis merupakan peradangan pada gingiva pada gigi tanpa adanya kehilangan perlekatan pada gigi. Peradangan tersebut mengurangi perlekatan dukungan periodontal. Gingivitis umumnya memengaruhi dari warna gingiva akibat peradangan (Newman *et al.*, 2019).

a) Gingivitis Diinduksi dengan Dental Plak

Gingivitis diinduksi dengan dental plak merupakan respon inflamasi pada gingiva terhadap akumulasi bakteri

yang terletak pada margin gingiva maupun di bawah margin gingiva. Pada kondisi ini dapat dipengaruhi oleh penggunaan obat-obatan, kekurangan nutrisi, maupun faktor sistemik yang akan mempengaruhi adanya dental plak sehingga mengakibatkan terjadinya gingivitis. Gejala klinis yang terlihat pada kondisi ini yaitu terjadi perdarahan saat menyikat gigi, gingiva tampak membengkak dan berwarna kemerahan, dan disertai bau mulut akibat akumulasi plak yang ada pada rongga mulut (Murakami *et al.*, 2018).

b) Gingivitis yang Tidak Diinduksi dengan Dental Plak

Adanya gingivitis pada kondisi ini umumnya disebabkan oleh adanya virus, jamur, bakteri spesifik, reaksi jaringan terhadap benda asing, maupun idiopatik yang merupakan faktor etiologi utama yang akan menghasilkan manifestasi klinis pada gingiva. Kondisi yang terjadi pada gingiva seperti adanya lesi deskuamasi, ulserasi pada gingiva, adanya reaksi alergi yang ditemui pada bahan restorasi gigi, pasta gigi, obat kumur, permen karet maupun makanan (Holmstrup *et al.*, 2018).

2) Periodontitis

Periodontitis merupakan inflamasi kronis pada jaringan periodonsium dengan tipe progresif lambat sebagai respon agregasi bakteri dental plak yang mengakibatkan kerusakan secara tidak langsung dan menghasilkan poket, serta destruksi tulang alveolar (Lindhe and Lang, 2015).

a) Periodontitis Kronis

Periodontitis kronis merupakan penyakit infeksius yang menghasilkan respon inflamasi pada jaringan pendukung gigi, kehilangan perlekatan secara progresif, dan resorpsi tulang alveolar. Pada dasarnya perkembangan berlangsung lambat, tetapi kerusakannya dapat dilihat secara visual. Pada pemeriksaan klinis akan terlihat gambaran klinis berupa gingivitis yang merupakan awal terjadinya periodontitis kronis, adanya sulkus gingiva yang dalam (poket periodontal) saat dilakukan pemeriksaan kedalaman probing serta hilangnya perlekatan pada gigi. Adanya mobilitas gigi maupun migrasi gigi juga dapat terlihat pada manifestasi periodontitis kronis (Sistla *et al.*, 2018).

b) Periodontitis Agresif

Periodontitis agresif umumnya sering terjadi pada usia pubertas, dan ditemukan lebih banyak pada perempuan

daripada laki – laki dengan perbandingan 3:1. Periodontitis agresif dapat diperoleh dari keturunan riwayat keluarga secara *X – linked* dominan maupun autosomal resesif. Umumnya kondisi pada periodontitis agresif terlihat akumulasi plak yang sedikit atau minimal tanpa adanya peradangan gingiva yang parah, tetapi perkembangan dan tingkat keparahannya terjadi secara tidak konsisten (Sistla *et al.*, 2018).

c. Patogenesis Penyakit Periodontal

Penyakit periodontal berawal dari infeksi pada jaringan periodontal karena adanya invasi mikroorganisme patogen yang berkolonisasi membentuk plak. Mikroorganisme patogen akan berinteraksi dengan sistem host yang menghasilkan reaksi kompleks berupa respon inflamasi. Plak berkembang dan mencapai supragingiva dan subgingiva akan termineralisasi yang mengalami pengapuran massa menjadi kalkulus. Kalkulus yang tidak dibersihkan dan dibiarkan dengan kurun waktu yang lama akan menyebabkan penyakit periodontal (Kinane, 2019; Marsh and Zaura, 2017).

Transisi dari gingivitis menjadi periodontitis ditandai dengan perubahan dari mikroorganisme yang di rongga mulut berupa bakteri negatif lebih dominan daripada gram positif. Adanya faktor

virulensi bakteri gram negatif yaitu memiliki lipopolisakarida (LPS) dan menghasilkan substansi yang berbahaya seperti *amonia* (NH_2) dan *Hidrogen sulfida* (H_2S) yang akan merusak jaringan periodontal. Lipopolisakarida akan merangsang respon imun host. Setelah respon imun aktif maka akan meningkatkan host mediator inflamatori seperti prostaglandin E_2 (PGE_2), *matrix metalloproteinase* (MMPs), sitokin, proinflamasi (IL-1, IL-6, IL-8, $\text{TNF-}\alpha$). Peningkatan dari host mediator inflamatori akan menyebabkan kerusakan jaringan periodontal (Tonetti *et al.*, 2017; Papapanou *et al.*, 2018).

2.1.3 Tanaman Pegagan (*Centella asiatica* L.)

Obat tradisional memiliki efek samping yang lebih sedikit dan murah serta mudah didapat dibandingkan dengan obat kimia. Indonesia kaya akan tanaman herbal, sehingga dipergunakan sebagai pengobatan alternatif. Seperti tanaman herbal lainnya, tanaman pegagan tumbuh liar di iklim yang tropis seperti Indonesia dan memiliki banyak senyawa kimia yang baik bagi tubuh (Yusran *et al.*, 2016).



Gambar 2. 2 Tanaman pegagan (Sutardi, 2016)

a. Taksonomi Tanaman Pegagan (*Centella asiatica* L.)

Taksonomi Tanaman Pegagan (*Centella asiatica* L.) sebagai berikut:

Species : *Centella asiatica*
 Divisi : *Spermatophyta*. subdivisi *Angiospermae*
 Kelas : *Dicotyledonae*
 Ordo : *Umbellales*
 Famili : *Umbelliferae* (*Apiaceae*)
 Genus : *Centella*, *Centella asiatica* (L.) Urban atau *Hidrocotyle asiatica* linn (Sutardi, 2016)

Tanaman Pegagan (*Centella asiatica* L.) merupakan tanaman herbal yang dapat tumbuh di daerah tropis maupun subtropis seperti Asia Tenggara yaitu India, Sri Lanka, China, Indonesia, Malaysia. Tanaman tersebut mempunyai dahan yang merambat dan menjalar. Selain itu juga terkadang memiliki sedikit sifat aromatik pada daunnya. Pada keadaan tanah yang lembab, basah, sinar

matahari yang cukup atau agak teduh merupakan tempat di mana tanaman pegagan tumbuh dan beradaptasi. Pada daerah dataran tinggi dengan ketinggian 700 mdpl tanaman pegagan dapat tumbuh subur dan mampu bertahan mencapai ketinggian 2500 mdpl. Umumnya tanaman pegagan (*Centella asiatica* L.) dapat ditemukan secara liar atau dapat mudah ditemukan di mana saja seperti di perkebunan, sawah, maupun tepian sungai (Sutardi, 2016; Khasanah *et al.*, 2019).

Tanaman pegagan (*Centella asiatica* L.) dapat tumbuh subur hingga tingginya mencapai 15 cm (6 inci). Tanaman tersebut dapat mudah ditemukan karena memiliki ciri khas yaitu pada batangnya mempunyai permukaan halus dan licin, serta akan membentuk seperti payung. Selain itu pada satu kesatuan batang akan memiliki daun sebanyak 1-5 buah dan memiliki lebar daun dengan diameter 1 cm – 7 cm yang berbentuk seperti kipas atau ginjal. Tekstur permukaan daun bagian punggung yaitu halus tetapi kadang berambut dan bergerigi (Sutardi, 2016; Mahyarudin and Riza, 2017).

b. Khasiat Antibakteri Daun Pegagan

Tanaman pegagan dikenal sebagai tanaman herbal yang dapat menyembuhkan berbagai penyakit. Dalam penggunaannya, tanaman pegagan memiliki beberapa kandungan senyawa aktif

yang bermanfaat dan baik bagi tubuh seperti triterpenoid, saponin, triterpenoid genin, minyak atsiri, flavonoid, fitosterol, dan kandungan senyawa aktif lainnya. Tetapi, kandungan yang paling penting sebagai antibakteri yaitu triterpenoid, flavonoid dan saponin (Azzahra and Hayati, 2018; Khasanah *et al.*, 2019).

Senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman pegagan yaitu flavonoid. Pada perannya senyawa tersebut akan menghambat sintesis asam nukleat dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga menyebabkan rusaknya membran sel bakteri. Tak hanya itu flavonoid juga akan menghambat metabolisme energi pada bakteri dengan menghalangi bakteri menggunakan oksigen. Selain flavonoid ada juga saponin yang juga berperan sebagai antibakteri dengan cara meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan denaturasi protein membran maka seiring menurunnya permeabilitas, membran sel akan lisis dan rusak (Agfadila *et al.*, 2017; Azzahra and Hayati, 2018).

Triterpenoid juga berperan penting sebagai antibakteri dimana senyawa tersebut akan bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada diluar dinding sel bakteri. Reaksi tersebut membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga menyebabkan rusaknya porin tersebut. Porin merupakan tempat keluar masuknya

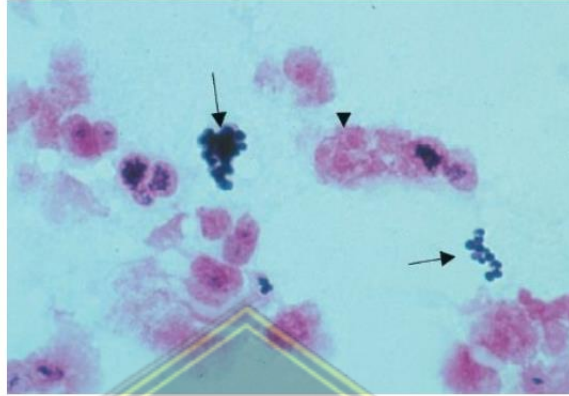
senyawa yang akan menyebabkan berkurangnya permeabilitas dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan bakteri kekurangan nutrisi yang kemudian akan lisis (Yusran *et al.*, 2016; Agfadila *et al.*, 2017).

c. Manfaat Daun Pegagan dalam Bidang Kedokteran Gigi

Daun pegagan (*Centella asiatica* L.) secara umum telah banyak digunakan dalam beberapa penelitian terkait bidang kedokteran gigi. Kandungan daun pegagan yang memiliki sifat antibakteri dapat menunjukkan adanya penurunan terbentuknya plak pada rongga mulut. Penurunan terbentuknya plak dapat terjadi apabila kandungan dari daun pegagan menghambat perkembangan dari bakteri yang memicu adanya lingkungan dan kolonisasi dari terbentuknya plak (Azzahra and Hayati, 2018).

Daun pegagan (*Centella asiatica* L.) tak hanya memiliki kandungan antibakteri, juga memiliki sifat antioksidan dimana ia berperan penting dalam meningkatkan penyembuhan luka pada rongga mulut. Dalam proses penyembuhan luka, kandungan daun pegagan (*Centella asiatica* L.) dapat mensintesis fibronectin yang memiliki kemampuan merangsang makrofag untuk mengaktifasi *growth factor*. *Growth factor* berperan penting dalam proliferasi fibroblas yang akan menghasilkan kolagen (Park *et al.*, 2017).

2.1.4 Bakteri *Staphylococcus aureus*



Gambar 2. 3 Bakteri *Staphylococcus aureus* dalam pewarnaan gram (Levinson., 2014)

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif berbentuk kokus yang sangat penting secara medis. *Staphylococcus* berasal dari bahasa Yunani yaitu “*Staphyle*” merupakan sekelompok anggur dan “*Coccus*” ialah biji-bijian atau beri (Levinson., 2014).

a. Taksonomi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Taksonomi Bakteri *Staphylococcus aureus* sebagai berikut :

Kingdom : *Eubacteria*

Filum : *Firmicutes*

Kelas : *Bacili*

Ordo : *Bacillales*

Familia : *Staphylococcaceae*

Genus : *Staphylococcus*

Spesies : *Staphylococcus aureus* (Levinson., 2014)

b. Anatomi Morfologi

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif yang termasuk flora normal yang ada di rongga mulut. Bakteri tersebut memiliki karakteristik yaitu berbentuk bulat tetapi terlihat seperti buah anggur karena hidupnya bergerombol, tidak memiliki spora, tidak bergerak. Ukuran dari bakteri tersebut berkisar dengan diameter 0.5 – 1 mm. Kisaran suhu yang baik untuk pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ialah 6-44°C (optimal 37°C) dan kisaran pH agar bakteri tersebut dapat berkembang antara pH 4.2 – 9,3 (optimal 7). Pertumbuhan dan perkembangan bakteri *Staphylococcus aureus* sangat cepat pada media cair yang terutama terdapat nutrisi dan pepton (Samaranayake., 2012).

c. Peranan Bakteri Staphylococcus Aureus pada Penyakit Periodontal

Bakteri gram positif seperti bakteri *Staphylococcus aureus* akan meningkatkan produksi dari mediator inflamasi dan merupakan kunci dari terjadinya respon inflamasi karena bakteri akan mengeluarkan asam lipoteichoic untuk menstimulasi respon inflamasi pada jaringan. Peran bakteri *Staphylococcus aureus* tidak hanya memproduksi mediator inflamasi, bakteri tersebut akan mendaur ulang atau memproses kembali protein dari formasi

matriks ekstraseluler yang ada di sitoplasma (Newman *et al.*, 2019).

Pada kondisi infeksi, protein sitoplasmik (*cytoplasmic protein*) yang terdapat di dalam sitoplasma akan berperan sebagai matriks yang akan meningkatkan pergerakan dan adaptasi dari bakteri *Staphylococcus aureus* pada formasi dari biofilm, serta akan meningkatkan perkembangan formasi biofilm dengan mendatangkan bakteri lain (Jamal *et al.*, 2015; Newman *et al.*, 2019).

2.1.5 Nanoemulsi Gel

a. Definisi Nanoemulsi Gel

Gel adalah suspensi yang terdiri dari partikel anorganik kecil maupun partikel anorganik besar yang dapat menembus suatu cairan (Sheikh *et al.*, 2018). Nanoemulsi merupakan partikel yang dianggap isotropik yang stabil secara termodinamik dan kinetik, terdiri dari dua larutan yang salah satunya tidak mudah larut seperti minyak dan air yang kemudian disatukan menggunakan surfaktan dan co-surfaktan. Nanoemulsi yang terdispersi minyak didalam air umumnya memiliki ukuran droplets berkisar antara 50 – 1000 nm. Nanoemulsi sering disebut dengan *submicron emulsions*, *ultrafine emulsions* and *mini-emulsions* (Gurpreet and Singh, 2018).

b. Pemanfaatan Nanoemulsi Gel pada Bidang Kedokteran Gigi

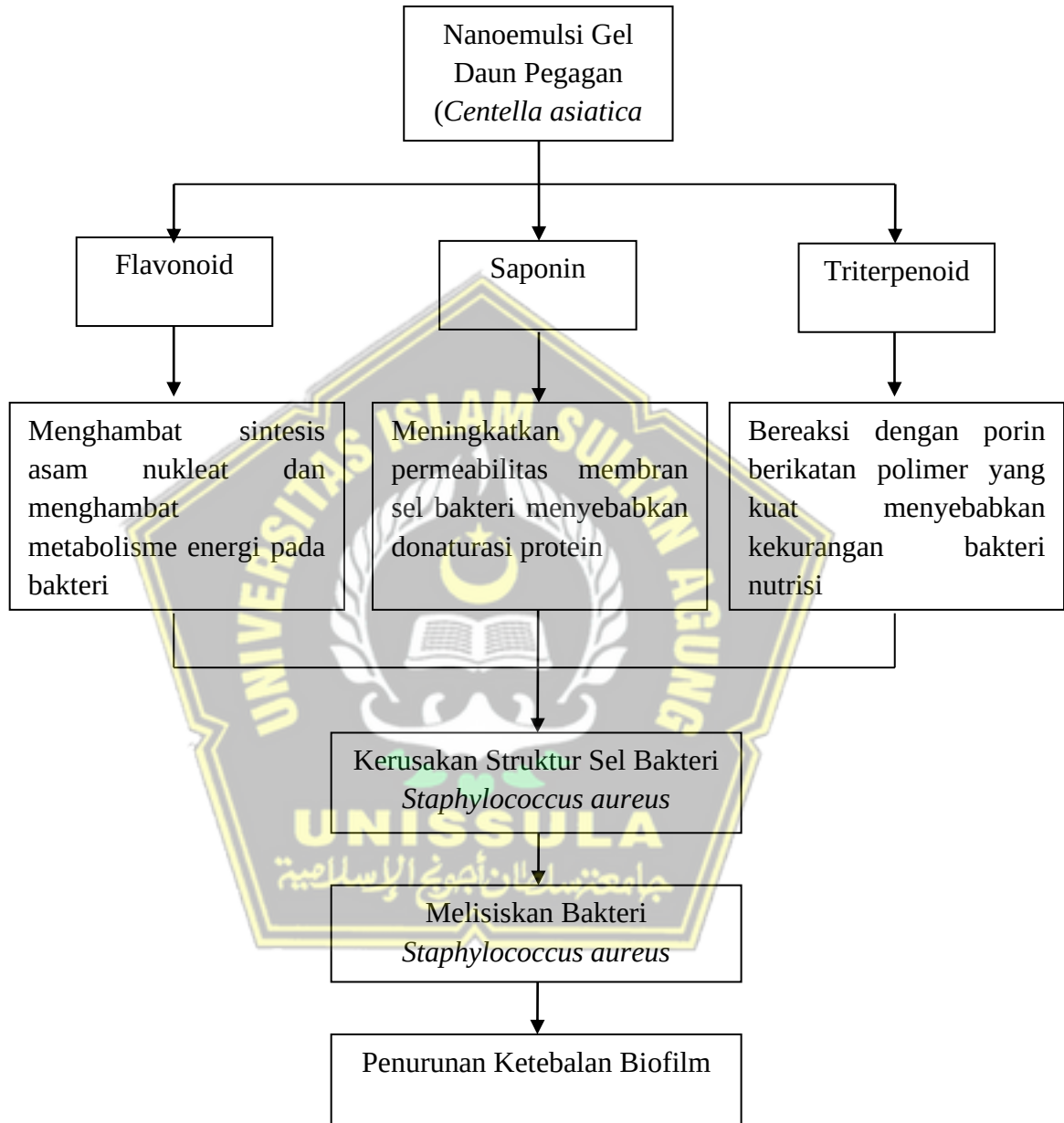
Teknologi dalam kedokteran gigi sudah dikembangkan dalam berbagai aspek, seperti penggunaan teknologi nano yang sangat bermanfaat dalam memelihara kesehatan gigi dan mulut. Keuntungan dari penggunaan nanopartikel dapat meningkatkan sifat mekanik bahan, kualitas bahan kedokteran gigi dalam menunjang hasil perawatan pasien. Efek yang ditimbulkan dari bahan nanomaterial tergantung dari beberapa faktor seperti ukuran dari nanopartikel dan reaksi sistem kekebalan tubuh terhadap bahan nanopartikel. Penggunaan nanomaterial dalam kedokteran gigi dapat diaplikasikan dalam *dental diagnostic, preventive dentistry*, dan dental material seperti endodontik, konservasi gigi, prosthodontik, periodontik, *implantology* dan *regenerative dentistry* (AlKahtani, 2018; Buzanello *et al.*, 2020).

Nanoemulsi dapat berkontribusi ke dalam manajemen kesehatan oral. Obat yang sediaannya diubah dalam nanoemulsi akan lebih menguntungkan. Ukuran partikel yang sangat kecil (50 – 1000 nm) memudahkan dalam pemberian obat yang langsung mengarah ke lapisan mukosa yang lebih dalam, sehingga penggunaan nanoemulsi dapat mempercepat penyembuhan pada mukosa oral yang ada pada rongga mulut. Nanoemulsi memiliki peran penting yaitu nanoemulsi memiliki efek bakterisidal,

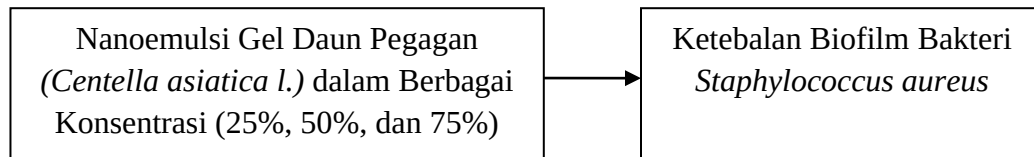
spirosidal, dan virusidal. Nanoemulsi menghambat beberapa mikroorganisme dengan cara merusak membran luar dari mikroorganisme. Hal tersebut dapat membantu mencegah dan mengurangi adanya mikroorganisme yang ada pada rongga mulut, alat kedokteran gigi, dan lain-lain (Narang and Narang, 2017).



2.2 Kerangka Teori



2.3 Kerangka Konsep



2.4 Hipotesis

Nanoemulsi gel daun pegagan (*Centella asiatica* L.) efektif terhadap penurunan ketebalan biofilm bakteri *Staphylococcus aureus*.



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang akan dilaksanakan adalah penelitian analitik untuk mengetahui hubungan dari kedua variabel yang akan dilakukan secara eksperimental laboratorium *in vitro*.

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *experimental post test only*.

3.3 Variabel

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini yaitu nanoemulsi gel ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica l.*) dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%..

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah ketebalan biofilm dari bakteri *Staphylococcus aureus*.

3.3.3 Variabel Terkendali

Pembuatan kultur suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* yang di inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan media *well plate steril*.

3.4 Definisi Operasional

Tabel 3. 1 Tabel Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi Operasional	Skala Data
1.	Nanoemulsi gel daun pegagan (<i>Centella asiatica</i> l.).	Suatu formulasi hasil dispersi dari suatu bahan herbal dengan berbagai konsentrasi (25%, 50%, 75%) kemudian dibuat menjadi sediaan gel yang diaplikasikan pada media <i>well microplate</i> .	Rasio
2.	Ketebalan Biofilm Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	Suatu pembiakan bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dari pembiakan murni di Laboratorium Mikrobiologi FK UNDIP kemudian dikultur dalam <i>well plate</i> yang sudah dilapisi saliva untuk pembentukan biofilm. Lapisan biofilm tersebut lalu diberikan formulasi nanoemulsi gel daun pegagan (<i>Centella asiatica</i> l.). yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam lalu dihitung ketebalan biofilm tersebut menggunakan alat <i>microplate reader</i> serta didapatkan hasil pengukuran berupa nilai OD (<i>Optical Density</i>)	Rasio

3.5 Sampel Penelitian

3.5.1 Sampel Bakteri

Bakteri *Staphylococcus aureus* diinokulasikan pada media nutrien agar (NA) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengambilan sampel dalam penelitian ini dibagi menjadi empat kelompok yaitu :

- a. Kelompok I : Kelompok perlakuan yang diberi nanoemulsi gel daun pegagan konsentrasi 25%.
- b. Kelompok II : Kelompok perlakuan yang diberi nanoemulsi gel daun pegagan konsentrasi 50%.
- c. Kelompok III : Kelompok perlakuan yang diberi nanoemulsi gel daun pegagan konsentrasi 75%.
- d. Kelompok IV : Kelompok kontrol positif menggunakan chlorhexidin gel.

3.5.2 Bahan Uji

Sampel yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah formulasi nanoemulsi gel daun pegagan (*Centella asiatica l.*) dengan konsentrasi 25%, 50%, dan 75% dan pengumpulan saliva oleh *volunteer* dengan cara metode *spitting out* yaitu probandus diminta meludah sebanyak 10 ml dan ditampung pada gelas ukur.

3.5.3 Besar Sampel

Rumus yang digunakan untuk menentukan besar sampel didapatkan dengan rumus *Federer*:

$$\begin{aligned}
 (n-1)(k-1) &\geq 15 \\
 (4-1)(k-1) &\geq 15 \\
 3(k-1) &\geq 15 \\
 3k-3 &\geq 15 \\
 3k &\geq 18 \\
 k &\geq 6 \\
 \text{Sampel} &= nxk \\
 &= 4 \times 6 = 24.
 \end{aligned}$$

Keterangan :

n = banyaknya sampel (pengulangan)

k = banyaknya perlakuan

Berdasarkan hasil perhitungan tersebut maka jumlah sampel keseluruhan yang dibutuhkan dalam penelitian ini ada 24, jumlah kelompok yaitu 4 kelompok kemudian di dalam masing – masing kelompok di bagi menjadi 2 kelompok kembali sehingga perlakuan ada 8 kelompok dengan 4 kelompok inkubasi 4 jam dan 4 kelompok inkubasi 8 jam. Setiap kelompok diulang sebanyak 3-4 kali. Besar sampel ini digunakan sebagai acuan dilakukan pengulangan dalam penelitian ini.

3.6 Alat dan Bahan Penelitian

Tabel 3. 2 Alat Penelitian dan Bahan Penelitian

Alat Penelitian	Bahan Penelitian
Inkubator	Daun pegagan
Stopwatch	Suspensi bakteri standar
Media	(<i>Mc.Farland</i> 0,5 $1,5 \times 10^8$ CFU/mL)
well plate	HMPC 4000
Micropipet	Tween 80 36%
Gelas ukur	Etanol 96%
Batang pengaduk	Propilen glikol
Colony counter	Metil parabean
Homogenizer	Propil parabean
magnetic stirrer	Gliserin
Eppendorf Multi	Aquades
Channel dan Shaker	Crystal Violet 1%
Mortir	Saliva
Blender	Phospate Buffer Saline (PBS)
Alat microplate Reader	Chlorhexidine
Rotary evaporator	

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Ethical Clearance

Pengajuan permohonan ijin penelitian kepada Komite Tim Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

3.7.2 Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat dilakukan sebelum tahap penelitian menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Kemudian didiamkan hingga mencapai suhu kamar dan suhu kering sehingga alat penelitian dapat digunakan (Syah, 2013).

3.7.3 Pengambilan Saliva dengan Metode *Spitting*

Pengambilan saliva yang dilakukan pada pasien dengan kriteria memiliki surat keterangan uji test PCR dengan **hasil negatif** serta kesehatan umum subyek baik, tidak memiliki riwayat penyakit sistemik, penyakit tiroid, dan tidak sedang mengonsumsi antibiotik. Tahapan pengambilan saliva dengan metode *spitting* (Ningsih and Agustin, 2019):

1. Praktikan menggunakan APD kemudian responden di lakukan pengecekan suhu terlebih dahulu selanjutnya responden diminta untuk duduk dengan nyaman (Ningsih and Agustin, 2019).
2. Responden diminta untuk membersihkan mulutnya terlebih dahulu dengan larutan aquades selama 30 detik. Dilanjutkan mengunyah permen karet xylitol selama 5 menit (Ningsih and Agustin, 2019).
3. Setelah mengunyah permen karet xylitol, responden diminta untuk tidak menelan saliva selama 5 menit yang dihitung dengan menggunakan *stopwatch* (Ningsih and Agustin, 2019).
4. Setelah 5 menit, responden diminta untuk mengeluarkan saliva dan dimasukkan ke dalam gelas ukur yang sudah disediakan sebanyak yang diperlukan sesuai jumlah sampel (Ningsih and Agustin, 2019).

3.7.4 Pembuatan Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* L.)

Pembuatan ekstrak daun pegagan dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Sebanyak 250 gr daun pegagan yang telah dibersihkan, dipotong kecil-kecil kemudian dikeringkan. Daun pegagan yang telah kering dihaluskan menggunakan *blender*. Selanjutnya merendam 250 gram serbuk daun pegagan dalam 1000 ml pada larutan etanol 96% sampai seluruhnya terendam selama 24 jam dengan bantuan *shanker*. Ekstrak disaring untuk memisahkan ampas dan filtratnya. Selanjutnya filtrat dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C untuk menguapkan semua etanol sehingga didapatkan ekstrak kental daun (Khasanah *et al.*, 2019).

3.7.5 Pembuatan Nanoemulsi Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica*)

Pembuatan nanoemulsi menggunakan metode *oil in water*. Pada fase air mencampurkan 3,6 gram Tween 80 sebagai surfaktan dan etanol sebagai kosurfaktan dengan 100 gram aquadest sampai homogen menggunakan *overheat stirrer* dengan kecepatan 1000 rpm selama 30 menit. Kemudian untuk fase minyak larutkan 0,1 gram metil parabean dan 0,02 gram propil parabean ke dalam 10 gram propilen glikol beserta *palm oil* kemudian ditambahkan ke dalam campuran bahan sebelumnya menggunakan *overheat stirrer*. Lakukan pencampuran sesuai masing – masing fase tersebut. Apabila sudah homogen maka

satukan fase minyak dan fase air hingga homogen menggunakan *overheat stirrer* dengan kecepatan 1000 rpm selama 1 jam (Khoiriyah *et al.*, 2018; Ramadhan *et al.*, 2015).

3.7.6 Pembuatan Nanoemulsi Gel Daun Pegagan

Pembuatan basis gel diawali dengan mencampurkan HMPC 4000 dengan aquadest hingga terdispersi seluruhnya dan homogen didalam mortir. Diamkan campuran tersebut selama 1 jam sampai terbentuk massa gel. Setelah terbentuk massa gel dilakukan penambahan 0,1 gram metil parabean, 2 gram propil parabean dan 2 gram gliserin kemudian diaduk hingga homogen. Kemudian campurkan basis gel dengan seluruh formulasi nanoemulsi gel daun pegagan (*Centella asiatica l.*) dalam suhu ruangan menggunakan alat *homogenizer* dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit (Nurrosyidah *et al.*, 2019).

Tabel 3. 3 Perhitungan Optimalisasi Ekstrak Daun Pegagan dengan Formula Gel

	F1	F2	F3
Bahan	25%	50%	75%
Massa nanoemulsi daun pegagan (gr)	2,5 gr	5 gr	7,5 gr
Massa basis gel (ml)	7,5 ml	5 ml	2,5 ml

3.7.7 Uji Biofilm dengan Metode Microtiter Plate Biofilm Assay

Wellplate yang sudah dilapisi saliva sebanyak 200 μ L kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 4 – 8 jam selanjutnya dicuci dengan *Phosphate Buffer Saline* (PBS) dengan pH 7,5 menggunakan *Eppendorf Multi Channel* dan *Shaker* selama 15 menit dengan kecepatan 500 rpm. Kemudian tambahkan 110 μ L suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* yang telah di *centrifuge* dan 90 μ L nanoemulsi gel daun pegagan (*Centella asiatica* L.) dalam masing-masing *well plate* dengan berbagai konsentrasi (75%, 50%, dan 25%) serta diberikan chlorhexidin sebagai kontrol positif sebanyak 500 μ L.

Inkubasi *wellplate* pada suhu 37°C selama 48 jam. Setelah diinkubasi, cuci *well plate* dengan aquadest steril. Kemudian dilakukan pewarnaan dengan 125 μ L *crystal violet* 1 % dan diinkubasi selama 15 menit dalam suhu ruang. Pewarna dicuci dengan aquadest steril dan dibiarkan kering pada suhu ruang. Setelah kering, 200 μ L etanol 96% ditambahkan ke *plate* dan diinkubasi 15 menit pada suhu ruang. Lakukan analisa hasil sampel dengan alat *microplate plate reader* (ELISA-reader) dengan panjang gelombang 540 nm (Arjuna *et al.*, 2018; Maghfirah *et al.*, 2017).

3.8 Kriteria Inklusi dan Kriteria Eksklusi

3.8.1 Kriteria Inklusi

- a. Koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang sudah dibiakkan
- b. Pengambilan saliva pada responden *volunteer* sesuai dengan kriteria

3.8.2 Kriteria Eksklusi

- a. Adanya pertumbuhan jamur atau kontaminasi lain pada media biakkan bakteri *Staphylococcus aureus* dan media *well plate*
- b. Pengambilan saliva pada responden *volunteer* yang memiliki riwayat penyakit sistemik dan sedang mengonsumsi antibiotik.

3.9 Tempat dan Waktu Penelitian

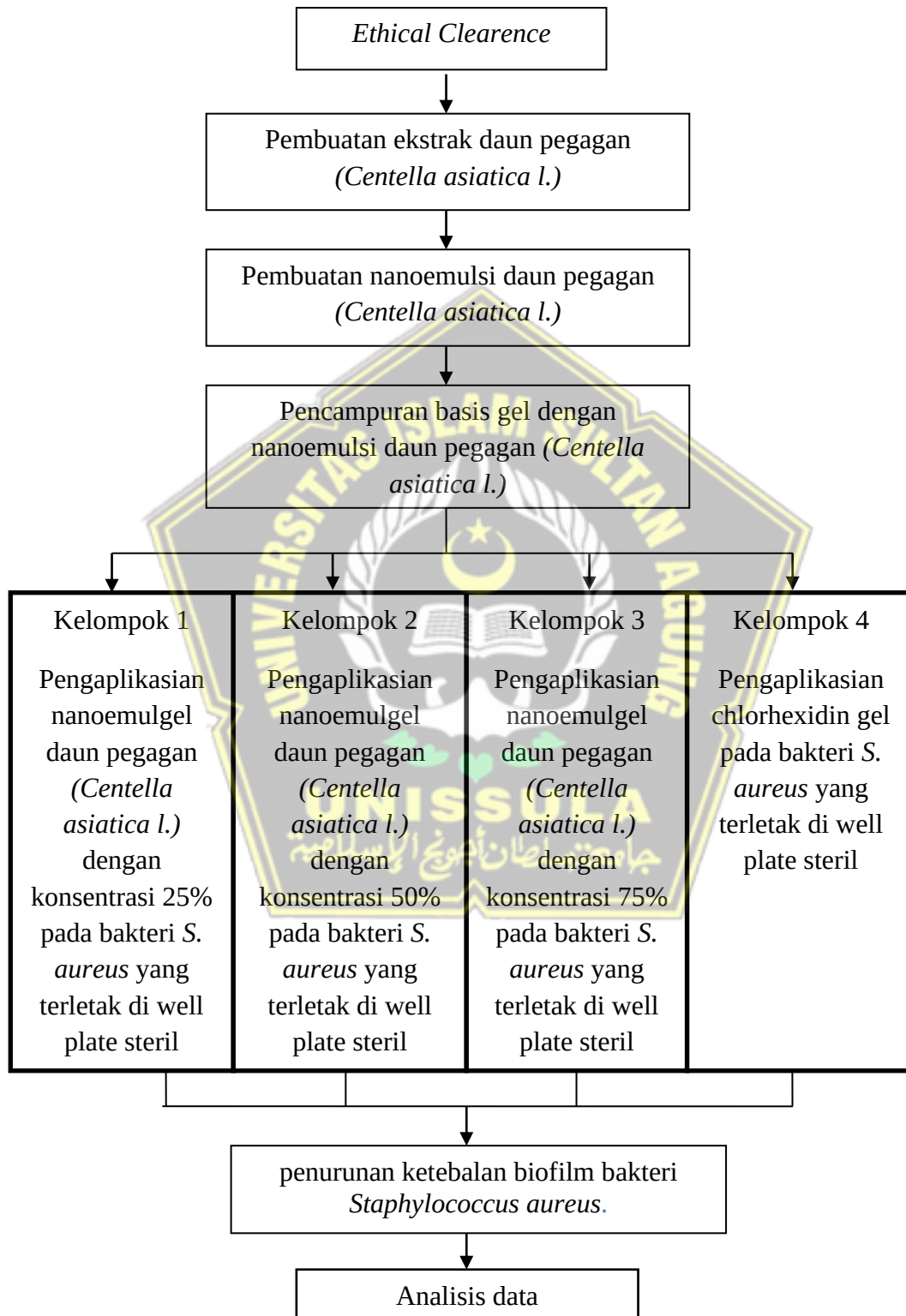
Penelitian ini dilakukan di UPT Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro untuk pembuatan formulasi Nanoemulsi gel daun pegagan. Penelitian selanjutnya dilakukan uji pertumbuhan biofilm dari bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Waktu yang dibutuhkan dalam penelitian ini yaitu kurang lebih 10 hari.

3.10 Analisis Hasil

Data hasil penelitian dilakukan uji normalitas dengan menggunakan uji *Saphiro-Wilk* untuk melihat sebaran distribusi data, selanjutnya dilakukan uji homogenitas dengan menggunakan *Levene Test* untuk melihat varian data. Apabila data berdistribusi normal dan mempunyai varians yang sama, dilakukan uji parametrik dengan *One way Anova* untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan efektivitas dari berbagai konsentrasi nanoemulsi gel daun pegagan (*Centella asiatica l.*) terhadap ketebalan biofilm. Apabila data tidak berdistribusi normal dilakukan uji *Kruskal-Wallis*.



3.11 Alur Penelitian



BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui perbandingan efektivitas nanoemulsi gel daun pegagan (*Centella asiatica l.*) dengan konsentrasi 25%, 50%, dan 75% terhadap ketebalan biofilm bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. Subjek dalam penelitian ini sebanyak 24 sampel yang terbagi dalam 4 kelompok yaitu 3 kelompok perlakuan dan 1 kelompok kontrol positif. Kemudian dalam kelompok tersebut dibagi menjadi 2 kelompok dengan perbandingan waktu inkubasi saliva 4 jam dan 8 jam. *Microplate* yang telah dilapisi saliva selama 4 jam dan 8 jam diinkubasi kemudian diberi kultur bakteri *Staphylococcus aureus*. Masing – masing *microplate* ditambahkan nanoemulsi daun pegagan berbagai konsentrasi dan *chlorhexidine gel* 0,2% sebagai kontrol positif selanjutnya diinkubasi selama 48 jam. Biofilm yang terbentuk kemudian dilakukan pewarnaan menggunakan larutan *crystal violet* 1% .Setelah dilakukan pewarnaan dilakukan analisis hasil pengukuran *optical density* menggunakan *ELISA - reader*.

Tabel 4. 1 Hasil Pembacaan Nilai *Optical Density* (OD)

Perlakuan	Inkubasi saliva (jam)	Formulasi 25%	Formulasi 50%	Formulasi 75%	Kontrol (+)
1	4	1.217	0.727	0.657	3.275
2	4	1.354	1.219	1.322	3.421
3	4	2.222	1.914	1.351	3.435
4	8	3.228	3.411	3.275	3.494
5	8	3.727	3.209	3.198	3.450
6	8	3.809	3.310	3.180	3.444
Rata – rata		2.593	2.298	2.164	3.420

Berdasarkan tabel 4.1 hasil pembacaan nilai dari *optical density* didapatkan nilai rerata kelompok nanoemulsi gel daun pegagan (*Centella asiatica l.*) konsentrasi 25% yaitu 2.593 (dalam 4 jam yaitu 1.598 dan 8 jam yaitu 3.588). Kelompok nanoemulsi gel daun pegagan (*Centella asiatica l.*) konsentrasi 50% yaitu 2.298 (dalam 4 jam yaitu 1.287 dan 8 jam yaitu 3.310). Kelompok nanoemulsi gel daun pegagan (*Centella asiatica l.*) konsentrasi 75% yaitu 2.164 (dalam 4 jam yaitu 1.110 dan 8 jam yaitu 3.218). Kelompok kontrol positif *chlorhexidine gluconate* 0,2% gel yaitu 3.420 (dalam 4 jam 3.377 yaitu dan 8 jam yaitu 3.463).

Tabel 4.2 Uji Normalitas dan Uji Homogenitas

Kelompok	N	Saphiro-Wilk	Levene
		Sig.	Sig.
Konsentrasi 25% (dalam 4 jam)	3	,901	,000
Konsentrasi 25% (dalam 8 jam)	3	,732	
Konsentrasi 50% (dalam 4 jam)	3	,834	
Konsentrasi 50% (dalam 8 jam)	3	,712	
Konsentrasi 75% (dalam 4 jam)	3	,148	

Konsentrasi 75% (dalam 8 jam)	3	,342
Kontrol Positif (dalam 4 jam)	3	,557
Kontrol Positif (dalam 8 jam)	3	,319

Berdasarkan hasil data yang didapatkan kemudian dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas. Uji normalitas menggunakan metode *Saphiro-Wilk* dan uji homogenitas menggunakan uji Levene. Hasil uji normalitas didapatkan semua kelompok data terdistribusi normal ($p>0,05$). Hasil uji homogenitas semua data di dapatkan data tidak homogen dengan $p=0,000$ ($p<0.05$).

Tabel 4.3 Rerata Nilai Standar Deviasi dan Uji Kruskal-Wallis

Kelompok	N	Mean	Std. Dev	Kruskal-Wallis (Sig.)
Konsentrasi 25% (dalam 4 jam)	3	2,255	,545	,110
Konsentrasi 25% (dalam 8 jam)	3	3,709	,110	
Konsentrasi 50% (dalam 4 jam)	3	1,584	,349	
Konsentrasi 50% (dalam 8 jam)	3	3,504	,010	
Konsentrasi 75% (dalam 4 jam)	3	1,229	,187	
Konsentrasi 75% (dalam 8 jam)	3	3,218	,050	
Kontrol Positif (dalam 4 jam)	3	3,469	,023	
Kontrol Positif (dalam 8 jam)	3	3,452	,042	

Berdasarkan hasil data tabel 4.3 didapatkan bahwa data berdistribusi normal dan tidak homogen, sehingga dilakukan uji non parametrik yaitu uji *Kruskal-Wallis* dengan nilai $p=0,110$ di mana nilai $p>0,05$ menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan ketebalan biofilm masing-masing kelompok penelitian.

4.2 Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui perbandingan efektivitas nanoemulsi gel daun pegagan (*Centella asiatica L.*) dengan konsentrasi 25%, konsentrasi 50%, dan konsentrasi 75%, serta kelompok kontrol positif dengan *chlorhexidine* 0,2% gel terhadap ketebalan biofilm bakteri *Staphylococcus aureus*. Penentuan konsentrasi dalam setiap kelompok penelitian, dilakukan dengan mengetahui toksisitas suatu ekstrak bahan sehingga tidak menimbulkan efek toksik dalam pemakaiannya. Daun pegagan memiliki toksisitas rendah berkisar antara 10g-15g. Sehingga dalam perbandingan massa ekstrak dengan basis gel diperlukan massa ekstrak <10g (Yadav *et al.*, 2019).

Nilai *optical density* (OD) menunjukkan ketebalan dari biofilm bakteri *Staphylococcus aureus* yang di mana dapat dilihat melalui intensitas warna dari sekitar dinding *microplate*. Apabila nilai OD menunjukkan nilai yang rendah, maka kelompok sampel tersebut dikatakan paling efektif dalam menurunkan ketebalan biofilm bakteri *Staphylococcus aureus* (Ulyah *et al.*, 2015). Selain itu pada permukaan dinding *microplate* akan terlihat warna lebih terang atau intensitas warna berkurang. Begitu sebaliknya, apabila nilai OD terlihat lebih tinggi maka kelompok sampel tersebut menunjukkan biofilm yang tebal. Perubahan intensitas warna yang ada di dinding *microplate* dipengaruhi saat pengecatan menggunakan *crystal violet* 1% yang di mana akan mewarnai sel bakteri maupun komponen

biofilm sehingga pengukuran dapat dilihat ketebalan atau massa biofilm (Arjuna *et al.*, 2018; Maghfirah *et al.*, 2017).

Hasil dari penelitian tersebut dapat menunjukkan rerata nilai *Optical Density* (OD) nanoemulsi gel daun pegagan (*Centella asiatica l.*) konsentrasi 25% (2.593), 50% (2.298), dan 75% (2.164) adalah nilai yang sangat minimal atau rendah. Hal tersebut dapat terlihat pengurangan intensitas warna biru dari setiap kenaikan konsentrasi nanoemulsi gel daun pegagan (*Centella asiatica l.*) terhadap ketebalan biofilm yang sudah dicuci menggunakan *crystal violet* 0.1% (Dewi, 2015).

Penelitian mengenai nanoemulsi gel daun pegagan (*Centella asiatica l.*) konsentrasi 75% memiliki nilai *optical density* (OD) yang rendah, yaitu 2.164 dan menunjukkan warna biru yang lebih terang dibandingkan dengan kelompok konsentrasi 25%, 50%, maupun kelompok kontrol positif. Sehingga, dapat disimpulkan bahwa kelompok penelitian nanoemulsi gel daun pegagan (*Centella asiatica l.*) konsentrasi 75% memiliki efek antibakteri terbesar dari kelompok konsentrasi penelitian yang lain (Arjuna *et al.*, 2018; Maghfirah *et al.*, 2017).

Penelitian sebelumnya mengenai ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica l.*) konsentrasi 12,5% sudah efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Formasi dari zona hambat dari pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* dipengaruhi oleh senyawa yang terkandung pada ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica l.*). Kemampuan agen anti bakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri tergantung dari konsentrasi ekstrak yang mengandung

senyawa antibakteri. Hal tersebut membuktikan bahwa semakin besar konsentrasi maka semakin besar zona hambat yang terbentuk dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* (Azzahra and Hayati, 2018; Khasanah *et al.*, 2019).

Daun pegagan (*Centella asiatica* L.) memiliki beberapa kandungan senyawa aktif yang bermanfaat dan baik bagi tubuh seperti triterpenoid, saponin, triterpenoid genin, minyak atsiri, flavonoid, fitosterol, dan kandungan senyawa aktif lainnya. Kandungan yang paling penting sebagai antibakteri yaitu triterpenoid, flavonoid dan saponin (Khasanah and Welkriana, 2019).

Senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman pegagan yaitu flavonoid. Pada perannya senyawa tersebut akan menghambat sintesis asam nukleat dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga menyebabkan rusaknya membran sel bakteri. Tak hanya itu flavonoid juga akan menghambat metabolisme energi pada bakteri dengan menghalangi bakteri menggunakan oksigen. Selain flavonoid ada juga saponin yang juga berperan sebagai antibakteri dengan cara meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan denaturasi protein membran maka seiring menurunnya permeabilitas, membran sel akan lisis dan rusak (Yusran *et al.*, 2016; Agfadila *et al.*, 2017).

Triterpenoid juga berperan penting sebagai antibakteri di mana senyawa tersebut akan bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada di luar dinding sel bakteri. Reaksi tersebut membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga

menyebabkan rusaknya porin tersebut. Porin merupakan tempat keluar masuknya senyawa yang akan menyebabkan berkurangnya permeabilitas dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan bakteri kekurangan nutrisi yang kemudian akan lisis (Agfadila *et al.*, 2017; Azzahra and Hayati, 2018).

Pembentukan plak terdapat lima tahapan yaitu *acquired pellicle*, adhesi inisial, kolonisasi awal, kolonisasi sekunder, dan maturasi plak. Diawali dengan adanya *acquired pellicle* yang melekat pada semua permukaan rongga mulut 3 menit setelah menyikat gigi. Bakteri yang ada di rongga mulut akan melekat ke permukaan gigi melalui adhesin yang ada di *acquired pellicle*. Kemudian dilanjutkan dengan kolonisasi primer yang didominasi oleh bakteri aerob dan bakteri fakultatif anaerob selama 4 – 8 jam yang akan memberikan reseptor baru bagi bakteri lain untuk berkolonisasi (Newman *et al.*, 2019).

Kolonisasi sekunder didominasi oleh bakteri gram negatif yang akan membentuk jembatan *coagregation*. Pada tahap terakhir yaitu maturasi plak, bakteri yang ada pada dental plak tetap melakukan metabolisme secara terus menerus yang berfungsi sebagai nutrisi primer. Apabila tahap tersebut berlanjut hingga tahap maturasi serta jumlah koloni bakteri semakin banyak, dan melekat pada permukaan gigi disertai adanya respon imun yang tidak adekuat untuk melawan bakteri penyebab plak gigi dalam jumlah besar, akan terjadi proses inflamasi yang mempengaruhi jaringan pendukung gigi yaitu jaringan periodontal (Berger *et al.*, 2018; Basavaraju *et al.*, 2016).

Hasil penelitian pada perbedaan waktu inkubasi saliva 4 jam dan 8 jam tiap kelompok dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada perubahan ketebalan biofilm antara inkubasi 4 jam dan 8 jam pada kelompok konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan kontrol positif. Pada fase 4 jam didapatkan nilai *optical density* yang lebih rendah yang dapat disebabkan terdapat pembentukan massa biofilm *Staphylococcus aureus* masih terbilang lemah sehingga perlekatan massa biofilm pada permukaan *well-plate* dapat lebih mudah dihambat dengan senyawa bioaktif antibakteri pada formulasi nanoemulsi gel daun pegagan sehingga dapat mudah berpenetrasi dalam matriks biofilm (Hanny et al, 2017).

Fase inkubasi saliva 8 jam menghasilkan nilai *optical density* yang lebih tinggi daripada fase 4 jam dikarenakan terdapat peningkatan jumlah pembentukan biofilm *Staphylococcus aureus* yang sudah melewati tahap maturasi plak sehingga kekuatan daya hambat pada senyawa antibakteri kurang dapat berpenetrasi ke dalam matriks biofilm (Otto, 2018). Nilai rerata *optical density* (OD) kontrol positif dengan *chlorhexidine gluconate* 0,2% gel didapatkan lebih tinggi yaitu 3.420 dibandingkan dengan kelompok konsentrasi nanoemulsi gel daun pegagan (*Centella asiatica l.*) 25%, 50%, dan 75%. Perbandingan kelompok konsentrasi nanoemulsi gel daun pegagan (*Centella asiatica l.*) dengan kelompok kontrol positif menggunakan *chlorhexidine gluconate* 0,2% gel menunjukkan bahwa nanoemulsi gel daun pegagan (*Centella asiatica l.*) berbagai konsentrasi efektif

menurunkan ketebalan biofilm bakteri *Staphylococcus aureus* dibandingkan dengan *chlorhexidine gluconate* 0,2% gel (Hagi *et al*, 2016).

Chlorhexidine merupakan salah satu *gold standard* dalam pencegahan akumulasi plak gigi yang mengandung zat anti bakteri. Hal tersebut dikarenakan, *chlorhexidine* memiliki efek bakteristatik dan efek bakterisidal terhadap semua jenis bakteri, baik bakteri gram positif (+) maupun bakteri gram negatif (-). Tetapi dalam penghambatan pertumbuhan bakteri, *chlorhexidine* lebih efektif terhadap bakteri gram positif (+) dibandingkan bakteri gram negatif (-) karena pengaruh perbedaan jenis dinding sel dari bakteri tersebut. Dalam hal ini, lipopolisakarida berperan penting dalam menghalangi zat anti bakteri yang bersifat *kationik* yang terkandung dalam *chlorhexidine* (Kusuma *et al.*, 2019).

Mekanisme kerja *chlorhexidine* dalam menghambat pertumbuhan bakteri di dalam rongga mulut tergantung dari jumlah konsentrasi yang digunakan. Bakteri memiliki besar muatan molekul negatif (anion), sedangkan pada molekul *chlorhexidine* memiliki muatan positif (kation). Hal tersebut memudahkan perlekatan yang kuat antara *chlorhexidine* dengan membran sel bakteri. Di dalam perlekatannya, *chlorhexidine* akan mengubah permeabilitas membran sel bakteri sehingga bakteri tersebut akan mengeluarkan sitoplasma. Hal tersebut akan menyebabkan lisisnya bakteri tersebut. Namun, penggunaan *chlorhexidine* dalam jangka waktu lama menimbulkan efek samping pada rongga mulut yaitu ulserasi mukosa rongga mulut, perubahan warna pada gigi, perubahan rasa kecap pada

lidah, mulut kering, dan perubahan keseimbangan flora normal rongga mulut sehingga diharapkan daun pegagan ini dapat menjadi alternatifnya (Rondhianto *et al.*, 2016; Panesa *et al.*, 2018).

Penelitian ini memiliki keterbatasan dalam pelaksanaannya, dalam pembuatan formulasi nanoemulsi gel daun pegagan membutuhkan waktu dan proses yang lama dikarenakan jumlah antrian penelitian banyak yang menyita waktu. Selain itu, dari formulasi sediaan nanoemulsi gel daun pegagan yang berbentuk emulsi kemudian dikombinasikan dengan gel mempengaruhi dari efektivitas antibakteri yang terkandung dalam ekstrak daun pegagan tersebut.

Hal tersebut mengakibatkan nilai *optical density* (OD) yang dihasilkan kurang maksimal karena terlalu pekatnya warna sampel penelitian akibat *crystal violet* 1%. Sehingga dalam pembacaan nilai OD perlu dilakukan pembilasan ulang *crystal violet* 1%. Maka perlu dilakukan modifikasi ulang mengenai formulasi sediaan nanoemulsi sehingga nantinya tidak akan mempengaruhi kestabilan fisik suatu sediaan.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Formulasi nanoemulsi gel daun pegagan (*Centella asiatica l.*) konsentrasi 25%, 50%, dan 75% efektif terhadap penurunan ketebalan biofilm bakteri *Staphylococcus aureus in vitro*.
2. Terdapat efek antibakteri formulasi nanoemulsi gel pegagan (*Centella asiatica l.*) 75% lebih besar daripada efek antibakteri *chlorhexidine gluconate* 0,2% gel yang dilihat dari hasil pengukuran *optical dencity* biofilm.
3. Tidak terdapat perbedaan yang signifikan perubahan ketebalan biofilm antara inkubasi 4 jam dan 8 jam pada kelompok perlakuan konsentrasi 25%, 50%, 75% formulasi nanoemulsi gel daun pegagan (*Centella asiatica l.*) dan *chlorhexidine gluconate* 0,2% gel.

5.2 Saran

Saran penulis berdasarkan penelitian yang telah dilakukan yaitu :

1. Perlu dilakukan pembilasan ulang apabila nilai *Optical Density (OD)* tidak muncul dalam pembacaan hasil.
2. Perlu dilakukan kembali penelitian lebih lanjut mengenai formulasi daun pegagan (*Centella asiatica l.*) dengan konsentrasi lain ataupun perubahan dari konsistensi formulasi tersebut terhadap uji ketebalan biofilm *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.
3. Perlu dilakukan kembali penelitian lebih lanjut mengenai nanoemulsi gel daun pegagan (*Centella asiatica l.*) terhadap biofilm *Staphylococcus aureus* secara *in vivo*.
4. Perlu dilakukan kembali penelitian lebih lanjut mengenai sediaan nanoemulsi gel supaya mendapatkan bentuk sediaan sifat yang lebih stabil dengan uji stabilitas fisik.

DAFTAR PUSTAKA

- Agfadila, T., Sandhi, P. A. and Puspawati, N. N. 2017. Kemampuan Daya Hambat Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 8739. *Jurnal ITEPA*. 6(2). 21–9.
- AlKahtani, R. N. 2018. The Implications and Applications of Nanotechnology in Dentistry: A Review. *Saudi Dental Journal*. King Saud University. 30(2). 107–116. doi: 10.1016/j.sdentj.2018.01.002.
- Arjuna, A. *et al.* 2018. Uji Pendahuluan Anti-Biofilm Ekstrak Teh Hijau dan Teh Hitam pada *Streptococcus mutans* melalui Metode Microtiter Plate. *Jurnal Farmasi Galenika*. 4(1). 44–49. doi: 10.22487/j24428744.2018.v4.i1.9965.
- Azzahra, F. and Hayati, M. 2018. Uji Aktivitas Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Jurnal B-Dent*. 5(1). 9–19. doi: 10.33854/jbd.v5i1.133.
- Basavaraju, M. *et al.* 2016. Quorum Quenching: Signal Jamming in Dental Plaque Biofilms. *Journal of Dental Sciences*. Elsevier Taiwan LLC. 11(4). 349–352. doi: 10.1016/j.jds.2016.02.002.
- Berger, D. *et al.* 2018. Oral Biofilms: Development, Control, and Analysis. *High-Throughput*. 7(24). 1–8. doi: 10.3390/ht7030024.
- Buzanello, E. B. *et al.* 2020. Nanoemulsions Containing Oil and Aqueous Extract of Green Coffee Beans with Antioxidant and Antimicrobial Activities. *Nano Express*. IOP Publishing. 1(1). 1–15. doi: 10.1088/2632-959x/ab9c47.
- Dewi, Z.Y. 2015. Efek antibakteri dan penghambatan biofilm ekstrak sereh (*Cymbopogon nardus* L.) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. *Maj Ked Gi Ind* 1(2). 136-141
- Gurpreet, K. and Singh, S. K. 2018. Review of Nanoemulsion Formulation and Characterization Techniques. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 80(5). 781–789.
- Hagi Ebony. 2016. ‘Bactericidal effects and mechanism of action of olanexidine gluconate, a new antiseptic’, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 59(8), pp. 4551–4559. doi: 10.1128/AAC.05048-14.
- Hanny Martha. 2017. ‘Potensi Hambat Permen Lunak Sirih dan Pinang Terhadap

- Pembentukan Biofilm *S. mutans*, pp. 150–158.
- Haryati, N. A., Saleh, C. and Erwin, E. 2015. Uji Toksisitas Dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Merah Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia Mulawarman*. 13(1). 35–40.
- Hassan, K. A. M. and Mujtaba, A. M. D. 2019. Antibacterial Efficacy of Garlic Oil Nano-Emulsion. *AIMS Agriculture and Food*. 4(1). 194–205. doi: 10.3934/AGRFOOD.2019.1.194.
- Holmstrup, P., Plemons, J. and Meyle, J. 2018. Non Plaque Induced Gingival Diseases. *Journal of Clinical Periodontology*. 45(Suppl 20). S28–S43. doi: 10.1111/jcpe.12938.
- Jamal, M. *et al.* 2015. Bacterial Biofilm: Its Composition, Formation and Role in Human Infections. *Research & Reviews: Journal of Microbiology and Biotechnology*. 4(3). 1–14. Available at: <http://www.rroj.com/open-access/bacterial-biofilm-its-composition-formation-and-role-in-human-infections.pdf>.
- Khasanah, H. R., Welkriana, P. W. and Krisyanella, K. 2019. Effectiveness Test Antimicrobial Infusion Gotu Kola Leaf Extract (*Centella asiatica*) on The Growth *Staphylococcus aureus*. *Advances in Health Sciences Research (AHSR)*. 14(Icihc 2018). 136–139. doi: 10.2991/icihc-18.2019.34.
- Khoiriyah, H. *et al.* 2018. Formulation of Nano Spray Gel Bonggol Pisang Kepok (*Musa balbisiana* colla). *Prosiding Annual Pharmacy Conference*. 3. 47–53.
- Kinane, D. F. 2019. Causation and Pathogenesis of Periodontal Disease. 25(February 2001). 8–20. doi: 10.1034/j.1600-0757.2001.22250102.x.
- Kusuma Yosi, Komang J. Putra Pinatih, Hendrayana M. A. 2019. Efek Sinergis Kombinasi Chlorhexidine dan Alkohol terhadap Daya Hambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. 8(3). 139–146.
- Levinson, W. 2014. *Review of Medical Microbiology and Immunology 13th Edition*. California: Mcgraw-Hill
- Lindhe, J. and Lang, N. P. 2015. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry Sixth Edition*. USA: Wiley Blackwell.
- Maghfirah, F., Saputri, D. and Basri. 2017. Aktivitas Pembentukan Biofilm *Streptococcus mutans* dan *Candida Albicans* Setelah Dipapar dengan Cigarette

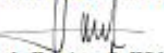
- Smoke Condensate dan Minuman Probiotik. *Journal Caninus Dentistry*. 2(1). 12–19.
- Mahyarudin, M. and Riza, H. 2017. Identifikasi Bakteri Endofit Daun Pegagan (*Centella asiatica*) berdasarkan Penanda Gen 16 S rRNA pada *Escherichia coli*. *Jurnal Kesehatan Khatulistiwa*. 3(1). 386–404.
- Marsh, P. D. and Zaura, E. 2017. Dental Biofilm: Ecological Interactions in Health and Disease. *Journal of Clinical Periodontology*. 44(Suppl. 18). S12–S22. doi: 10.1111/jcpe.12679.
- Murakami, S. *et al.* 2018. Dental Plaque Induced Gingival Conditions. *Journal of Clinical Periodontology*. 45(Suppl 20). S17–S27. doi: 10.1111/jcpe.12937.
- Narang, J. K. and Narang, R. S. 2017. Emerging Role of Nanoemulsions in Oral Health Management. *International Journal of Pharmaceutical Investigation*. 7(1). 1–3. doi: 10.4103/jphi.jphi_32_16.
- Nasution, M. Y. *et al.* 2018. Antimicrobial Activities of *Centella asiatica* Leaf and Root Extracts on Selected Pathogenic Micro-Organisms. *Journal of Medical Sciences*. 18(4). 198–204. doi: 10.3923/jms.2018.198.204.
- Newman, M. G. *et al.* 2019. *Clinical Periodontology Thirteen Edition*. 13th edn. Philadelphia: Elsevier.
- Ningsih, H. Y. and Agustin, T. P. 2019. Gambaran Ph Saliva pada Anak Usia 5-10 Tahun (Kajian pada Pasien Anak di Klinik Pedodontia Fkg Usakti). *Journal of Prosthetic Dentistry*. 1(1). 40–44. Available at: <https://www.trijurnal.lemlit.trisakti.ac.id/jkgt/article/view/5149>.
- Nurrosyidah, I. H., Hermawati, R. and Asri, M. 2019. Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan Gel Ekstrak Etanol Pegagan (*Centella asiatica* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara IN VITRO. *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika*. 2(1). 1–10. doi: 10.36932/j-pham.v2i1.8.
- Otto, M. 2018. ‘Staphylococcal Biofilms’, *Journal American Microbiological Spectrum*, 8(10), pp. 1–17. doi: 10.1128/microbiolspec.GPP3-0023-2018.Correspondence.
- Panesa, M. R., Saputera, D. and Budiarti, L. Y. 2018. Efektivitas Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Kersen Dibandingkan Klorheksidin Glukonat 0,2% Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kedokteran Gigi DENTIN*. 2(1). 79–84.

- Papapanou, P. N. *et al.* 2018. Periodontitis: Consensus Report of Workgroup 2 of The 2017 World Workshop on The Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of Clinical Periodontology*. 45(Suppl 20). S162–S170. doi: 10.1111/jcpe.12946.
- Park, J. H. *et al.* 2017. Anti-Inflammatory Effect of Titrated Extract of *Centella asiatica* in Phthalic Anhydride-Induced Allergic Dermatitis Animal Model. *International Journal of Molecular Sciences*. 18(4). 1–14. doi: 10.3390/ijms18040738.
- Pradhan, D. *et al.* 2017. Nanotechnology : Future of Dentistry. *International Journal of Oral Health and Medical Research*. 3(6). 134–136.
- Ramadhan, N. S., Rasyid, R. and Syamsir, E. 2015. Daya Hambat Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica*) yang Diambil di Batusangkar terhadap Pertumbuhan Kuman *Vibrio cholerae* secara In Vitro. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 4(1). 202–206. doi: 10.25077/jka.v4i1.222.
- Rondhianto, Wantiyah, and Putra, F. M. 2016. Penggunaan Chlorhexidine 0,2% dengan Povidone Iodine 1% Dekontaminasi Mulut terhadap Dekontaminasi Mulut Terhadap Kolonisasi *Staphylococcus aureus* pada Pasien Pasca Operasi Anestesi Umum. *NurseLine*. 1(1). 176–183. Available at: <http://publications.lib.chalmers.se/records/fulltext/245180/245180.pdf%0Ahttps://hdl.handle.net/20.500.12380/245180%0Ahttp://dx.doi.org/10.1016/j.jsames.2011.03.003%0Ahttps://doi.org/10.1016/j.gr.2017.08.001%0Ahttp://dx.doi.org/10.1016/j.precamres.2014.12.016>
- Samaranayake, L. 2012. *Essential Microbiology For Dentistry Fourth Edition*. St. Louis, Missouri: Elsevier.
- Seneviratne, C. J. and Suriyanarayanan, T. 2017. Microbiomics of Oral Biofilms: Driving The Future of Dental Research. *Scientific Dental Journal*. 1(1). 25. doi: 10.26912/sdj.v1i1.2089.
- Sheikh, T. *et al.* 2018. Nanogel : A Versatile Nano-Scopic Platform for Oral. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*. 7(9). 685–693. doi: 10.20959/wjpps20189-12364.
- Sistla, K. P. *et al.* 2018. Chronic Versus Aggressive Periodontitis - A Comprehensive Review from Parity to Disparity. *Journal of Advanced Clinical & Research*

- Insights*. 5(6). 183–187. doi: 10.15713/ins.jcri.240.
- Sutardi. 2016. Kandungan Bahan Aktif Tanaman Pegagan dan Khasiatnya untuk Meningkatkan Sistem Imun Tubuh. *Jurnal Litbang Pertanian*. 35(3). 121–130. doi: 10.21082/jp3.v35n3.2016.p121-130.
- Syah, I. S. K. 2013. Penentuan Tingkatan Jaminan Sterilitas pada Autoklaf dengan Indikator Biologi Spore Strip. *Farmaka*. 14(1). 59–69.
- Tonetti, M. S. *et al.* 2017. Impact of The Global Burden of Periodontal Diseases on Health, Nutrition and Wellbeing of Mankind: A Call for Global Action. *Journal of Clinical Periodontology*. 44(5). 456–462. doi: 10.1111/jcpe.12732.
- Ulyah *et al.* 2015. Uji Aktivitas Antibakteri dan Antibiofilm Minyak Atsiri Rimpang Bengle (*Zingiber purpureum* Roscoe) terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *e-Jurnal Pustaka Kesehatan*, vol. 3 (no. 2) 267-271
- Vasudevan, R. 2017. Dental Plaques: Microbial Community of The Oral Cavity. *Journal of Microbiology & Experimentation*. 4(1). 1–9. doi: 10.15406/jmen.2017.04.00100.
- Wang, Y. 2008. Portfolios: A New Peer Assessment Technology in Educational Context. *Proceedings - International Symposium on Information Processing. ISIP 2008 and International Pacific Workshop on Web Mining and Web-Based Application, WMWA 2008*. 1(2). 360–363. doi: 10.1109/ISIP.2008.139.
- Yadav, M. K. *et al.* 2019. In Vivo Toxicity Study of Ethanolic Extracts of *Evolvulus alsinoides* & *Centella asiatica* in Swiss Albino Mice. *Macedonian Journal of Medical Sciences*. 7(7). 1071–1076.
- Yusran, Y., Ilyas, A. and Saleh, H. A. 2016. Bioaktivitas Ekstrak Metanol Daun Pegagan (*Centella asiatica* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. *Al-Kimia*. 4(1). 54–61. doi: 10.24252/al-kimia.v4i1.1456.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Ethical Clearance

 KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG Sekretariat: Fakultas Kedokteran Gigi UNISSULA Jl. Raya Kaligawe Km.04 Semarang 50132 Telp. (024) 6903964, Fax 024-6904066	
KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK DESCRIPTION OF ETHICAL APPROVAL "ETHICAL APPROVAL" No. 241/BL1-KEPKSA-FKG/X/2020	
Protokol penelitian yang diusulkan oleh : <i>The research protocol proposed by</i>	
Peneliti utama <i>Principal In Investigator</i>	: BUNGA CLARISSA SOEGIHARTO
Pembimbing <i>Supervisor</i>	: 1. drg. Rosa Pratiwi, Sp. Perio 2. drg. Endang Senya Wardhana, MH.Kes
Nama Institusi <i>Name of the Institution</i>	: FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNISSULA
Tempat Penelitian <i>Research Place</i>	: 1. UPT LABORATORIUM TERPADU UNIVERSITAS DIPONEGORO 2. LABORATORIUM MICROBIOLOGI FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO 3. LABORATORIUM GIGI FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO
Dengan Judul <i>Title</i>	: EFEKTIVITAS NANOEMULSI GEL DAUN PEGAGAN (<i>Cassia auriculata</i> L.) KONSENTRASI 25%, 50% DAN 75% TERHADAP KETEBATAN BIOFILM BAKTERI <i>Staphylococcus aureus</i> (INVITRO) Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) Standar WHO 2011, yaitu: 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah, 3) Pemanfaatan Bobot dan Manfaat, 4) Risiko, 5) Bujukan / Eksploitasi, 6) Kerahasiaan dan Privacy, dan 7) Persetujuan Setelah Penjelasan, yang mengacu pada Pedoman CIOMS 2016. Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh terpenuhinya indikator setiap standar.
<i>Declared to be ethically appropriate in accordance to 7 (seven) WHO 2011 Standards : 1) Social Values, 2) Scientific Values, 3) Equitable Assessment and Benefits, 4) Risk, 5) Persuasion /</i>	
<i>Guidelines This is as indicated by the fulfillment of the indicators of each standard.</i>	
Pernyataan Laki Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 1 Oktober 2020 sampai dengan tanggal 1 Oktober 2021.	
<i>This declaration of ethics applies during the period October 1, 2020 until October 1, 2021.</i>	
Mengesahkan, Wakil Dekan I  Dr. drg. Yayun Siti Rochmah, Sp. BM NIK. 210100058	Semarang, 19 Oktober 2020 Ketua Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Gigi UNISSULA  Dr. Drg. Sandy Christiono, Sp.HGA NIK. 211010012

Lampiran 2. Hasil Analisis SPSS

Hasil Pembacaan Nilai *Optical Density*

Perlakuan	Inkubasi saliva (jam)	Formulasi	Formulasi	Formulasi	Kontrol (+)
		25%	50%	75%	
1	4	1.217	0.727	0.657	3.435
2	4	1.354	1.219	1.322	3.421
3	4	2.222	1.914	1.351	3.275
4	8	3.228	3.411	3.275	3.494
5	8	3.727	3.209	3.198	3.450
6	8	3.809	3.310	3.180	3.444
Rata – rata		2.593	2.298	2.164	3.420

Descriptives

		Statistic	Std. Error
konsentrasi 25% inkubasi 4 jam	Mean	2,25467	,314503
	95% Confidence Interval for Mean		
	Lower Bound	,90147	
	Upper Bound	3,60786	
	5% Trimmed Mean	.	
	Median	2,22200	
	Variance	,297	
	Std. Deviation	,544735	
	Minimum	1,727	
	Maximum	2,815	
	Range	1,088	
	Interquartile Range	.	

	Skewness		,269	1,225
	Kurtosis		.	.
konsentrasi 25% inkubasi 8	Mean		3,70933	,063262
jam	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	3,43714	
		Upper Bound	3,98153	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		3,72700	
	Variance		,012	
	Std. Deviation		,109573	
	Minimum		3,592	
	Maximum		3,809	
	Range		,217	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		-,707	1,225
	Kurtosis		.	.
konsentrasi 50% inkubasi 4	Mean		1,58400	,201391
jam	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	,71748	
		Upper Bound	2,45052	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		1,61900	
	Variance		,122	
	Std. Deviation		,348819	
	Minimum		1,219	
	Maximum		1,914	
	Range		,695	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		-,447	1,225
	Kurtosis		.	.
konsentrasi 50% inkubasi 8	Mean		3,50367	,005548
jam	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	3,47980	
		Upper Bound	3,52754	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		3,50200	
	Variance		,000	

	Std. Deviation		,009609	
	Minimum		3,495	
	Maximum		3,514	
	Range		,019	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		,757	1,225
	Kurtosis		.	.
konsentrasi 75% inkubasi 4	Mean		1,22867	,108158
jam	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	,76330	
		Upper Bound	1,69403	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		1,32200	
	Variance		,035	
	Std. Deviation		,187335	
	Minimum		1,013	
	Maximum		1,351	
	Range		,338	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		-1,685	1,225
	Kurtosis		.	.
konsentrasi 75% inkubasi 8	Mean		3,21767	,029134
jam	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	3,09231	
		Upper Bound	3,34302	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		3,19800	
	Variance		,003	
	Std. Deviation		,050461	
	Minimum		3,180	
	Maximum		3,275	
	Range		,095	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		1,487	1,225
	Kurtosis		.	.
kontrol positif inkubasi 4 jam	Mean		3,46900	,013051

	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	3,41285	
		Upper Bound	3,52515	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		3,46300	
	Variance		,001	
	Std. Deviation		,022605	
	Minimum		3,450	
	Maximum		3,494	
	Range		,044	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		1,110	1,225
	Kurtosis		.	.
kontrol positif inkubasi 8 jam	Mean		3,45200	,024338
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	3,34728	
		Upper Bound	3,55672	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		3,43500	
	Variance		,002	
	Std. Deviation		,042154	
	Minimum		3,421	
	Maximum		3,500	
	Range		,079	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		1,520	1,225
	Kurtosis		.	.

Uji Normalitas dengan *Saphiro-Wilk*

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
konsentrasi 25% inkubasi 4 jam	,191	3	.	,997	3	,901
konsentrasi 25% inkubasi 8 jam	,231	3	.	,981	3	,732
konsentrasi 50% inkubasi 4 jam	,207	3	.	,992	3	,834
konsentrasi 50% inkubasi 8 jam	,236	3	.	,977	3	,712
konsentrasi 75% inkubasi 4 jam	,358	3	.	,814	3	,148
konsentrasi 75% inkubasi 8 jam	,318	3	.	,886	3	,342
kontrol positif inkubasi 4 jam	,271	3	.	,947	3	,557
kontrol positif inkubasi 8 jam	,323	3	.	,878	3	,319

Tests of Normality							
	perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
ketebalan biofilm	konsentrasi 25%	,258	6	,200*	,883	6	,283
	konsentrasi 50%	,312	6	,069	,796	6	,054
	konsentrasi 75%	,309	6	,077	,764	6	,027
	kontrol positif	,188	6	,200*	,937	6	,633

Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variance

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
ketebalan biofilm	Based on Mean	25,950	3	20	,000
	Based on Median	17,407	3	20	,000
	Based on Median and with adjusted df	17,407	3	9,790	,000
	Based on trimmed mean	25,780	3	20	,000

Uji Kruskal-Wallis

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank
ketebalan biofilm	konsentrasi 25%	6	15,33
	konsentrasi 50%	6	12,17
	konsentrasi 75%	6	6,83
	kontrol positif	6	15,67
	Total	24	

Test Statistics^{a,b}

	ketebalan biofilm
Chi-Square	6,033
df	3
Asymp. Sig.	,110

Lampiran 3. Surat Izin Penelitian Lab Terpadu Nanobio Teknologi UNDIP



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
LABORATORIUM BIONANO TEKNOLOGI
 UPT Labotalutium Terpadu
 Jl. Prof Soedarto, Tembalang, Semarang, Jawa Tengah
 Telp: 087834961226

SURAT KETERANGAN IZIN PENELITIAN

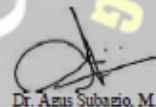
Yang bertanda tangan dibawah ini, menerangkan bahwa mahasiswa dengan :

Nama : Bunga Clarissa Soegiharto
 NIM : 31101700020
 Program Studi : Pendidikan Dokter Gigi
 Fakultas : Kedokteran Gigi
 Judul : EFEKTIVITAS NANOEMULSI GEL DAUN PEGAGAN (CENTELLA ASIATICA L.) TERHADAP PENURUNAN KETEBALAN BIOFILM BAKTERI STAPHYLOCOCCUS AUREUS (IN VITRO)

Bersama ini telah diberikan kesediaan untuk dapat melakukan penelitian di UPT Laboratorium Terpadu Bionano Teknologi UNDIP Semarang, dalam rangka penelitian untuk Karya Tulis Ilmiah (KTI) Mahasiswa S1.

Demikian surat ini dibuat agar dapat digunakan sebagaimana mestinya

Semarang, 15 Oktober 2020
 Kepala Lab Bionano Teknologi UNDIP Semarang


 Dr. Agus Subagio, M.Si

UNISSULA
 جامعة سلطان أبوبنح الإسلامية

Lampiran 4. Surat Izin Penelitian Lab Mikrobiologi FK UNDIP

Kepada
Yth. Kepala Laboratorium Mikrobiologi
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro
di tempat

Semarang, 1 September 2020

Assalamualaikum wr. wb

Dengan hormat,

Dalam rangka penelitian untuk Karya Tulis Ilmiah (KTI) Mahasiswa S1 Prodi Sarjana Kedokteran Gigi Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA) Semarang dengan ini saya sampaikan bahwa :

Nama : Bunga Clarissa Soegiharto

NIM : 31101700020

Judul : Efektivitas Nanoemulsi Gel Daun Pegagan (*Centella asiatica* L.) Konsentrasi 25%, 50%, dan 75% Terhadap Ketebalan Biofilm Bakteri *Staphylococcus Aureus* (*In Vitro*)

Bersama ini kami mohon kesediaannya untuk dapat memberi izin penelitian di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Demikian surat ini kami sampaikan, atas perhatian yang diberikan kami ucapkan terimakasih.

Wassalamualaikum wr.wb

Dosen Pembimbing I



drg. Rosa Pratiwi, Sp.Perio



Lampiran 5. Surat Selesai Penelitian Lab Terpadu Nanobio Teknologi UNDIP



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
LABORATORIUM BIONANO TEKNOLOGI
UPT Laboratorium Terpadu
Jl. Prof Soedarto, Tembalang, Semarang, Jawa Tengah
Telp : 087834961226

SURAT KETERANGAN MELAKSANAKAN PENELITIAN

Kepala Laboratorium Bionano Teknologi dengan ini menerangkan bahwa :

Nama : Bunga Clarissa Soegiharto
NIM : 31101700020
Program Studi : Pendidikan Dokter Gigi
Fakultas : Kedokteran Gigi
Instansi : Universitas Islam Sultan Agung

Dengan ini menerangkan bahwa yang tersebut di atas telah melakukan penelitian di Laboratorium Bionano Teknologi Universitas Diponegoro pada tanggal 13 Oktober – 13 November 2020, dengan judul “ **EFEKTIVITAS NANOEMULSI GEL DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica* L.) KONSENTRASI 25%, 50% DAN 75% TERHADAP KETEBALAN BIOFILM BAKTERI *Staphylococcus aureus* (IN VITRO)** “.

Demikian surat ini dibuat agar dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Semarang, 16 November 2020
Kepala Lab Bionano Teknologi
Universitas Diponegoro


Dr. Agus Subagio, M.Si

Lampiran 6. Surat Selesai Penelitian Lab Mikrobiologi FK UNDIP



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
FAKULTAS KEDOKTERAN
BAGIAN MIKROBIOLOGI

Jalan Prof. Sudarto, S.H.,
 Tembalang, Semarang 50275
 Tel. (024) 76928010 Faks. (024) 76928011
 www.fk.undip.ac.id | email: dean@fk.undip.ac.id

SURAT KETERANGAN

Nomor : 82/UN.7.5.4/Mikrobiologi/dok/11/2020

Yang bertanda tangan dibawah ini, menerangkan bahwa mahasiswa dengan :

Nama : Bunga Clarisa Soegiharto
 Nim : 31101700020
 Fakultas : Kedokteran Gigi
 Perguruan Tinggi : Universitas Islam Sultan Agung
 Judul Skripsi : Efektivitas Nanoemulsi Gel Daun Pegagan (*Centella asiatica* L.)
 Konsentrasi 25%, 50%, dan 75% Terhadap Ketebalan Biofilm Bakteri *Staphylococcus aureus*
 (*in Vitro*)

Telah melakukan penelitian di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro pada bulan November 2020 untuk digunakan dalam penelitian skripsi.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Semarang, 30 November 2020

Ketua

Bagian Mikrobiologi FK UNDIP

dr. Endang Sri Lestari, PhD
 NIP 19661016 199702 2001

Lampiran 7. Dokumentasi



Daun pegagan yang masih segar dan akan dikeringkan



Hasil Ekstraksi daun pegagan



A) Nanoemulsi Daun Pegagan,
B) Nanoemulsi gel daun pegagan



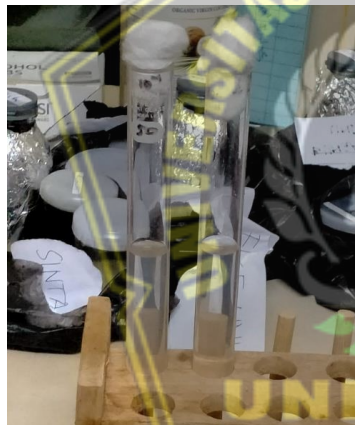
Saliva responden



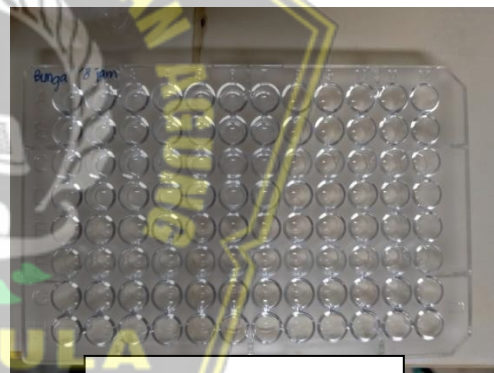
Pencampuran
bahan nanoemulsi



Pengadukan bahan
nanoemulsi dengan
alat Homogenizer



Suspensi bakteri
Staphyococcus aureus



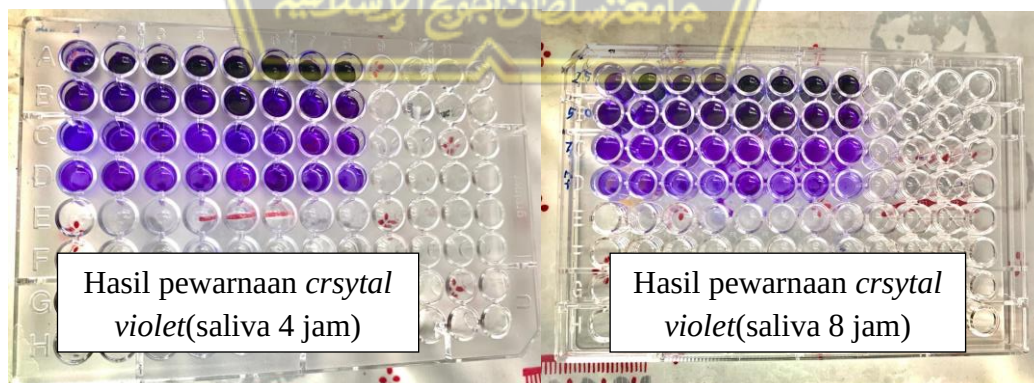
Inkubasi saliva setelah
4 jam

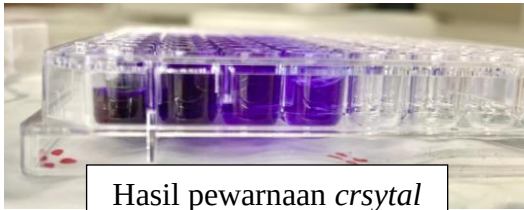


Inkubasi saliva setelah 8
jam

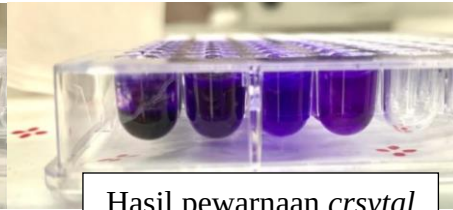


Pemberian Bakteri
S.Aureus + Nanoemulsi
daun pegagan





Hasil pewarnaan *crsytal*
violet(saliva 4 jam)



Hasil pewarnaan *crsytal*
violet(saliva 8 jam)





EFEKTIVITAS NANOEMULSI GEL DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica*)

I.) KONSENTRASI 25%, 50% DAN 75% TERHADAP KETEBALAN

BIOFILM BAKTERI *Staphylococcus aureus* (IN VITRO)

 Karya Tulis Ilmiah

Untuk memenuhi sebagian persyaratan

Mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi



Diajukan oleh

Bunga Clarissa Soegiharto

31101700020

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG

SEMARANG

جامعته سلطان السونج الإسلامية 2021

KTI Bunga Clarissa

ORIGINALITY REPORT

7 %	8 %	2 %	5 %
SIMILARITY INDEX	INTERNET SOURCES	PUBLICATIONS	STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	repository.unissula.ac.id Internet Source	2 %
2	www.scribd.com Internet Source	1 %
3	core.ac.uk Internet Source	1 %
4	repository.usd.ac.id Internet Source	1 %
5	jurnal.unbrah.ac.id Internet Source	1 %
6	jurnal.stikeswhs.ac.id Internet Source	1 %

Exclude quotes On

Exclude matches < 1%

Exclude bibliography On