



KARYA TULIS ILMIAH
EFEKTIVITAS NANOEMULSI GEL DAUN MAHKOTA DEWA (*Phaleria macrocarpa*) TERHADAP KETEBALAN BIOFILM BAKTERI *Staphylococcus aureus* (IN VITRO)

Diajukan oleh
Feny Nursyaputri
31101700033

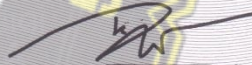
Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
Pada Tanggal 30 April 2021
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji


Ketua Tim Penguji


drg. Ade Ismail AK, MDSc, Sp.Perio

Anggota Tim Penguji I



drg. Rosa Pratiwi, Sp.Perio

Anggota Tim Penguji II


drg. Rochita Indraswary, M.Sc

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 di bawah ini :

Nama : Feny Nursyaputri

NIM : 31101700033

Dengan ini saya menyatakan bahwa Karya Tulis Ilmiah yang berjudul:

“Efektivitas Nanoemulsi Gel Daun Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) 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 dengan aturan yang berlaku.

Semarang, 30 April 2021



Feny Nursyaputri

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

MOTTO

“Sebutlah nama Rabbmu dan beribadahlah kepadanya dengan ketekunan”

(Q.S. Al-Muzzamil: 8)

“Berusaha dan berdoa adalah kunci untuk mencapai keberhasilan”

PERSEMBAHAN

Karya Tulis Ini Dipersembahkan Kepada

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Islam Sultan Agung

Dosen Pembimbing dan Penguji

Kedua Orang Tua, Adek, Saudara dan Sahabat

Teman-Teman FKG Unissula Angkatan 2017

Semua Pihak yang Membantu dalam Pembuatan Karya Tulis Ilmiah ini



PRAKATA

Bismillahirrahmanirrahim

Assalamu'alaikum Wr.Wb.

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

Penulis merasa bahwa karya tulis ilmiah dengan judul “**Efektivitas Nanoemulsi Gel Daun Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) Terhadap Ketebalan Biofilm Bakteri *Staphylococcus aureus* (In Vitro)**” ini tidak lepas dari bimbingan, bantuan dan dukungan dari berbagai pihak yang mengenal penulis. Penulis juga merasa bahwa dalam penyusunan karya tulis ilmiah ini masih terdapat banyak kekurangan dan penulis mengucapkan terimakasih kepada semua pihak atas segala bimbingan, bantuan, dukungan, dan kontribusi segala aspek yang telah diberikan secara ikhlas sehingga tugas karya tulis ilmiah penulis dapat terselesaikan. Sebagai rasa syukur dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih sebesar-besarnya kepada :

1. drg. Sryono, S.H., M.M., Ph.D selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. drg. Rosa Pratiwi, Sp.Perio selaku dosen pembimbing I yang telah membimbing, mengarahkan, serta meluangkan waktu dan pikiran untuk menyumbangkan gagasan dalam penyusunan karya tulis ilmiah dengan sabar dan penuh pengertian sehingga karya tulis ilmiah ini dapat terselesaikan. Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan berkah dan rahmat atas kesabaran dan ketulusan yang diberikan.
3. drg. Recita Indraswary., M.Sc selaku dosen pembimbing II yang telah membimbing, mengarahkan, serta meluangkan waktu dan pikiran untuk

menyumbangkan gagasan dalam penyusunan karya tulis ilmiah dengan sabar dan penuh pengertian sehingga karya tulis ilmiah ini dapat terselesaikan. Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan berkah dan rahmat atas kesabaran dan ketulusan yang diberikan.

4. drg. Ade Ismail AK, M.DSc., Sp.Perio selaku dosen penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji, mengarahkan, menasehati, memberi masukan, motivasi dan saran yang membangun dalam penulisan karya tulis ilmiah sehingga karya tulis ilmiah ini dapat terselesaikan. Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan berkah dan rahmat atas kesabaran dan ketulusan yang diberikan.
5. Seluruh dosen dan staf karyawan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Islam Sultan Agung Semarang yang membimbing, mendidik selama menuntut ilmu di dalam pendidikan sarjana kedokteran gigi.
6. Keluarga, saudara, dan sahabat penulis yang selalu mendoakan, membantu, dan mendukung dalam menyelesaikan karya tulis ilmiah ini.
7. Teman-teman sebimbing saya Bunga Clarrissa Soegiarto, Berliana Kusumawardani, Farah Syafira, dan Sinta Herningtiyas yang selalu mendukung dan memberi semangat, sebagai teman diskusi dan membantu dalam penelitian serta penyusunan karya tulis ilmiah ini.
8. Sahabat-sahabat saya Putri Dewanti, Endah Kusumaningrum, Galuh Eka Sasanti, Indah Setia Ningrum, Siska Muazizah, Cicik Safitri, Hilmi Maulina, Dinda Nur Jannati yang selalu membantu saya dan menjadi tempat bercerita, serta menjadi pendorong yang memberikan semangat dan penghibur dalam penulisan karya tulis ilmiah ini sampai terselesaikan.
9. Teman-teman Xalvadenta 2017 dan seluruh pihak yang ikut serta memberi bantuan semangat dan pengetahuan selama proses belajar, serta dalam menyelesaikan karya tulis ilmiah ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.
10. Seluruh member NCT yang selalu menemani dan menghibur, serta motivasi dalam menyelesaikan penyusunan karya tulis ilmiah ini.

Penulis menyadari bahwa karya tulis ilmiah ini jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, saran dan kritik yang membangun sangat diperlukan untuk penulis. Akhir kata, semoga karya tulis ilmiah ini bermanfaat di perkembangan ilmu pengetahuan dalam bidang kedokteran gigi. Semoga semua pihak yang membantu dapat balesan kebaikan, berkah, dan rahmat dari Allah SWT.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Semarang, 30 April 2021



Penulis

DAFTAR ISI

| | |
|--|-------|
| HALAMAN JUDUL..... | i |
| HALAMAN PENGESAHAN..... | ii |
| SURAT PERNYATAAN KEASLIAN..... | iii |
| SURAT PERNYATAAN PERSETUJUAN UNGGAH KARYA ILMIAH..... | iv |
| MOTTO DAN PERSEMBAHAN..... | v |
| PRAKATA..... | vi |
| DAFTAR ISI..... | ix |
| DAFTAR GAMBAR..... | xii |
| DAFTAR TABEL..... | xiii |
| DAFTAR LAMPIRAN..... | xiv |
| DAFTAR SINGKATAN..... | xv |
| ABSTRACT..... | xvi |
| ABSTRAK..... | xviii |
| BAB I PENDAHULUAN..... | 1 |
| 1.1 Latar Belakang..... | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah..... | 6 |
| 1.3 Tujuan Penelitian..... | 6 |
| 1.3.1 Tujuan Umum..... | 6 |
| 1.3.2 Tujuan Khusus..... | 6 |
| 1.4 Manfaat Penelitian..... | 6 |
| 1.5 Orisinalitas Penelitian..... | 7 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA..... | 9 |
| 2.1 Tinjauan Pustaka..... | 9 |
| 2.1.1 Plak..... | 9 |
| a. Definisi Plak..... | 9 |
| b. Komposisi Plak..... | 9 |
| c. Tahapan Pembentukan Plak..... | 10 |
| 2.1.2 Penyakit Periodontal..... | 14 |
| a. Definisi Penyakit Periodontal..... | 14 |
| b. Klasifikasi Penyakit Periodontal..... | 15 |
| c. Patogenesis Penyakit Periodontal..... | 22 |
| 2.1.3 Tanaman Mahkota Dewa (<i>Phaleria macrocarpa</i>)..... | 24 |
| a. Taksonomi..... | 26 |
| b. Khasiat Antibakteri Mahkota Dewa (<i>Phaleria macrocarpa</i>)..... | 26 |
| c. Penggunaan Mahkota Dewa (<i>Phaleria macrocarpa</i>) pada Bidang Kedokteran Gigi..... | 29 |
| 2.1.4 <i>Staphylococcus aureus</i> | 29 |
| a. Taksonomi..... | 30 |
| b. Anatomi Morfologi..... | 30 |
| c. Peranan <i>Staphylococcus aureus</i> pada Penyakit Periodontal..... | 30 |
| 2.1.5 Teknologi Nanoemulsi Gel..... | 31 |

| | | |
|---|---|-----------|
| a. | Definisi Nanoemulsi Gel..... | 31 |
| b. | Pemanfaatan Nanoemulsi Gel pada Bidang Kedokteran Gigi | 32 |
| 2.2 | Kerangka Teori..... | 33 |
| 2.3 | Kerangka Konsep | 34 |
| 2.4 | Hipotesis | 34 |
| BAB III METODE PENELITIAN..... | | 35 |
| 3.1 | Jenis Penelitian | 35 |
| 3.2 | Rancangan Penelitian | 35 |
| 3.3 | Variabel | 35 |
| 3.3.1 | Variabel Terikat | 35 |
| 3.3.2 | Variabel Bebas | 35 |
| 3.3.3 | Variabel Terkendali..... | 35 |
| 3.4 | Definisi Operasional..... | 36 |
| 3.5 | Sampel Penelitian..... | 36 |
| 3.5.1 | Sampel Bakteri..... | 36 |
| 3.5.2 | Bahan Uji | 38 |
| 3.5.3 | Besar Sampel..... | 38 |
| 3.6 | Alat dan Bahan Penelitian | 39 |
| 3.6.1 | Alat Penelitian..... | 39 |
| 3.6.2 | Bahan Penelitian..... | 39 |
| 3.7 | Prosedur Penelitian..... | 40 |
| 3.7.1 | <i>Ethical Clearance</i> | 40 |
| 3.7.2 | Sterilisasi Alat..... | 40 |
| 3.7.3 | Pengambilan Saliva dengan Metode <i>Spitting Out</i> | 40 |
| 3.7.4 | Pembuatan Ekstrak Daun Mahkota Dewa (<i>Phaleria macrocarpa</i>) | 41 |
| 3.7.5 | Pembuatan Nanoemulsi Daun Mahkota Dewa (<i>Phaleria macrocarpa</i>)..... | 42 |
| 3.7.6 | Pembuatan Nanoemulsi Gel Daun Mahkota Dewa (<i>Phaleria macrocarpa</i>)..... | 43 |
| 3.7.7 | Uji Kekebalan Biofilm dengan Metode <i>Microtiter Plate Biofilm Assay</i> | 43 |
| 3.8 | Kriteria Inklusi dan Kriteria Eksklusi | 44 |
| 3.8.1 | Kriteria Inklusi | 44 |
| 3.8.2 | Kriteria Eksklusi..... | 45 |
| 3.9 | Tempat dan Waktu Penelitian | 45 |
| 3.9.1 | Tempat Penelitian..... | 45 |
| 3.9.2 | Waktu Penelitian | 45 |
| 3.10 | Analisis Hasil | 45 |
| 3.11 | Alur Penelitian..... | 47 |
| BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN | | 48 |
| 4.1 | Hasil Penelitian..... | 48 |
| 4.2 | Pembahasan | 50 |
| BAB V KESIMPULAN DAN SARAN..... | | 59 |
| 5.1 | Kesimpulan..... | 59 |

| | |
|----------------------|----|
| 5.2 Saran..... | 59 |
| DAFTAR PUSTAKA | 61 |
| LAMPIRAN..... | 69 |



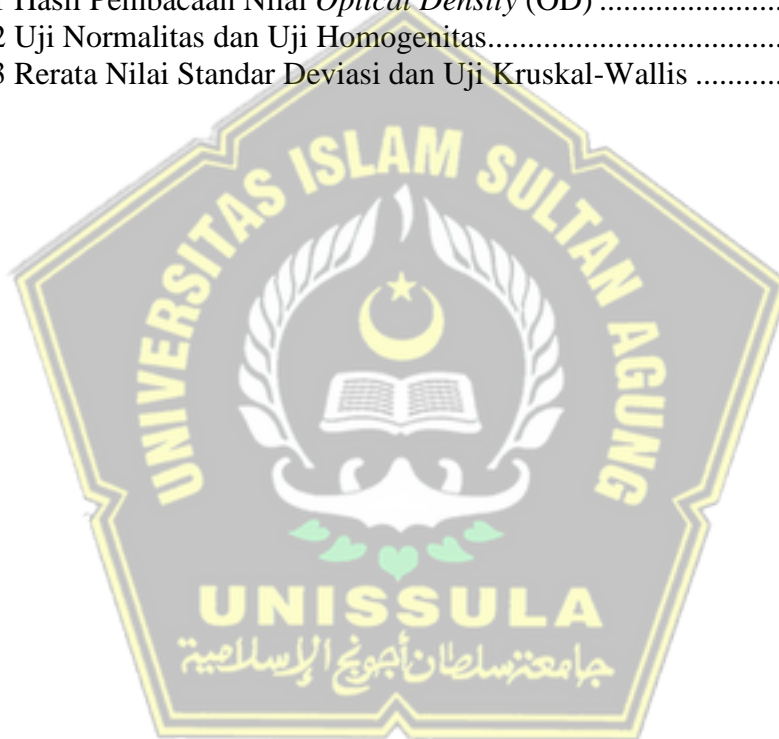
DAFTAR GAMBAR

| | |
|--|----|
| Gambar 2.1 Representasi Diagram Pembentukan Plak..... | 13 |
| Gambar 2.2 Skilus Tahapan Pembentukan Plak | 14 |
| Gambar 2.3 Inflamasi pada Margin Gingiva dan Papilla Interdental | 17 |
| Gambar 2.4 Manifestasi Gingival Kondisi Sistemik | 18 |
| Gambar 2.5 Periodontitis Kronis Terkait Tingkat Keparahan dari CEJ | 20 |
| Gambar 2.6 Periodontitis Agresif Lokal | 22 |
| Gambar 2.7 Lokasi Plak..... | 23 |
| Gambar 2.8 Tanaman Mahkota Dewa (<i>Phaleria macrocarpa</i>) | 25 |
| Gambar 2.9 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> | 29 |
| Gambar 2.10 Kerangka Teori..... | 33 |
| Gambar 2.11 Kerangka Konsep..... | 34 |
| Gambar 3.1 Alur Penelitian..... | 47 |



DAFTAR TABEL

| | |
|---|----|
| Tabel 1.1 Orisinalitas Penelitian | 7 |
| Tabel 2.1 Komposisi Kimia Plak | 10 |
| Tabel 2.2 Daftar Spesies Bakteri Pembentuk Plak..... | 11 |
| Tabel 2.3 Klasifikasi Penyakit Periodontal dan Peri-Implant..... | 15 |
| Tabel 3.1 Definisi Operasional | 36 |
| Tabel 3.2 Alat Penelitian..... | 39 |
| Tabel 3.3 Bahan Penelitian | 39 |
| Tabel 3.4 Optimalisasi Ekstrak Daun Mahkota Dewa dengan Formula Gel | 43 |
| Tabel 4.1 Hasil Pembacaan Nilai <i>Optical Density</i> (OD) | 48 |
| Tabel 4.2 Uji Normalitas dan Uji Homogenitas..... | 49 |
| Tabel 4.3 Rerata Nilai Standar Deviasi dan Uji Kruskal-Wallis | 50 |



DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|--|----|
| Lampiran 1 <i>Ethical Clearance</i> | 69 |
| Lampiran 2 Hasil Analisis SPSS | 70 |
| Lampiran 3 Surat Izin Penelitian..... | 79 |
| Lampiran 4 Surat Selesai Penelitian..... | 80 |
| Lampiran 5 Dokumentasi Penelitian | 82 |



DAFTAR SINGKATAN

| | |
|---------------|--|
| CEJ | : <i>Cemento Enamel Junction</i> |
| DM | : Diabetes Mellitus |
| DMSO | : Dimetil Sulfoksida |
| DNA | : <i>Deoxyribonucleic acid</i> |
| EPS | : <i>Ekstracelullar polysaccharide substances</i> |
| HIV | : <i>Human Immunodeficiency Virus</i> |
| IL | : <i>Interleukin</i> |
| KBM | : Kadar Bunuh Minimal |
| KHM | : Kadar Hambat Minimal |
| LPS | : Lipopolisakarida |
| MMPs | : <i>Matrix metalloproteinase</i> |
| MRSA | : <i>Methicillin Resistant Staphylococcus aureus</i> |
| PGE2 | : <i>Prostglandin E2</i> |
| PMN | : <i>Polymorphonuclear neutrophils</i> |
| RISKESDAS | : Riset Kesehatan Dasar Nasional |
| RNA | : <i>Ribonucleic acid</i> |
| TGF- β | : <i>Transforming Growth Factor – β</i> |
| TNF- α | : <i>Tumor Necrosis Factor – α</i> |
| OD | : <i>Optical Density</i> |

ABSTRACT

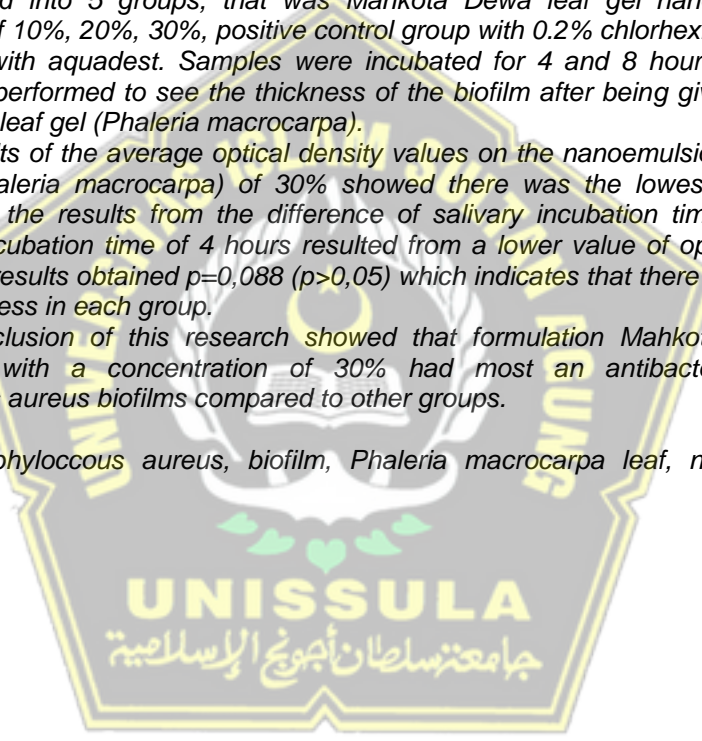
Periodontal disease is a disease that often occurs in the oral cavity with a prevalence of 75,6-78,3% at vulnerable age between 35-44. One of the etiology of periodontal disease is the accumulation of *Staphylococcus aureus* bacteria biofilm in the initial colonization of the formation of dental pellicles. Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) is a traditional plantation that has antibacterial properties that can be utilized in the health area. Nanoemulsion gel technology has the advantage to increase material stability. The aim of this study is to determine the ratio of the effectiveness of nanoemulsion gel of Mahkota Dewa leaf (*Phaleria macrocarpa*) with a concentration of 10%, 20%, 30% to reduce biofilm thickness of *Staphylococcus aureus* bacteria in vitro.

The research method used in this research is experimental in vitro laboratory, 30 samples divided into 5 groups, that was Mahkota Dewa leaf gel nanoemulsion with a concentration of 10%, 20%, 30%, positive control group with 0.2% chlorhexidine gel, negative control group with aquadest. Samples were incubated for 4 and 8 hours. Optical density readings were performed to see the thickness of the biofilm after being given nanoemulsion Mahkota Dewa leaf gel (*Phaleria macrocarpa*).

The results of the average optical density values on the nanoemulsion gel of Mahkota Dewa leaf (*Phaleria macrocarpa*) of 30% showed there was the lowest value of optical density. Then the results from the difference of salivary incubation time 4 and 8 hours showed that incubation time of 4 hours resulted from a lower value of optical density. The Kruskal-Wallis results obtained $p=0,088$ ($p>0,05$) which indicates that there was no difference in biofilm thickness in each group.

The conclusion of this research showed that formulation Mahkota Dewa leaf gel nanoemulsion with a concentration of 30% had most an antibacterial in reducing *Staphylococcus aureus* biofilms compared to other groups.

Keyword: *Staphylococcus aureus*, biofilm, *Phaleria macrocarpa* leaf, nanoemulsion gel, optical density



ABSTRAK

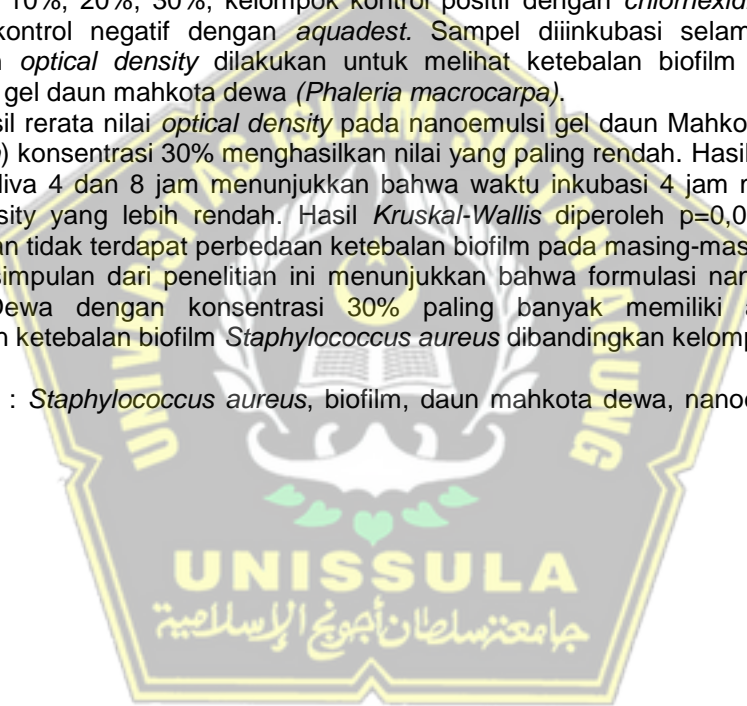
Penyakit periodontal merupakan penyakit yang sering terjadi pada rongga mulut dengan prevalensi sebesar 75,6-78,3% pada rentan usia 35-44. Salah satu penyebab penyakit periodontal adalah penumpukan biofilm bakteri *Staphylococcus aureus* pada kolonisasi awal pembentukan pelikel gigi. Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) merupakan tanaman tradisional yang memiliki kandungan antibakteri yang dapat dimanfaatkan dalam bidang kesehatan. Teknologi nanoemulsi gel memiliki keunggulan untuk meningkatkan stabilitas bahan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui rasio efektifitas nanoemulsi gel daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dengan konsentrasi 10%, 20%, 30% terhadap penurunan ketebalan biofilm bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.

Metode penelitian menggunakan eksperimen laboratorium *In vitro*, 30 sampel dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu nanoemulsi gel daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) konsentrasi 10%, 20%, 30%, kelompok kontrol positif dengan *chlorhexidine gel* 0,2%, dan kelompok kontrol negatif dengan *aquadest*. Sampel diinkubasi selama 4 dan 8 jam. Pembacaan *optical density* dilakukan untuk melihat ketebalan biofilm setelah diberikan nanoemulsi gel daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*).

Hasil rerata nilai *optical density* pada nanoemulsi gel daun Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) konsentrasi 30% menghasilkan nilai yang paling rendah. Hasil perbedaan waktu inkubasi saliva 4 dan 8 jam menunjukkan bahwa waktu inkubasi 4 jam menghasilkan nilai *optical density* yang lebih rendah. Hasil *Kruskal-Wallis* diperoleh $p=0,088$ ($p>0,05$) yang menunjukkan tidak terdapat perbedaan ketebalan biofilm pada masing-masing kelompok.

Kesimpulan dari penelitian ini menunjukkan bahwa formulasi nanoemulsi gel daun Mahkota Dewa dengan konsentrasi 30% paling banyak memiliki antibakteri dalam menurunkan ketebalan biofilm *Staphylococcus aureus* dibandingkan kelompok lain.

Kata kunci : *Staphylococcus aureus*, biofilm, daun mahkota dewa, nanoemulsi gel, *optical density*



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit periodontal merupakan infeksi yang terjadi di rongga mulut yang menyebabkan kerusakan pada jaringan periodontal. Penyakit periodontal sering ditemukan pada pasien dengan keadaan kebersihan rongga mulut yang buruk sehingga memicu interaksi bakteri di dalam rongga mulut dengan sel imun tubuh (Newman *et al.*, 2019). Infeksi menyerang jaringan gigi mulai dari gingiva, ligamen periodontal, dan destruksi tulang alveolar yang lama-kelamaan menyebabkan goyangnya gigi. Goyangannya gigi dari soket disebabkan hilangnya perlekatan penyangga gigi yang apabila dibiarkan dapat mengakibatkan gigi tanggal dan mengganggu kesehatan rongga mulut (Lamster and Pagan, 2017).

Penyakit periodontal berada di urutan pertama sebagai penyakit yang sering terjadi di rongga mulut dan tercatat di dalam buku rekor dunia pada tahun 2001. Prevalensi penyakit periodontitis berat di dunia diderita oleh sekitar 743 juta jiwa atau sebesar $\pm 57,3\%$ (Tonetti *et al.*, 2017). Menurut hasil RISKESDAS tahun 2018 di Indonesia penyakit periodontal banyak terjadi pada rentang usia 35-44 tahun, yaitu sebesar 75,6-78,3% (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2018).

Penyakit periodontal yang sering dijumpai adalah gingivitis dan periodontitis (Tyas *et al.*, 2016). Gingivitis digambarkan dengan gingiva

berwarna merah kebiruan yang mengalami pembesaran karena edema (Kinane, 2019). Gingivitis juga sering ditandai dengan mudah berdarah jika terdapat stimulasi seperti menyikat gigi (Tonetti *et al.*, 2017). Gingivitis yang tidak segera ditangani akan berlanjut menjadi periodontitis (Lamster and Pagan, 2017). Periodontitis merupakan peradangan pada jaringan pendukung gigi yang disebabkan mikroorganisme yang akan menyebabkan destruksi tulang alveolar dan ligamen periodontal. Penyakit periodontal dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti faktor lokal, sistemik, dan lingkungan. Salah satu faktor pemicu terjadinya penyakit periodontal adalah faktor lokal yaitu akumulasi plak (Kinane, 2019).

Plak merupakan faktor utama penyebab terjadinya penyakit yang lebih parah seperti periodontitis (Rezki and Pawarti, 2014). Proses terbentuknya plak ada 3 tahapan, yaitu kolonisasi awal dengan pembentukan dental pelikel, kolonisasi sekunder, dan maturasi plak. Plak diawali dengan terbentuknya lapisan tipis yang merupakan kontaminasi selapis biofilm dari saliva (glikoprotein saliva) pada permukaan jaringan dengan flora normal rongga mulut, serta debris makanan yang melekat pada permukaan gigi. Perlekatan bakteri (*Staphylococcus aureus*) ke dental pelikel karena adanya adesi yang memicu kolonisasi awal membentuk EPS. Kolonisasi awal bakteri akan mensintesiskan EPS untuk adesi bakteri lain membentuk kolonisasi sekunder (Homenta, 2016).

Dental plak berkembang dan mencapai supragingiva (bakteri gram (+)) dan subgingiva (bakteri gram (-)) akan termineralisasi yang mengalami

pengapuran massa menjadi kalkulus. Apabila kalkulus tidak dibersihkan dan dibiarkan dengan kurun waktu yang lama akan menyebabkan penyakit periodontal (Lesouhaitier *et al.*, 2019).

Indonesia merupakan negara yang kaya akan tanaman obat-obatan yang berpotensi untuk dikembangkan dan dimanfaatkan secara optimal dalam bidang kesehatan. Tanaman tradisional lebih efektif untuk menangani masalah kesehatan karena mikroba kebanyakan resisten terhadap obat antibiotika yang tersedia. Selain itu, harganya lebih terjangkau dan efek sampingnya lebih minimal (Fajri *et al.*, 2016).

Dalam kitab suci Al-Qur'an, Allah SWT telah menjelaskan mengenai tanaman yang dapat dimanfaatkan dan digunakan untuk menyembuhkan penyakit, sebagai berikut (Pribadi *et al.*, 2019):

يُنْبِتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالتَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنَ كُلِّ الثَّمَرَاتِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ﴿١١﴾
 جامعنا سلطان أبو نوح الإسلامية

Artinya :

“Dengan (air hujan) itu Dia menumbuhkan untuk kamu tanaman-tanaman, zaitun, kurma, anggur, dan segala macam buah-buahan. Sungguh, pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang berpikir” (QS. An Nahl: 11).

Salah satu tanaman tradisional yang dapat dikembangkan dan dimanfaatkan dalam bidang kesehatan adalah mahkota dewa. Mahkota dewa

merupakan tanaman tradisional yang digunakan untuk pencegahan dan penyembuhan penyakit. Daun mahkota dewa mengandung senyawa kimia seperti flavonoid, tanin, alkaloid, triterpenoid, saponin, dan polifenol. Kandungan flavonoid, tanin, alkaloid, triterpenoid, saponin, dan polifenol memiliki sifat analgesik, antihistamin, antiinflamasi, antioksidan, dan antibakteri, serta aktivitas sitokin yang dapat menghambat proses pertumbuhan *Staphylococcus aureus* (Afnizar *et al.*, 2016; Novaryatiin *et al.*, 2018; Hestiyani & Handini, 2019).

Penelitian terdahulu menunjukkan kemampuan daun mahkota dewa sebagai antibakteri pada bakteri *Staphylococcus aureus* telah dilakukan dengan menggunakan konsentrasi sebesar 4%, 8%, 12%, 16%, dan kloramfenikol sebagai kontrol (+), serta *aquades* sebagai kontrol (-). Pada penelitian tersebut menunjukkan ekstrak daun mahkota dewa pada konsentrasi 4%, 8%, 12%, 16% dan kontrol (-) *aquades* mempunyai daya antibakteri lebih rendah dibandingkan kontrol (+) kloramfenikol (Afnizar *et al.*, 2016).

Penelitian sebelumnya menunjukkan ekstrak etanol daun mahkota dewa dengan menggunakan konsentrasi sebesar 10%, 20%, 30%, 40%, *vancomysin* sebagai kontrol (+) dan *aquades* sebagai kontrol (-) telah diujikan memiliki potensi aktivitas antibakteri pada bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Pada penelitian tersebut menunjukkan ekstrak etanol daun mahkota dewa pada konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40% dan kontrol (-) *aquades* mempunyai daya antibakteri lebih rendah dibandingkan kontrol (+) *vancomysin*. Pada penelitian menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi maka semakin

besar juga daya hambat terhadap bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) (Hestiyani and Handini, 2019).

Penelitian-penelitian yang sudah ada didapatkan bukti bahwa daun mahkota dewa lebih efektif dalam menghambat bakteri gram positif, seperti *Staphylococcus aureus* dibandingkan dengan bakteri gram negatif. Hal ini disebabkan dari komponen penyusun membran sel bakteri gram positif dan bakteri gram negatif yang berbeda. Membran sel bakteri gram positif terdiri atas peptidoglikan sebanyak 50% dan tidak mengandung *lipopolysaccharides*, sedangkan bakteri gram negatif terdiri dari peptidoglikan sebanyak 2-10% dan *lipopolysaccharides* (Radita and Widyarman, 2019).

Kemajuan ilmu pengetahuan dan juga teknologi seiring berkembangnya zaman memperkenalkan tentang stabilisasi sistem terdispersi dan produksi dalam bentuk nanoemulsi gel. Nanoemulsi gel secara efektif digunakan untuk meningkatkan stabilitas bahan aktif dan ketersediaan hayati (Eid *et al.*, 2014). Nanoemulsi gel merupakan penghantar bersifat hidrofobik yang berukuran droplet 1-100 nm yang terdiri dari sistem dispersi koloid yang dicampurkan dengan basis gel (Sharma *et al.*, 2016; Imanto *et al.*, 2019). Penelitian-penelitian sebelumnya belum menggunakan sediaan ekstrak mahkota dewa dalam bentuk nanoemulsi gel.

Berdasarkan uraian di atas peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai efektivitas nanoemulsi gel daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap ketebalan biofilm bakteri *Staphylococcus aureus*.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah nanoemulsi gel daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) efektif terhadap ketebalan biofilm bakteri *Staphylococcus aureus*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas nanoemulsi gel daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap ketebalan biofilm bakteri *Staphylococcus aureus*.

1.3.2 Tujuan Khusus

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi nanoemulsi gel daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) yang efektif terhadap ketebalan biofilm bakteri *Staphylococcus aureus*.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Menambah ilmu pengetahuan tentang efektivitas nanoemulsi gel daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) sebagai bahan preventif dan terapi untuk penyakit periodontal.
2. Sebagai bahan rujukan atau referensi untuk penelitian selanjutnya.

1.5 Orisinalitas Penelitian

Penelitian sebelumnya yang menjadi acuan untuk penelitian ini, yaitu:

Tabel 1.1 Orisinalitas Penelitian

| Peneliti | Judul Peneliti | Perbedaan |
|--|---|--|
| (Ibrahim and Rusli, 2010) | Potensi Antibakteri Ekstrak Diethyl Ether Daun Mahkota Dewa (<i>Phaleria macrocarpa</i> (Scheff.) Boerl) Terhadap Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> | Pada penelitian ini meneliti pengujian ekstrak diethyl ether daun mahkota dewa sebagai antibakteri terhadap bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> dengan konsentrasi sebesar 0,00039%, 0,00156%, 0,0063%, 0,025%, 0,1%, 0,4%, 1,65%, dan 6,4% dengan kloramfenikol sebagai kontrol (+) dan DMSO sebagai kontrol (-) |
| (Roekistiningsih <i>et al.</i> , 2013) | Efek Ekstrak Daun Mahkota Dewa (<i>Phaleria macrocarpa</i>) Sebagai Penghambat Pembentukan Biofilm pada <i>Streptococcus mutans</i> secara <i>In Vitro</i> | Pada penelitian ini meneliti pengujian ekstrak daun mahkota dewa sebagai antibakteri terhadap bakteri <i>Streptococcus mutans</i> secara <i>In Vitro</i> dengan konsentrasi terendah 0,0009%. |
| (Afnizar <i>et al.</i> , 2016) | Uji Aktivitas Anti Bakteri Ekstrak Daun Mahkota Dewa (<i>Phaleria macrocarpa</i>) Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> | Pada penelitian ini meneliti pengujian ekstrak daun mahkota dewa (<i>Phaleria macrocarpa</i>) terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dengan konsentrasi sebesar 4%, 8%, 12%, 16%, kloramfenikol sebagai kontrol (+) dan <i>aquades</i> sebagai kontrol (-). |
| (Novaryatiin <i>et al.</i> , 2018) | Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Mahkota Dewa (<i>Phaleria macrocarpa</i> Boerl.) Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> | Pada penelitian ini meneliti pengujian ekstrak etanol daun mahkota dewa terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dengan konsentrasi sebesar 1%, 5%, 10%, 15%, dan tetrasiklin sebagai kontrol (+) dengan variasi konsentrasi 1%, 5%, 10%, dan 15%. |

| | | |
|---------------------------|--|---|
| (Hestiyani Handini, 2019) | and Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Mahkota Dewa Terhadap Bakteri <i>Methicillin Resistant Staphylococcus aureus</i> (MRSA) | Pada penelitian ini meneliti pengujian ekstrak daun mahkota dewa (<i>Phaleria macrocarpa</i>) terhadap bakteri <i>Methicillin Resistant Staphylococcus aureus</i> (MRSA) dengan konsentrasi sebesar 10%, 20%, 30%, 40%, <i>vancomycin</i> sebagai kontrol (+) dan <i>aquades</i> sebagai kontrol (-). |
|---------------------------|--|---|

Berdasarkan penelitian yang sudah ada, perbedaan penelitian ini dengan sebelumnya yaitu efektivitas sediaan nanoemulsi gel daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap ketebalan biofilm bakteri *Staphylococcus aureus*.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Pustaka

2.1.1 Plak

a. Definisi Plak

Plak merupakan lapisan tipis protein biofilm dari saliva (glikoprotein saliva) dan hasil agregasi mikroorganisme yang terorganisir dan terstruktur yang saling melekat satu sama lain pada seluruh permukaan gigi di dalam rongga mulut yang diselubungi oleh EPS. Lapisan plak akan semakin bertambah ketebalannya seiring bertambah banyaknya perkembangbiakan dari bakteri dan hasil metabolisme bakteri yang menyebabkan lingkungan di dalam plak berubah menjadi anaerob. Lokasi perkembangan plak biasanya terjadi di bagian supragingiva dan subgingiva (Newman *et al.*, 2019).

b. Komposisi Plak

Plak memiliki komposisi yang menghasilkan EPS. Matriks EPS memiliki ketebalan biasanya 0.2–1.0 mm, dengan ukuran plak yang tidak melebihi 10-30 nm. Volume plak 5-35% dibentuk oleh mikroorganisme dan sisanya dibentuk matriks ekstraseluler. Matriks ekstraseluler ini terdiri dari DNA (<1%), RNA (<1%), protein (<1-2%) termasuk enzim, ion (terikat dan bebas), polisakarida (1-2%), dan air

(hingga 97%). Air merupakan komponen utama plak yang bertanggung jawab mengalirkan nutrisi di dalam matriks plak (Jamal *et al.*, 2018).

Tabel 2.1 Komposisi Kimia Plak (Jamal *et al.*, 2015)

| No | Komponen | Persentase Matriks |
|----|--------------|----------------------------|
| 1. | Sel Mikroba | 2 – 5 % |
| 2. | DNA dan RNA | < 1 – 2 % |
| 3. | Polisakarida | 1 – 2 % |
| 4. | Protein | < 1 – 2 % (termasuk enzim) |
| 5. | Air | Hingga 97 % |

Komponen plak dapat terbentuk di berbagai tempat permukaan jaringan keras (supragingiva), batas jaringan keras dan lunak (subgingiva), permukaan epitel (mukosa bukal) & permukaan dorsal lidah (Lesouhaitier *et al.*, 2019).

c. Tahapan Pembentukan Plak

Tahapan proses pembentukan plak ada 3 tahapan yaitu (1) Kolonisasi awal dengan pembentukan pelikel, (2) Kolonisasi sekunder, (3) Maturasi plak (Newman *et al.*, 2019).

1) Kolonisasi Awal

Plak merupakan kontaminasi selapis biofilm dari saliva (glikoprotein saliva) pada permukaan jaringan dengan flora normal rongga mulut serta debris makanan yang melekat pada permukaan gigi yang disebut pelikel. Pelikel merupakan lapisan tipis berukuran (0,5 μm), halus, tidak berwarna, dan translusen. Pelikel menempel pada permukaan gigi karena adanya interaksi antara hidroksiapatit dan makromolekul saliva yang mana akan mengundang bakteri

fakultatif gram positif untuk melekat ke pelikel. Perlekatan bakteri pionir ke pelikel karena adesi yang membentuk kolonisasi awal membentuk EPS. Sekresi EPS berperan penting sebagai nutrisi, adesi bakteri, pertukaran informasi genetik, agregasi sel mikroba, membantu plak mempertahankan strukturnya dan mengontrol karakteristik hidrofilik dan hidrofobik (Homenta, 2016).

Hampir semua mikroorganisme mampu membentuk plak. Salah satu bakteri yang mampu membentuk plak yaitu *Staphylococcus aureus*. Dalam pembentukan plak, *Staphylococcus aureus* mendaur ulang protein untuk proses pembentukan matriks ekstraseluler di sitoplasma menjadi protein sitoplasmik yang mempunyai peran dalam meningkatkan fleksibilitas dan adaptasi *Staphylococcus aureus* pada proses pembentukan plak menjadi kondisi menular dan pembentukan spesies campuran (Jamal *et al.*, 2018).

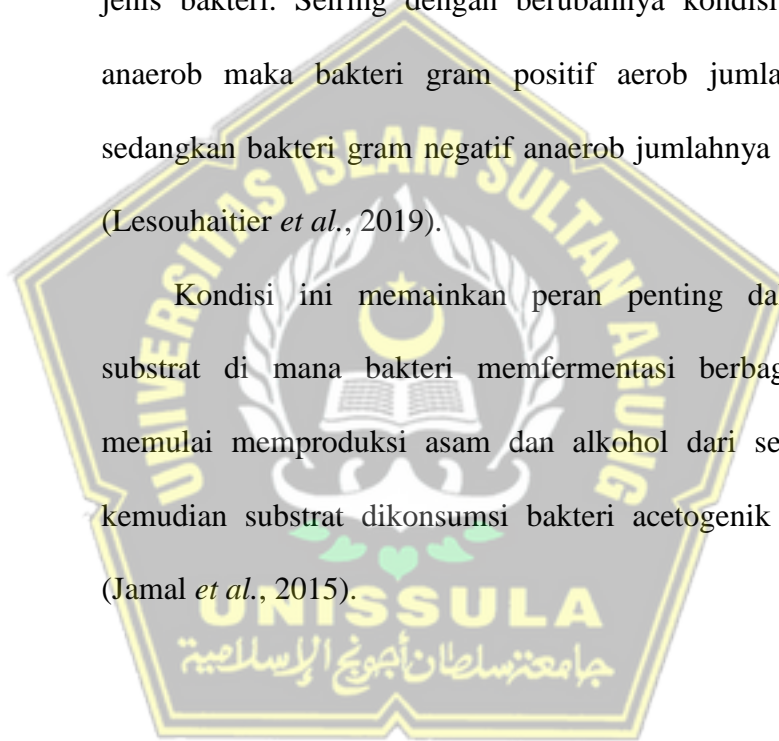
Tabel 2.2 Daftar Spesies Bakteri Pembentuk Plak (Jamal *et al.*, 2015)

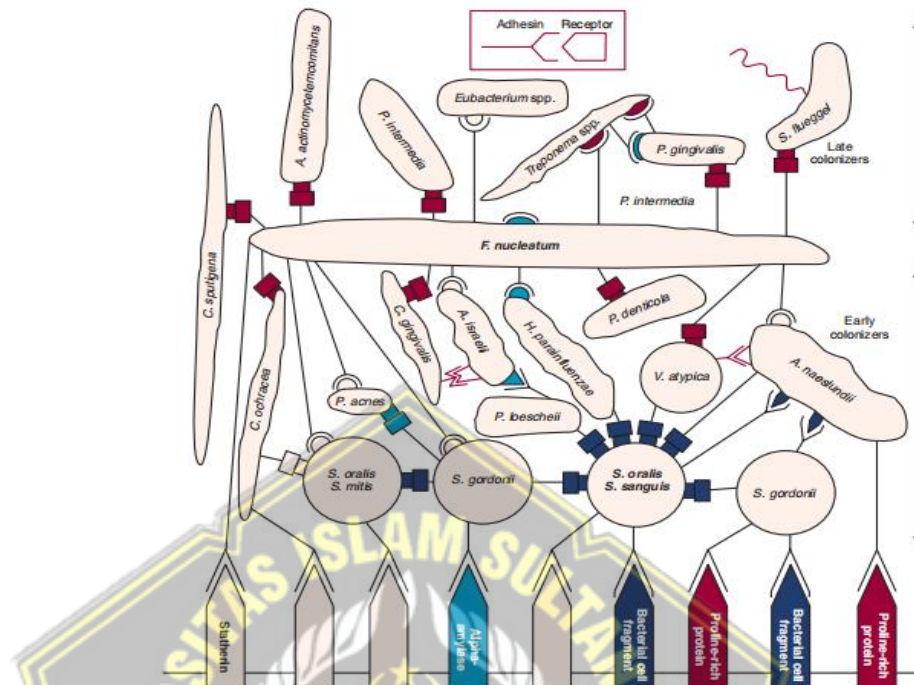
| No | Spesies Bakteri Pembentuk Plak |
|----|-----------------------------------|
| 1 | <i>E. coli</i> |
| 2 | <i>P. aeruginosa</i> |
| 3 | <i>S. epidermidis</i> |
| 4 | <i>S. aureus</i> |
| 5 | <i>Staphylococcus epidermidis</i> |
| 6 | <i>E. cloacae</i> |
| 7 | <i>K. pneumonia</i> |
| 8 | <i>Actenomyces israelii</i> |
| 9 | <i>Haemophilus influenza</i> |
| 10 | <i>Burkholderia cepacia</i> |

2) Kolonisasi Sekunder

Bakteri akan mengenali polisakarida atau reseptor protein yang berada di pelikel pada kolonisasi awal. Setelah itu, bakteri akan berkoagregasi dengan bakteri yang lain dan matur dalam kurun waktu 4 sampai 8 jam. Kondisi ini terjadi perubahan proporsional jenis bakteri. Seiring dengan berubahnya kondisi aerob menjadi anaerob maka bakteri gram positif aerob jumlahnya menurun, sedangkan bakteri gram negatif anaerob jumlahnya akan meningkat (Lesouhaitier *et al.*, 2019).

Kondisi ini memainkan peran penting dalam pertukaran substrat di mana bakteri memfermentasi berbagai karbohidrat, memulai memproduksi asam dan alkohol dari senyawa organik, kemudian substrat dikonsumsi bakteri acetogenik menjadi energi (Jamal *et al.*, 2015).





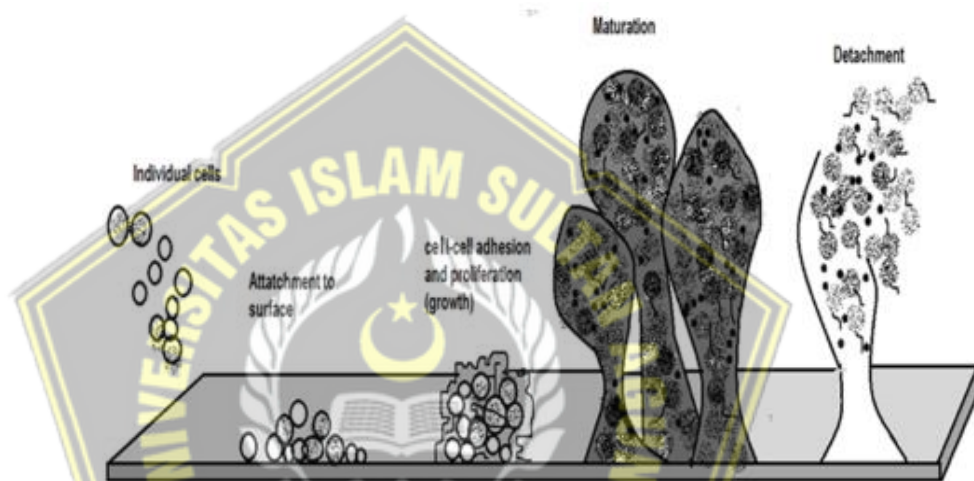
Gambar 2.1 Representasi Diagram Pembentukan Plak (Newman *et al.*, 2019)

3) Maturasi Plak

Beberapa bakteri akan mensintesis matriks ekstraseluler yang akan memberikan sinyal untuk memperkuat kepadatan plak. Bakteri pada plak tetap melakukan metabolisme secara terus menerus sebagai nutrisi primer dan memaksimalkan kinerja antar sesama bakteri untuk memantapkan plak (Lamster and Pagan, 2017).

Proses pembentukan formasi plak, maturasi dan detasemen merupakan proses perkembangbiakan bakteri dua kali lebih cepat dari sesil menjadi bentuk motil yang terjadi secara alami. Ada beberapa jenis bakteri yang tidak menghasilkan polisakarida ekstraseluler dan sel bakteri membubarkan langsung ke lingkungan.

Selama proses detasemen plak menghasilkan enzim *scharolytic* untuk melepaskan mikroba ke daerah baru untuk kolonisasi. Dalam proses ini mikroba mengatur ekspresi protein untuk pembentukan flagel yang membiarkan bakteri pindah ke daerah baru untuk penyebaran infeksi (Jamal *et al.*, 2015).



Gambar 2.2 Skilus Tahapan Pembentukan Biofilm (Jamal *et al.*, 2015)

2.1.2 Penyakit Periodontal

a. Definisi Penyakit Periodontal

Penyakit periodontal merupakan hasil dari interaksi yang sangat kompleks antara bakteri plak dengan imun host yang tidak adekuat. Dalam respon inflamasi tersebut peran dari plak yang terbentuk di berbagai tempat di dalam rongga mulut memiliki peran penting untuk melepaskan substansi berbahaya dengan mudah untuk menyerang patogen. Apabila respon imun tubuh rendah akan menyebabkan adanya kelainan pada jaringan periodontal (Papapanou *et al.*, 2018).

b. Klasifikasi Penyakit Periodontal

Klasifikasi penyakit periodontal menurut *The American Academy of Periodontology* (AAP, 1999) menyebutkan bahwa terbagi menjadi 2 golongan, yaitu penyakit pada gingiva (gingivitis) dan penyakit pada jaringan periodontal (periodontitis) (Caton *et al.*, 2018).

Tabel 2.3 Klasifikasi Penyakit Periodontal dan Peri-Implant (Caton *et al.*, 2018)

| No | Kondisi Penyakit Periodontal |
|----|--|
| 1. | Gingivitis Gingivitis di Induksi Plak Gingivitis Tidak di Induksi Plak |
| 2. | Periodontitis Periodontitis Nekrotikans Periodontitis Periodontitis sebagai Manifestasi Penyakit Sistemik |
| 3. | Kondisi Lain yang Mempengaruhi Periodontium Kondisi Penyakit Sistemik Abses Periodontal dan Lesi Endodontik Periodontal Kondisi Mucogingival Trauma Tekanan Oklusal Faktor Terkait Gigi dan Protesa |
| 4. | Kondisi Penyakit Peri-Implant Peri-Implant Sehat Mukositis Peri-Implant Peri-Implantitis Defisiensi Jaringan Keras dan Lunak Peri-Implant |

1) Gingivitis

Gingivitis merupakan infeksi yang menyebabkan inflamasi pada jaringan periodontal yang dimulai pada papilla interdental mencapai leher gigi yang bersifat *reversible*. Gingivitis ditandai adanya perubahan warna dari merah terang sampai merah kebiruan

yang mengalami pembesaran karena edema, serta mudah berdarah jika terdapat stimulasi seperti menyikat gigi dan papila interdental gigi terlihat tumpul (Asykarie and Faizah, 2017). Berdasarkan penyebab atau etiologi gingivitis diklasifikasikan menjadi gingivitis terkait plak maupun tidak terkait plak (Newman *et al.*, 2019).

a. Gingivitis Terkait Plak

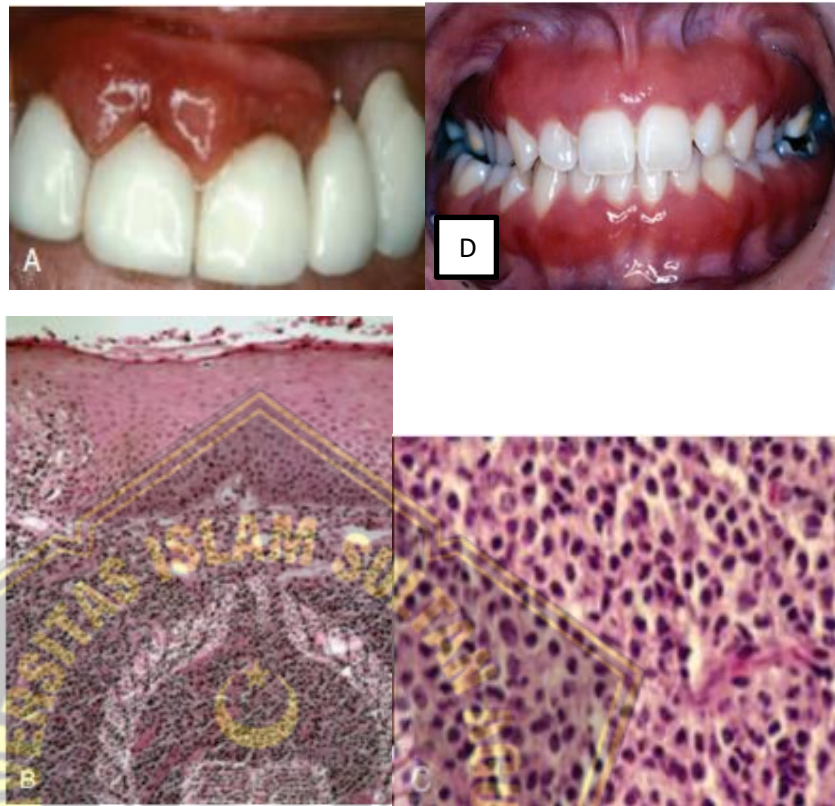
Gingivitis terkait plak adalah hasil dari interaksi antara mikroorganisme dalam plak gigi dengan imun host yang tidak adekuat. Gingivitis terkait plak memiliki karakteristik berupa infiltrat limfosit dan sel mononuklear padat, perubahan dari fibroblas, peningkatan permeabilitas pembuluh darah, dan hilangnya kolagen secara berkelanjutan dengan ditandai adanya *attachment loss* akibat interaksi antara mikroorganisme dengan respon imun host. Gejala klinis yang terlihat adanya perdarahan saat menyikat gigi, pembengkakan, kemerahan pada gingiva, dan bau mulut. Pada kondisi ini juga dapat dipengaruhi oleh faktor lain seperti faktor sistemik, penggunaan obat, dan nutrisi yang kurang (Murakami *et al.*, 2018).



Gambar 2.3 Inflamasi pada Margin Gingiva dan Papilla Interdental (Newman *et al.*, 2019)

b. Gingivitis yang Tidak Terkait Plak

Faktor etiologi utama dari gingivitis yang tidak terkait dengan plak yaitu disebabkan oleh kondisi idiopatik atau autoimun, adanya virus seperti virus asam deoksiribonukleat dan asam ribonukleat dimana sering dijumpai kebanyakan adalah virus herpes dengan gambaran klinis berupa ulser kecil, bakteri spesifik seperti *Neisseria gonorrhoeae*, jamur, maupun reaksi jaringan pada benda asing yang akan menghasilkan manifestasi klinik pada gingiva. Kondisi sistemik pada individu juga berpengaruh pada kondisi 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. Kondisi-kondisi tersebut sangat sulit untuk menegakkan diagnosis karena perlu riwayat yang luas dan seleksi dari potensial penyebabnya (Holmstrup, *et al.*, 2018).



Gambar 2.4 Manifestasi Gingival Kondisi Sistemik (A. Peradangan lokal gingival karena alergi nikel, B-C Biopsi dari reaksi alergi gingival termasuk infiltrat sel eosinofilik yang padat, dan D. Peradangan gingival karena alergi zat adiktif pada permen karet) (Newman *et al.*, 2019)

2) Periodontitis

Periodontitis merupakan infeksi yang disebabkan oleh mikroorganisme bakteri yang menyebabkan inflamasi pada jaringan periodontium sebagai respon agregasi bakteri. Infeksi dari mikroorganisme bakteri akan mengakibatkan kerusakan progresif ligamen periodontal dan tulang alveolar yang menghasilkan kedalaman pembentukan poket, resesi, atau keduanya (Lindhe and Lang, 2015; Andriani and Chairunnisa, 2019).

a. Periodontitis Kronis

Periodontitis kronis umumnya terjadi pada usia dewasa, tetapi bisa juga pada usia muda. Periodontitis kronik umumnya memiliki tingkat perkembangan penyakit yang lambat hingga sedang, tetapi periode kerusakan lebih cepat juga dapat diamati secara visual (Lamster and Pagan, 2017).

Periodontitis kronis dikaitkan dengan akumulasi plak dan kalkulus. Peningkatan laju perkembangan penyakit dapat disebabkan oleh faktor lokal, sistemik, atau lingkungan yang dapat mempengaruhi interaksi normal host. Faktor lokal dapat mempengaruhi akumulasi plak, faktor sistemik (DM dan HIV) dapat mempengaruhi pertahanan host, dan lingkungan (tekanan asap rokok) dapat mempengaruhi respon inang terhadap akumulasi plak (Lamster and Pagan, 2017). Periodontitis kronis dapat terjadi sebagai penyakit lokal dimana <30% dievaluasi gigi menunjukkan perlekatan dan kehilangan tulang, atau terjadi kehilangan perlekatan dan resorpsi tulang dan dikategorikan penyakit general >30% gigi terpengaruh (Sistla *et al.*, 2018).

Periodontitis kronis diklasifikasikan menjadi 3 terkait tingkat keparahan dari CEJ dengan puncak margin gingiva, yaitu tingkat keparahan yang ringan (*mild*) karena adanya kehilangan perlekatan sebesar 1 – 2 mm, sedang (*moderate*) karena adanya

kehilangan perlekatan sebesar 3 – 4 mm, dan tingkat keparahan berat (*severe*) karena adanya kehilangan perlekatan >5 mm (Newman *et al.*, 2019).



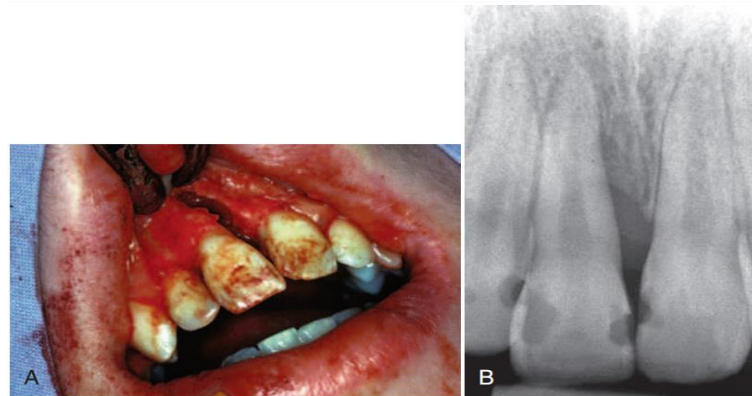
Gambar 2.5 Periodontitis Kronis Terkait Tingkat Keparahannya dari CEJ (A. Tingkat keparahan ringan (*mild*), B. Tingkat keparahan sedang (*moderate*), dan C. Tingkat keparahan berat (*severe*) (Newman *et al.*, 2019)

b. Periodontitis Agresif

Periodontitis agresif berbeda dengan periodontitis kronis. Periodontitis agresif umumnya memiliki tingkat laju perkembangan penyakit yang cepat. Periodontitis agresif biasanya menyerang anak muda sebelum atau setelah pubertas dan dapat diamati selama dekade kedua dan ketiga (usia 10 hingga 30 tahun) (Rusyanti, 2014).

Biasanya periodontitis agresif terjadi pada usia pubertas sehingga didapatkan perbandingan antara perempuan dan laki – laki adalah 3:1. Periodontitis agresif dapat juga disebabkan dari keturunan riwayat keluarga secara *X – linked* dominan maupun autosomal resesif dan disebabkan akumulasi plak yang minimal dengan tidak disertai peradangan gingiva yang parah, tetapi perkembangan dan tingkat keparahannya terjadi secara tidak konsisten (Newman *et al.*, 2019).

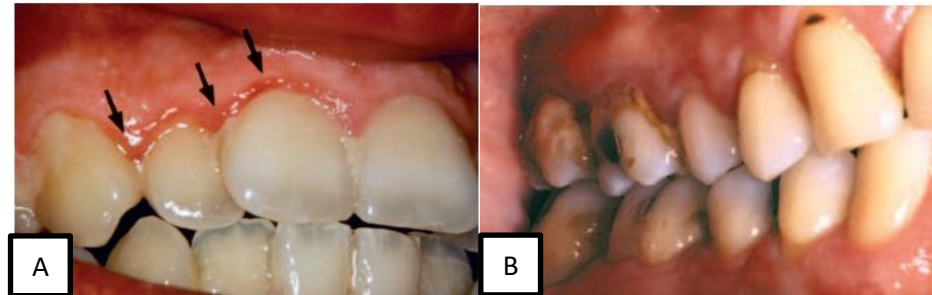
Periodontitis agresif dibagi menjadi 2 yaitu lokal dan general. Periodontitis agresif yang dilihat secara radiografi pada individu menunjukkan adanya kehilangan tulang secara cepat dan parah. Periodontitis agresif lokal yang dilihat secara radiografi menunjukkan kehilangan tulang yang cepat dan parah secara vertikal yang mengakibatkan kehilangan perlekatan sebesar 4 mm yang terjadi pada gigi molar dan incisivus. Sedangkan periodontitis agresif general yang dilihat secara radiografi menunjukkan adanya kehilangan tulang secara vertikal >4mm dan dapat ditemui pada sebagian besar gigi (Sistla *et al.*, 2018; Newman *et al.*, 2019).



Gambar 2.6 Periodontitis Agresif Lokal (Newman *et al.*, 2019)

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 inflamasi. Gingivitis terjadi berawal dari akumulasi plak yang jumlahnya banyak pada daerah papilla interdental (Papapanou *et al.*, 2018). Plak berkembang dan mencapai supragingiva (gram (+)) dan subgingiva (gram (-)) akan termineralisasi yang mengalami pengapuran massa menjadi kalkulus. Apabila kalkulus tidak dibersihkan dan dibiarkan dengan kurun waktu yang lama akan menyebabkan penyakit periodontal (Lindhe and Lang, 2015).



Gambar 2.7 Lokasi Biofilm (A. Supragingiva dan B. Subgingiva) (Newman *et al.*, 2019)

Lesi awal dari plak menjadikan perubahan awal pada gingiva dan kolagen perivaskuler mengilang digantikan dengan sel-sel inflamasi terutama limfosit. Inflamasi awal meningkatkan cairan gingiva dan perpindahan PMN, serta perubahan mikroskopis seiring berjalannya waktu dimana sel plasma lebih dominan, limfosit menetap, dan jumlah makrofag yang meningkat (Papapanou *et al.*, 2018).

Periodontitis terjadi karena adanya inflamasi kelanjutan dari gingivitis yang berawal dari agregasi bakteri plak yang mengakibatkan kerusakan *irreversible* (Tonetti *et al.*, 2017). Proses terjadinya kerusakan jaringan periodontal disebabkan masuknya produksi virulensi dari bakteri plak yang berakumulasi ke dalam gingiva yang merespon proses imunoinflamasi. Bakteri patogen memiliki faktor virulensi atau potensi toksin yang dapat menginfeksi inang dan merusak jaringan normal. Faktor virulensi yang dimiliki oleh bakteri patogen (*Staphylococcus aureus*) diantaranya adalah LPS, kapsul polisakarida, fimbriae, vesikel membran luar, hemaglutinin, aktivitas enzim dan protein antigen. Faktor virulensi ini dapat merusak immunoglobulin, faktor komplemen dan

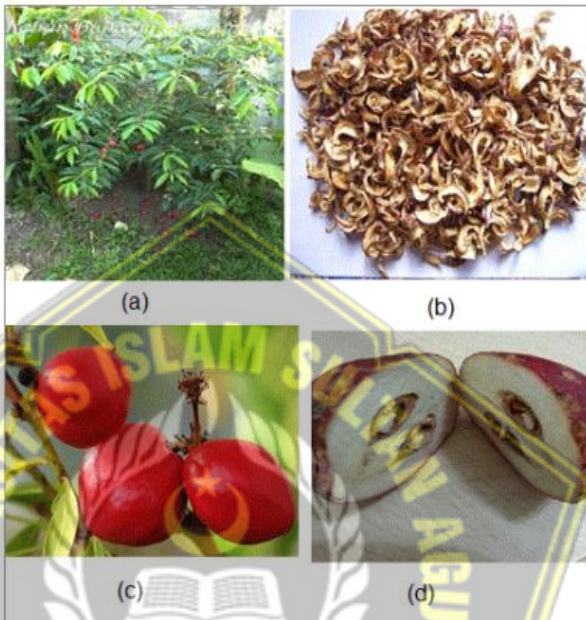
mendegradasi perlekatan epitel jaringan periodontal sehingga menimbulkan poket periodontal (Papapanou *et al.*, 2018).

Adanya faktor virulensi yang dimiliki bakteri merangsang sel-sel inflamasi datang menuju ke tempat bakteri itu berada. Sejumlah sel PMN menuju ke sulkus gingiva diikuti dengan sel *lymphocytes* yang memproduksi antibodi untuk pertahanan melawan bakteri. *Lymphocytes* memproduksi bahan kimia seperti prostaglandin, MMPs, merekrut produksi antibodi, neutrophil, dan sitokin antiinflamasi IL-4, IL-10, IL-12, dan TGF- β sebagai respon terhadap imunoinflamatori untuk pertahanan melawan patogen. Serangan bakteri yang persisten mengakibatkan kacanya mekanisme homeostatik sehingga respon tubuh berkelanjutan dan mengeluarkan mediator sitokin proinflamasi (IL-2, IL-6, TNF- α), protease (*matrix metalloproteinases*), dan PGE2 yang berperan meningkatkan destruksi matriks ekstraselular gingiva dan merangsang resorpsi tulang (Tonetti *et al.*, 2017; Murakami *et al.*, 2018).

2.1.3 Tanaman Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*)

Indonesia merupakan negara yang kaya akan tanaman obat-obatan yang berpotensi untuk dikembangkan dan dimanfaatkan secara optimal dalam bidang kesehatan. Tanaman tradisional lebih efektif untuk menangani masalah kesehatan karena mikroba resisten terhadap obat antibiotika yang

tersedia, selain itu harga mudah dijangkau dan efek samping lebih minimal (Novaryatiin *et al.*, 2018).



Gambar 2.8 Tanaman Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) (a. Batang, b. Kulit buah kering, c. Buah, d. Biji) (OR *et al.*, 2016)

Salah satu tanaman tradisional yang dapat dikembangkan dan dimanfaatkan dalam bidang kesehatan adalah mahkota dewa. Mahkota dewa adalah tanaman tradisional yang digunakan untuk pencegahan dan penyembuhan penyakit. Mahkota dewa adalah tanaman yang tumbuh di daerah tropis yang berasal dari Papua. Mahkota dewa tumbuh pada tempat dengan ketinggian ± 1.200 meter dari permukaan laut, tumbuh dengan ketinggian 5 meter dengan umur produktif sekitar 10-20 tahun, berakar tunjang dengan panjang akar yang dapat mencapai 1 meter, batang tanaman bergetah, berwarna coklat kehijauan, dan kayu tanaman berwarna putih.

Daun mahkota dewa berbentuk lonjong memanjang yang berujung lancip dengan panjang sekitar 7-10 cm dan lebar sekitar 3-5 cm, serta berwarna hijau. Bunga mahkota dewa tersusun dari 2-4 bunga yang merupakan bunga majemuk berwarna putih, berbentuk terompet kecil, dan baunya harum. Buah mahkota dewa berbentuk seperti bola dan bervariasi bentuknya. Buah mahkota yang masih muda berwarna hijau dan saat sudah matang berwarna merah maroon. Daging dan cangkang berwarna putih. Biji mahkota dewa beracun dan berbentuk bulat, serta berwarna putih (Fiana and Oktaria, 2016).

a. Taksonomi

| | |
|------------|--|
| Divisi | : <i>Spermatophyta</i> |
| Sub divisi | : <i>Angiospermae</i> |
| Kelas | : <i>Dicotyledonae</i> |
| Bangsa | : <i>Celastrales</i> |
| Suku | : <i>Thymelaceae</i> |
| Marga | : <i>Phaleria</i> |
| Jenis | : <i>Phaleria macrocarpa</i> (Scheff.) Boerl |

(Fiana and Oktaria, 2016)

b. Khasiat Antibakteri Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*)

Mahkota dewa adalah tanaman asli Indonesia yang mempunyai kemampuan menyembuhkan macam-macam penyakit, seperti: asam

urat, diabetes melitus, hipertensi, kanker, impotensi, rematik, gatal, alergi, tumor, hepatitis, penyakit kulit, stroke, penyakit jantung, ambeien, gangguan ginjal, asma, migrain dan ketergantungan obat (Radita and Widyarman, 2019). Bagian tanaman mahkota dewa, meliputi biji, daun, batang, dan buah dapat digunakan sebagai obat. Mahkota dewa mempunyai kandungan zat yang berfungsi sebagai antibakteri dan mempunyai toksisitas yang cukup tinggi sebagai bentuk proses pertahanan diri (Novaryatiin *et al.*, 2018).

Mahkota dewa merupakan tanaman tradisional yang digunakan untuk pencegahan dan penyembuhan penyakit. Daun mahkota dewa mengandung senyawa kimia seperti flavonoid, tanin, alkaloid, triterpenoid, saponin, dan polifenol (Faried *et al.*, 2016; Hestiyani & Handini, 2019).

Flavonoid merupakan senyawa yang bersifat sebagai antibakteri dan diindikasikan untuk mencegah pertumbuhan sel kanker dan anti peradangan. Flavonoid mengganggu aktivitas permeabilitas dinding bakteri, menghambat sintesis asam nukleat, menghambat metabolisme, dan menghambat fungsi membrane sitoplasma yang mengakibatkan bakteri lisis dan tidak bisa berkembang, serta penghambatan quorum sensing (Radita and Widyarman, 2019).

Tanin sebagai antibakteri memiliki peran mengikat protein dalam pembentukan dinding sel bakteri dan menginaktif proses adesi sel

bakteri yang mengakibatkan pembentukan terhambat dan tidak sempurna sehingga bakteri tidak dapat hidup dan akhirnya mati, serta menetralkan racun (Astriyani *et al.*, 2017). Alkaloid merupakan senyawa organik yang berfungsi sebagai detoksifikasi yang berperan untuk menetralkan racun di dalam tubuh. Alkaloid mengganggu penyusunan peptidoglikan sel bakteri sehingga dinding sel bakteri tidak terbentuk sempurna yang mengakibatkan kematian bakteri (Afnizar *et al.*, 2016).

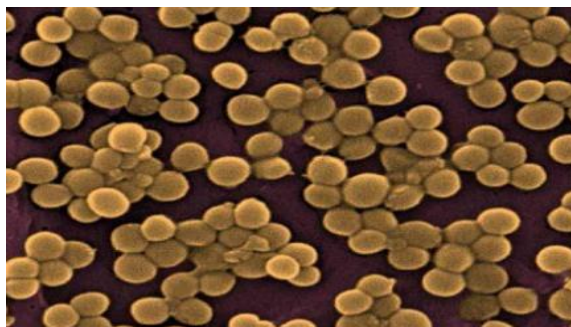
Saponin merupakan fitonutrien yang bersifat sebagai antivirus dan antibakteri yang berperan meningkatkan daya tahan tubuh, meningkatkan sistem kekebalan tubuh, mengurangi terjadinya penggumpalan darah dan mengurangi kadar glukosa dalam darah. Saponin berperan sebagai bakteriostatik dalam mengganggu permeabilitas dinding bakteri dengan cara merusak membrane sitoplasma yang menyebabkan bakteri lisis (Astriyani *et.al*, 2017). Polifenol merupakan senyawa anti histamin. Kandungan flavonoid, tanin, alkaloid, triterpenoid, saponin, dan polifenol memiliki sifat antiinflamasi, antioksidan dan antibakteri, serta aktivitas sitokin yang dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* (Afnizar *et al.*, 2016).

c. Penggunaan Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) pada Bidang Kedokteran Gigi

Tanaman mahkota dewa digunakan dalam bidang kedokteran gigi sebagai antibakteri. Tanaman mahkota dewa memiliki kandungan yang berperan sebagai antibakteri yang dapat digunakan untuk menghambat bakteri yang terdapat di dalam rongga mulut. Bakteri yang terdapat di dalam rongga mulut merupakan flora normal yang dapat mengakibatkan terjadinya pembentukan plak yang mana plak dapat berperan menimbulkan penyakit yang lebih parah seperti penyakit periodontal (Afnizar *et al.*, 2016).

2.1.4 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri flora normal di dalam rongga mulut. *Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram positif yang berbentuk bulat membentuk koloni secara tidak teratur seperti buah anggur (Astriyani *et al.*, 2017).



Gambar 2.9 Bakteri *Staphylococcus aureus* (Ma'ruf *et al.*, 2015)

a. Taksonomi

Kerajaan : *Bacteria*

Filum : *Firmicutes*

Kelas : *Bacili*

Ordo : *Bacillales*

Familia : *Staphylococcaceae*

Genus : *Staphylococcus*

Spesies : *Staphylococcus aureus*

(Ma'ruf *et al.*, 2015)

b. Anatomi Morfologi

Staphylococcus aureus merupakan bakteri fakultatif anaerob yang tidak bergerak dan tidak membentuk spora, serta dapat tumbuh dan berkembang secara optimum pada suhu 37°C namun pada suhu kamar 20-25°C merupakan suhu pembentuk pigmen yang sangat baik (Ma'ruf *et al.*, 2015). Bakteri *Staphylococcus aureus* ini mampu bertahan pada kondisi kering pada suhu 50°C selama 30 menit. Warna abu-abu sampai kuning keemasan pada bakteri menunjukkan koloni pada pembenihan padat, bertekstur halus, berkilau, menonjol, dan berbentuk bulat (Ibrahim and Rusli, 2010; Astriyani *et al.*, 2017).

c. Peranan *Staphylococcus aureus* pada Penyakit Periodontal

Staphylococcus aureus mempunyai selaput polisakarida yang berperan sebagai virulensi bakteri yang menimbulkan penyakit

berspektum luas. *Staphylococcus aureus* dapat melakukan pembelahan sel secara cepat dan menyebar luas ke jaringan serta memproduksi bahan ekstraseluler yang mengakibatkan infeksi pada manusia. Infeksi lokal ditandai dengan nyeri, reaksi inflamasi kuat dan terlokalisir (Ibrahim and Rusli, 2010).

2.1.5 Teknologi Nanoemulsi Gel

a. Definisi Nanoemulsi Gel

Nanoemulsi gel merupakan penghantar bersifat hidrofobik yang berukuran droplet 1-100 nm yang terdiri dari sistem dispersi koloid yang dicampurkan dengan basis gel (Sharma *et al.*, 2016; Imanto *et al.*, 2019). Nanoemulsi gel memiliki karakteristik berupa ukuran yang fleksibel, area permukaan yang luas serta mempunyai kadar air yang tinggi (Sheikh *et al.*, 2018).

Nanoemulsi gel memiliki bentukan yang mendekati stabilitas termodinamik. Nanoemulsi gel dapat meningkatkan absorpsi, membantu mensolubilisasi zat aktif yang bersifat hidrofobik, meningkatkan bioavailabilitas obat, berpenetrasi cepat pada sebagian obat, memiliki efisiensi dan efektifitas yang tinggi (Chellapa *et al.*, 2015).

b. Pemanfaatan Teknologi Nanoemulsi Gel pada Bidang Kedokteran Gigi

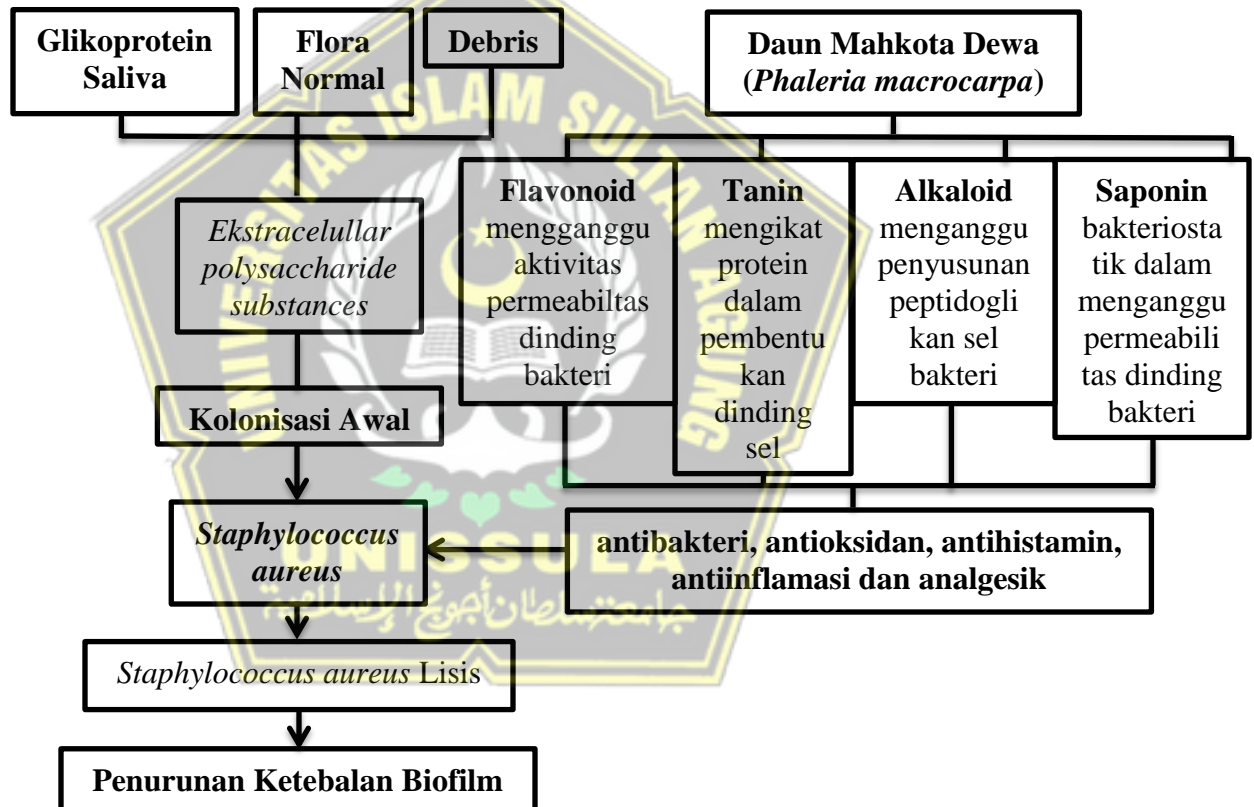
Kemajuan ilmu pengetahuan dan juga teknologi seiring berkembangnya zaman memperkenalkan tentang stabilisasi sistem terdispersi dan produksi dalam bentuk nanoemulsi gel. Nanoemulsi gel secara efektif digunakan untuk meningkatkan stabilitas bahan aktif dan ketersediaan hayati (Eid *et al.*, 2014).

Aplikasi teknologi nanoemulsi gel semakin digunakan dalam berbagai aplikasi karena sifat karakteristik mereka, ukuran tetesan kecil (dalam kisaran 50-500 nm) dengan daerah interfacial tinggi, penampilan transparan atau tembus cahaya, kapasitas solubilisasi tinggi, viskositas rendah, dan sedimentasi stabilitas kinetik tinggi, lokasi, dan dalam beberapa kasus pelepasan. Di bidang kesehatan, nanoemulsi gel telah digunakan sebagai sistem pengiriman obat melalui berbagai rute sistemik terutama oral, topikal dan nutrisi parenteral (Sharma *et al.*, 2016).

Di bidang kedokteran gigi teknologi nano sudah dikembangkan berupa nanohidroksiapatit. Nanohidroksiapatit ini digunakan pada regenerasi jaringan tulang, pelapis implant dental, filler pada semen pengisi saluran akar, filler pada material restorasi GIC, dan bahan aktif pasta gigi sensitif. Hidroksiapatit merupakan bahan material yang mempunyai biokompatibilitas yang baik terhadap jaringan rongga mulut

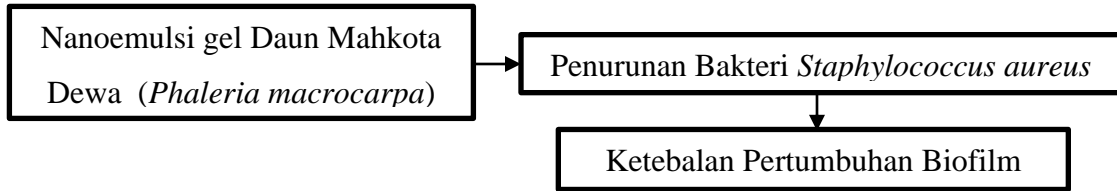
karena mempunyai kemampuan osteokonduktif untuk merangsang osteoblast dan pembentukan tulang. Sifat hidroksiapatit dipengaruhi oleh bentuk strukturnya. Dengan adanya bentuk nanohidroksiapatit akan menghasilkan sifat yang optimal dan dampak yang signifikan pada aplikasi biomedis (Mozartha, 2015).

2.2 Kerangka Teori



Gambar 2.10 Kerangka Teori

2.3 Kerangka Konsep



Gambar 2.11 Kerangka Konsep

2.4 Hipotesis

Nanoemulsi gel daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) efektif menurunkan ketebalan biofilm bakteri *Staphylococcus aureus*.



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

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

3.2 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan penelitian *True Experimental Laboratories Post Test Only Controlled Group Design*.

3.3 Variabel

3.3.1 Variabel Terikat

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

3.3.2 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah nanoemulsi gel daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*).

3.3.3 Variabel Terkendali

Waktu inkubasi *Staphylococcus aureus* selama 24 jam, pada suhu inkubasi 37°C dengan media pertumbuhan *Staphylococcus aureus* yaitu *well plate steril*.

3.4 Definisi Operasional

Tabel 3.1 Definisi Operasional

| No | Variabel | Definisi Operasional | Skala Data |
|----|---|---|------------|
| 1. | Nanoemulsi Gel Daun Mahkota Dewa (<i>Phaleria macrocarpa</i>) | Suatu formulasi hasil dispersi dari suatu bahan herbal dengan berbagai konsentrasi (10%, 20%, 30%) kemudian dibuat menjadi sediaan gel yang diaplikasikan pada media <i>well microplate</i> . | Rasio |
| 2. | 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 mahkota dewa (<i>Phaleria macrocarpa</i>) 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

Pengumpulan saliva oleh *volunteer* dengan metode *spitting out* sebanyak 20 ml ke dalam gelas ukur. Bakteri *Staphylococcus aureus* diinokulasikan pada media nutrisi agar (NA) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 4 jam dan 8 jam. Kemudian dilakukan pengambilan 2-3 ose bakteri dan diinkubasi kembali selama 48 jam. Pengambilan sampel dalam penelitian ini dibagi menjadi sepuluh kelompok, yaitu :

- a. Kelompok I : Kelompok perlakuan yang diberi nanoemulsi gel daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) konsentrasi 10% dengan durasi inkubasi 4 jam.
- b. Kelompok II : Kelompok perlakuan yang diberi nanoemulsi gel daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) konsentrasi 10% dengan durasi inkubasi 8 jam.
- c. Kelompok III : Kelompok perlakuan yang diberi nanoemulsi gel daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) konsentrasi 20% dengan durasi inkubasi 4 jam.
- d. Kelompok IV : Kelompok perlakuan yang diberi nanoemulsi gel daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) konsentrasi 20% dengan durasi inkubasi 8 jam.
- e. Kelompok V : Kelompok perlakuan yang diberi nanoemulsi gel daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) konsentrasi 30% dengan durasi inkubasi 4 jam.
- f. Kelompok VI : Kelompok perlakuan yang diberi nanoemulsi gel daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) konsentrasi 30% dengan durasi inkubasi 8 jam.
- g. Kelompok VII: Kelompok kontrol positif menggunakan *chlorhexidin gluconate* 0,2% gel dengan durasi inkubasi 4 jam.
- h. Kelompok VIII : Kelompok kontrol positif menggunakan *chlorhexidin gluconate* 0,2% gel dengan durasi inkubasi 8 jam.

- i. Kelompok IX : Kelompok kontrol negatif menggunakan *aquades steril* dengan durasi inkubasi 4 jam
- j. Kelompok X : Kelompok kontrol negatif menggunakan *aquades steril* dengan durasi inkubasi 8 jam.

3.5.2 Bahan Uji

Sampel yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah formulasi nanoemulsi gel daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, *chlorhexidin* gel sebagai kontrol positif, dan *aquades* sebagai kontrol negatif, serta pengumpulan saliva oleh *volunteer* dengan cara metode *spitting out* yaitu probandus diminta meludah sebanyak 20 ml dan ditampung pada gelas ukur.

3.5.3 Besar Sampel

Besar sampel minimum didapatkan dengan rumus Federer yaitu :

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

$$(10 - 1)(r - 1) \geq 15$$

$$9 (r - 1) \geq 15$$

$$9r - 9 \geq 15$$

$$9r \geq 15 + 9$$

$$9r = 24$$

$$r = 24/9$$

$$= 2,6$$

$$= 3$$

$$\begin{aligned} \text{Sampel} = n &= t \times r \\ &= 10 \times 3 = 30. \end{aligned}$$

Keterangan:

n = Jumlah bakteri yang diperlukan

r = Replikasi (perulangan)

t = Jumlah kelompok yang diperlukan

Berdasarkan hasil perhitungan tersebut maka jumlah sampel keseluruhan yang dibutuhkan dalam penelitian ini ada 30, yang mana jumlah kelompok perlakuan ada 10 macam, dengan 5 kelompok inkubasi 4 jam dan 5 kelompok inkubasi 8 jam, dan setiap kelompok dibuat ulangan sebanyak 3 kali. Besar sampel digunakan sebagai acuan dilakukan pengulangan dalam penelitian.

3.6 Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1 Alat Penelitian

Tabel 3.2 Alat Penelitian

| | |
|----------------------------|-----------------------------------|
| a. Inkubator | h. <i>Homogenizer</i> |
| b. Stopwatch | i. <i>Magnetic Stirrer</i> |
| c. <i>Media Well Plate</i> | j. <i>Eppendorf Multi Channel</i> |
| d. <i>Micropipet</i> | k. Mortir |
| e. Gelas Ukur | l. Blender |
| f. Shaker | m. <i>Alat Microplate Reader</i> |
| g. <i>Colony Counter</i> | n. <i>Rotary Evaporator</i> |

3.6.2 Bahan Penelitian

Tabel 3.3 Bahan Penelitian

| | |
|---|--|
| a. Daun mahkota dewa (<i>Phaleria macrocarpa</i>) | g. Metil Parabean |
| b. Suspensi Bakteri Standar (<i>Mc.Farland</i> 0,5 1,5x10 ⁸ CFU/mL) | h. Propil Parabean |
| c. HMPC 4000 | i. Gliserin |
| d. Tween 80 36% | j. Aquadest |
| e. Etanol 96% | k. Saliva |
| f. Propilen Glikol | l. <i>Crystal violet</i> 1% |
| | m. <i>Phospate Buffer Saline (PBS)</i> |
| | n. <i>Chlorhexidine Gel</i> |

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 merupakan proses dengan metode tertentu yang dapat memberikan hasil akhir berupa suatu bentuk keadaan yang tidak dapat ditunjukkan lagi adanya mikroorganisme sterilisasi cukup banyak (Raudah, *et al.*, 2017). Sterilisasi alat menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C pada 2 atm selama 15 menit. Kemudian didiamkan hingga mencapai suhu kamar dan suhu kering sehingga alat dapat digunakan (Chusnayni, 2017).

3.7.3 **Pengambilan Saliva dengan Metode *Spitting Out***

Pengambilan saliva yang dilakukan pada pasien dengan kriteria seperti kesehatan umum subyek baik, tidak memiliki riwayat penyakit sistemik, penyakit tiroid, dan tidak sedang mengonsumsi antibiotik. Selain kriteria diatas, pasien juga harus memiliki surat keterangan uji tes PCR dengan **hasil negatif**. Sebelumnya responden ini mengunyah permen karet xylitol selama 5 menit untuk menstimulus saliva agar laju saliva yang didapatkan banyak. Hal ini dikarenakan dalam penelitian menggunakan satu orang volunteer subyek penelitian (Savita *et al.*, 2017).

Pengambilan saliva dilakukan dengan metode *spitting out*. Metode *spitting out* adalah pengambilan saliva yang dilakukan dengan cara pengumpulan saliva di dasar mulut selama 5 menit, kemudian dimasukkan ke dalam gelas ukur (Ningsih and Agustin, 2019).

Tahapan pengambilan saliva dengan metode *spitting out*:

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

3.7.4 Pembuatan Ekstrak Daun Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*)

Pembuatan ekstrak daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Sebanyak 250 gram daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) yang telah dibersihkan menggunakan air mengalir dipotong kecil-kecil kemudian dikeringkan.

Daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) yang telah kering dihaluskan menggunakan *blender*. Selanjutnya merendam 250 gram serbuk daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) 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 mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) (Roekistiningsih *et al.*, 2013).

3.7.5 Pembuatan Nanoemulsi Daun Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*)

Ekstrak daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) yang sudah siap, selanjutnya dilakukan pembuatan nanoemulsi ekstrak daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) yaitu menyampurkan ekstrak daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dengan 3,6 gram Tween 80 dengan 100 gram *aquadest* sampai homogen menggunakan alat *homogenizer* dengan kecepatan 1000 rpm selama 30 menit. 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 dan dihomogenkan kembali menggunakan *over stirrer*. Kemudian satukan fase minyak dan air hingga homogen menggunakan *over stirrer* dengan kecepatan 1000 rpm selama 1 jam (Khoiriyah *et al.*, 2018).

3.7.6 Pembuatan Nanoemulsi Gel Daun Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*)

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 daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dalam suhu ruangan menggunakan alat *homogenizer* dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit (Tirmiara *et al.*, 2018).

Tabel 3.4 Optimalisasi Ekstrak Daun Mahkota Dewa dengan Formula Gel

| Bahan | F1 10% | F2 20% | F3 30% |
|--|-------------------|-------------------|-------------------|
| Massa Ekstrak Daun Mahkota Dewa (gram) | 2,1 gram | 4,2 gram | 6,3 gram |
| Massa Basis Gel (ml) | 7,9 ml | 5,8 ml | 3,7 ml |

3.7.7 Uji Ketebalan Biofilm dengan Metode Microtiter Plate Biofilm Assay

Well plate yang sudah dilapisi saliva sebanyak 200µL 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 µl suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* yang telah di *centrifuge* dan 90 µl nanoemulsi gel daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dalam masing-masing *well plate* dengan berbagai konsentrasi (10%, 20%, dan 30%), diberikan *chlorhexidin gluconate* 0,2% gel sebagai kontrol positif sebanyak 500 µl, dan *aquades* sebagai kontrol negatif.

Inkubasi *well plate* pada suhu 37°C selama 48 jam. Setelah diinkubasi, cuci *well plate* dengan *aquadest steril*. Kemudian dilakukan pewarnaan dengan 125 µL *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 µL etanol 96% ditambahkan ke *plate* dan diinkubasi 15 menit pada suhu ruang. Lakukan analisa hasil sampel dengan alat *microplate reader (ELISA-reader)* dengan panjang gelombang 540 nm (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.
- c. Medium *well plate* yang telah disterilkan.

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.
- c. Medium *well plate* yang terkontaminasi lingkungan.

3.9 Tempat dan Waktu Penelitian

3.9.1 Tempat Penelitian

- a. Pembuatan formulasi nanoemulsi menjadi nanoemulsi gel :
Laboratorium Bionanoteknologi Departemen Biologi Universitas Diponegoro
- b. Uji pertumbuhan biofilm dari bakteri *Staphylococcus aureus* :
Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

3.9.2 Waktu Penelitian

Waktu Penelitian dilakukan dalam urung waktu 14 hari.

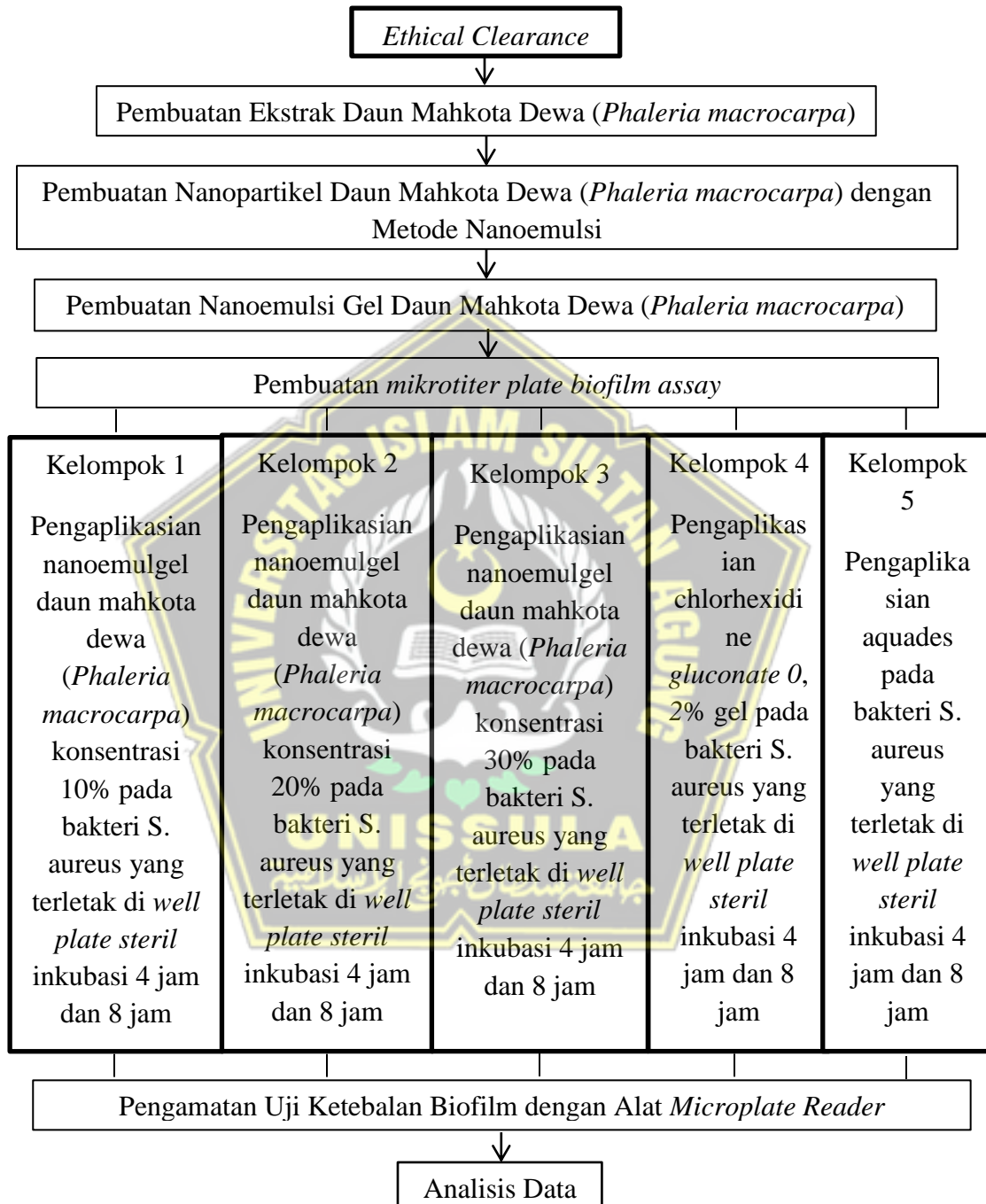
3.10 Analisis Hasil

Berdasarkan jumlah sampel penelitian maka dilakukan uji normalitas data menggunakan uji *Spahiro Wilk*. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas dengan menggunakan *Levene Test* yang menunjukkan nilai $p < 0,05$ dimana data

tidak homogen. Data dinyatakan bervariasi tidak sama dan tidak normal karena interpretasi hasil bernilai $p < 0,05$. Data yang didapatkan dari post tes perlakuan dicari perbandingan ke sepuluh kelompok tersebut, kemudian dilakukan uji non parametrik menggunakan uji *Kruskal-Wallis* untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan efektivitas dari berbagai konsentrasi nanoemulsi gel daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap kekebalan biofilm.



3.11 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Alur Penelitian

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini mengenai efektivitas nanoemulsi gel daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap ketebalan biofilm bakteri *Staphylococcus aureus* dengan masing-masing konsentrasi 10%, 20%, dan 30%, serta kontrol positif *chlorhexidine gluconate* 0,2% gel dan kontrol negatif *aquades* dengan jumlah sampel sebanyak 30 sampel. *Microplate* yang telah dilapisi saliva diinkubasi dan diberi kultur bakteri *Staphylococcus aureus* kemudian dilakukan pengamatan jam ke 4 dan 8. Masing-masing *microplate* ditambahkan nanoemulsi gel daun mahkota dewa berbagai konsentrasi dan *chlorhexidine gluconate* 0,2% gel sebagai kontrol positif, serta *aquades* sebagai kontrol negatif yang 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)

| Kelompok | Sampel | | | Rerata |
|--------------------------------------|--------|-------|-------|--------|
| | 1 | 2 | 3 | |
| Nanoemulsi gel konsentrasi 10% 4 jam | 3,132 | 2,068 | 1,619 | 2,273 |
| Nanoemulsi gel konsentrasi 10% 8 jam | 3,269 | 3,264 | 2,355 | 2,963 |
| Nanoemulsi gel konsentrasi 20% 4 jam | 2,610 | 1,785 | 1,767 | 2,054 |
| Nanoemulsi gel konsentrasi 20% 8 jam | 3,161 | 3,100 | 2,402 | 2,888 |
| Nanoemulsi gel konsentrasi 30% 4 jam | 2,256 | 2,243 | 1,372 | 1,957 |
| Nanoemulsi gel konsentrasi 30% 8 jam | 2,990 | 2,758 | 2,028 | 2,592 |
| Kontrol + 4 jam | 2,518 | 2,437 | 2,288 | 2,414 |
| Kontrol + 8 jam | 3,356 | 3,346 | 3,296 | 3,333 |

| | | | | |
|-----------------|-------|-------|-------|-------|
| Kontrol – 4 jam | 3,073 | 2,966 | 2,857 | 2,965 |
| Kontrol – 8 jam | 3,284 | 3,221 | 3,173 | 3,226 |

Berdasarkan tabel 4.1 hasil pembacaan nilai dari *optical density* biofilm *Staphylococcus aureus* didapatkan nilai rerata kelompok nanoemulsi gel daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) konsentrasi 30% dalam inkubasi 4 jam nilai *optical density* paling rendah dengan nilai rerata 1,957 daripada kelompok yang lain. Sedangkan kelompok kontrol positif *chlorhexidine gluconate* 0,2% gel dalam inkubasi 8 jam nilai *optical density* paling tinggi dengan nilai rerata 3,333 daripada kelompok yang lain. Hasil nilai *optical density* kelompok konsentrasi 30% nanoemulsi gel daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) didapatkan nilai pada 4 jam dan 8 jam memiliki nilai paling rendah 1,957 dan 2,592 yang artinya memiliki keefektifan paling tinggi dalam menghambat ketebalan biofilm bakteri *Staphylococcus aureus*.

Tabel 4.2 Uji Normalitas dan Uji Homogenitas

| Kelompok | N | Saphiro-Wilk | Levene |
|-------------------------------|---|--------------|--------|
| | | Sig. | Sig. |
| Konsentrasi 10% (dalam 4 jam) | 3 | ,560 | ,030 |
| Konsentrasi 10% (dalam 8 jam) | 3 | ,009 | |
| Konsentrasi 20% (dalam 4 jam) | 3 | ,036 | |
| Konsentrasi 20% (dalam 8 jam) | 3 | ,138 | |
| Konsentrasi 30% (dalam 4 jam) | 3 | ,025 | |
| Konsentrasi 30% (dalam 8 jam) | 3 | ,445 | |
| Kontrol Positif (dalam 4 jam) | 3 | ,677 | |
| Kontrol Positif (dalam 8 jam) | 3 | ,298 | |
| Kontrol Negatif (dalam 4 jam) | 3 | ,990 | |
| Kontrol Negatif (dalam 8 jam) | 3 | ,851 | |

Berdasarkan data hasil yang didapatkan kemudian dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas. Uji normalitas menggunakan metode *Saphiro-Wilk* dan uji homogenitas menggunakan uji *Levene*. Uji normalitas metode *Saphiro-Wilk* didapatkan nilai beberapa kelompok seperti konsentrasi 10% dalam 8 jam, konsentrasi 20% dalam 4 jam, dan konsentrasi 30% dalam 4 jam tidak

berdistribusi normal ($p < 0,05$). Uji homogenitas dengan uji *Levene* didapatkan semua nilai yaitu $p < 0,05$ yang berarti data tidak homogen.

Tabel 4.3 Rerata Nilai Standar Deviasi dan Uji Kruskal-Wallis

| Kelompok | N | Mean | Std. Dev | Kruskal-Wallis (Sig.) |
|-------------------------------|---|-------|----------|-----------------------|
| Konsentrasi 10% (dalam 4 jam) | 3 | 2,273 | ,777 | ,088 |
| Konsentrasi 10% (dalam 8 jam) | 3 | 2,963 | ,526 | |
| Konsentrasi 20% (dalam 4 jam) | 3 | 2,054 | ,482 | |
| Konsentrasi 20% (dalam 8 jam) | 3 | 2,888 | ,422 | |
| Konsentrasi 30% (dalam 4 jam) | 3 | 1,957 | ,507 | |
| Konsentrasi 30% (dalam 8 jam) | 3 | 2,592 | ,502 | |
| Kontrol Positif (dalam 4 jam) | 3 | 2,414 | ,117 | |
| Kontrol Positif (dalam 8 jam) | 3 | 3,333 | ,032 | |
| Kontrol Negatif (dalam 4 jam) | 3 | 2,965 | ,108 | |
| Kontrol Negatif (dalam 8 jam) | 3 | 3,226 | ,056 | |

Berdasarkan hasil data Tabel 4.3 dapat disimpulkan bahwa data terdistribusi tidak normal dan tidak homogen, sehingga dilakukan uji non parametrik yaitu *Kruskal-Wallis* didapatkan nilai $p = 0,088$ sehingga nilai $p > 0,05$ yang berarti tidak terdapat perbedaan yang signifikan ketebalan biofilm pada masing-masing kelompok.

4.2 Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas nanoemulsi gel daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap ketebalan biofilm bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil nilai *optical density* (OD) menunjukkan ketebalan biofilm bakteri *Staphylococcus aureus* pada kelompok nanoemulsi gel daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) konsentrasi 10%, 20%, 30%, kelompok kontrol positif dengan *chlorhexidine gluconate* 0,2% gel, dan kelompok kontrol negatif dengan *aquades*. Nilai rerata *optical density* (OD) menunjukkan ketebalan biofilm bakteri *Staphylococcus aureus*. Semakin rendah nilai rerata *optical*

density (OD) yang diperoleh mengartikan bahwa pada kelompok perlakuan tersebut paling optimal dalam menurunkan ketebalan biofilm bakteri *Staphylococcus aureus*. Sedangkan semakin tinggi nilai rerata *optical density* (OD) yang diperoleh pada kelompok perlakuan mengartikan bahwa biofilm bakteri *Staphylococcus aureus* yang terbentuk semakin tebal.

Hasil nilai rerata *optical density* (OD) penelitian mengenai perbandingan efek antibakteri nanoemulsi gel daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dengan *chlorhexidine gluconate* 0,2% gel dan *aquades* pada biofilm bakteri *Staphylococcus aureus* didapatkan nilai konsentrasi nanoemulsi gel daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) 30% pada inkubasi 4 jam dan 8 jam paling kecil dibandingkan kelompok konsentrasi lain yaitu 1,957 dan 2,592. Hal ini dapat disimpulkan bahwa konsentrasi nanoemulsi gel daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) 30% pada inkubasi 4 jam dan 8 jam mampu menghambat pada biofilm bakteri *Staphylococcus aureus*. Sedangkan nilai rerata *optical density* (OD) kontrol positif dengan *chlorhexidine gluconate* 0,2% gel pada inkubasi 4 jam dan 8 jam menunjukkan hasil nilai lebih besar dari pada konsentrasi nanoemulsi gel daun mahkota (*Phaleria macrocarpa*) 10%,20%, dan 30% yaitu 2,414 dan 3,333.

Hasil rerata nilai *optical density* penelitian didapatkan pengurangan warna biru pada media *well-plate* setiap kenaikan konsentrasi formulasi nanoemulsi gel daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*). Penelitian mengenai nanoemulsi gel daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) konsentrasi 30% memiliki insensitas

warna yang lebih terang dibandingkan kelompok penelitian konsentrasi 10% dan 20%. Disimpulkan bahwa kelompok penelitian nanoemulsi gel daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) konsentrasi 30% mempunyai daya antibakteri yang terbesar dari kelompok penelitian konsentrasi yang lain (Otto, 2018).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) konsentrasi 10% sudah efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa semakin besar konsentrasi yang diberikan maka semakin besar zona hambat yang terbentuk terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (Hestiyani and Handini, 2019).

Penelitian sebelumnya mengenai ekstrak daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Eschericia coli*, *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans*, dan *Treponema denticola*, serta *multispecies* biofilm. Disimpulkan bahwa daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) mempunyai komponen antimikroba yang mempunyai kemampuan berupa zona hambat yang luas (Radita and Widyarman, 2019).

Ekstrak daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dengan konsentrasi yang tinggi mempunyai efisiensi yang besar dalam menghambat pertumbuhan bakteri pembentukan biofilm. Penelitian sebelumnya diketahui menggunakan bentuk formulasi ekstrak, tetapi pada penelitian ini menggunakan bentuk formulasi nanoemulsi gel. Formulasi nanoemulsi gel berupa partikel kecil yang berukuran 1-100 nm yang efektif untuk meningkatkan stabilitas bahan aktif dan

mudah dalam pengaplikasian (Sharma *et al.*, 2016; Imanto *et al.*, 2019; Sheikh *et al.*, 2018).

Tahapan pembentukan plak terdapat 3 tahapan, yaitu kolonisasi awal dengan pembentukan dental pelikel, kolonisasi sekunder, dan maturasi plak. Kolonisasi awal plak diawali dengan terbentuknya lapisan tipis yang merupakan kontaminasi selapis biofilm dari saliva (glikoprotein) pada permukaan jaringan dengan flora normal rongga mulut, serta debris makanan yang melekat pada permukaan gigi yang disebut pelikel (Homenta, 2016). Kolonisasi sekunder ditandai dengan terjadinya penurunan jumlah bakteri gram positif aerob dan meningkatnya jumlah bakteri gram negatif anaerob (Lesouhaitier *et al.*, 2019). Tahap maturasi plak yaitu proses metabolisme bakteri secara terus menerus dengan bertambah banyaknya jumlah koloni bakteri dari sesil menjadi bentuk motil (Lamster and Pagan, 2017; Jamal *et al.*, 2015). Apabila proses ini terjadi secara terus menerus pada kurun waktu yang cukup lama dengan kebersihan rongga mulut yang buruk disertai respon imun yang tidak adekuat akan menyebabkan terjadinya proses inflamasi pada jaringan pendukung gigi dan mengalami kerusakan (Papapanou *et al.*, 2018).

Pada fase inkubasi saliva selama 4 jam dan 8 jam didapatkan hasil nilai OD lebih rendah pada inkubasi 4 jam. Hal ini disebabkan karena pembentukan biofilm bakteri *Staphylococcus aureus* masih tahap kolonisasi awal yang mudah dihambat dengan senyawa bioaktif antibakteri dari formulasi nanoemulsi gel daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*). Sedangkan inkubasi saliva selama 8 jam

menghasilkan nilai OD lebih tinggi daripada inkubasi selama 4 jam karena pada inkubasi 8 jam pembentukan biofilm bakteri *Staphylococcus aureus* sudah melewati tahap maturasi plak sehingga daya hambat senyawa antibakteri kurang berpenetrasi ke dalam matriks biofilm. Bentuk pertahanan diri bakteri pada biofilm fase inkubasi 8 jam dengan membentuk *extracellular polymeric substances* (EPS) (Otto, 2018; Maryati dkk, 2017; Nugrahani, *et al.*, 2016).

Penelitian ini membandingkan efek antibakteri nanoemulsi gel daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dengan *chlorhexidine gluconate* 0,2% gel dan *aquades* pada biofilm bakteri *Staphylococcus aureus* yang dilihat dari hasil nilai rata-rata *optical density* (OD). *Chlorhexidine gluconate* 0,2% gel yaitu zat antimikroba berspektum luas yang merupakan salah satu *gold standard* untuk pencegahan plak dalam bidang kedokteran gigi (Isbiyantoro dkk, 2017).

Pada perlakuan kelompok nanoemulsi gel daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) konsentrasi 10%, 20%, dan 30% dengan masing-masing inkubasi 4 jam dan 8 jam mempunyai nilai rerata *optical density* (OD) lebih rendah yaitu 2,273; 2,963; 2,054; 2,888; 1,957 dan 2,592 dibandingkan perlakuan kelompok kontrol positif dengan *chlorhexidine gluconate* 0,2% gel dan *aquades* dengan masing-masing inkubasi 4 jam dan 8 jam yaitu 2,414; 3,333; 2,965 dan 3,226. Berdasarkan hasil yang didapatkan disimpulkan bahwa nanoemulsi gel daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) lebih efektif daripada *chlorhexidine gluconate* 0,2% gel dan *aquades*.

Daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) mempunyai banyak kandungan senyawa kimia yang berfungsi sebagai antibakteri, seperti flavonoid, tanin, alkaloid, triterpenoid, saponin, dan polifenol (Faried *et al.*, 2016; Hestiyani & Handini, 2019). Flavonoid merupakan senyawa yang bersifat sebagai antibakteri dan diindikasikan untuk mencegah pertumbuhan sel kanker dan anti peradangan. Flavonoid mengganggu aktivitas permeabilitas dinding bakteri, menghambat sintesis asam nukleat, menghambat metabolisme, dan menghambat fungsi membran sitoplasma yang mengakibatkan bakteri lisis dan tidak bisa berkembang, serta penghambatan quorum sensing (Radita and Widyarman, 2019).

Tanin sebagai antibakteri memiliki peran mengikat protein dalam pembentukan dinding sel bakteri dan menginaktif proses adesi sel bakteri yang mengakibatkan pembentukan terhambat dan tidak sempurna sehingga bakteri tidak dapat hidup dan akhirnya mati, serta menetralkan racun (Astriyani *et al.*, 2017). Alkaloid merupakan senyawa organik yang berfungsi sebagai detoksifikasi yang berperan untuk menetralkan racun di dalam tubuh. Alkaloid mengganggu penyusunan peptidoglikan sel bakteri sehingga dinding sel bakteri tidak terbentuk sempurna yang mengakibatkan kematian bakteri (Afnizar *et al.*, 2016).

Saponin merupakan fitonutrien yang bersifat sebagai antivirus dan antibakteri yang berperan meningkatkan daya tahan tubuh, meningkatkan sistem kekebalan tubuh, mengurangi terjadinya penggumpalan darah dan mengurangi kadar glukosa dalam darah. Saponin berperan sebagai bakteriostatik dalam mengganggu permeabilitas dinding bakteri dengan cara merusak membrane

sitoplasma yang menyebabkan bakteri lisis (Astriyani *et.al*, 2017). Polifenol merupakan senyawa anti histamin. Kandungan flavonoid, tanin, alkaloid, triterpenoid, saponin, dan polifenol memiliki sifat antiinflamasi, antioksidan dan antibakteri, serta aktivitas sitokin yang dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* (Afnizar *et al.*, 2016).

Chlorhexidine memiliki efek bakteriostatik dan efek bakterisidal terhadap semua jenis mikroba baik bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. *Chlorhexidine* mempunyai efek aktivitas yang tinggi pada bakteri gram positif. *Chlorhexidine* mempunyai nilai zona hambat yang besar pada bakteri *Staphylococcus aureus* (Kusuma *et al.*, 2019).

Mekanisme kerja *chlorhexidine* efektif dalam menghambat maupun membunuh pertumbuhan bakteri gram positif dan bakteri gram negatif karena *chlorhexidine* mempunyai molekul muatan positif (kation) dan bakteri sebagian besar bermolekul muatan negatif (anion) (Rondhianto *et al.*, 2016). Hal ini menyebabkan terjadinya perlekatan yang kuat antara *chlorhexidine* dengan membran sel bakteri, sehingga terjadi perubahan permeabilitas lingkungan membran sitoplasma pada bakteri menyebabkan keluarnya senyawa intraseluler. Sel bakteri akan mengalami kerusakan sehingga *chlorhexidine* dapat dengan mudah berpenetrasi pada seluruh permukaan plak dan menghasilkan proliferasi organisme baru, serta menyebabkan terjadinya ostolisis (Panesa *et al.*, 2018). *Chlorhexidine* adalah obat yang memiliki toksisitas rendah dan indeks terapeutik tinggi (Rondhianto *et al.*, 2016).

Penggunaan *chlorhexidine* dalam kurun waktu yang lama akan menimbulkan efek samping, seperti perubahan rasa kecap, iritasi mukosa, mulut kering, keseimbangan flora normal rongga mulut terganggu, dan perubahan warna pada gigi, lidah serta bahan tambal resin komposit (Kholisa *et al.*, 2018; Wardani *et al.*, 2018). Efek samping penggunaan *chlorhexidine* dapat diminimalis dengan tanaman tradisional seperti daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) yang efek sampingnya lebih minimal (Fajri *et al.*, 2016).

Berdasarkan hasil uji non parametrik *Kruskal-Wallis* didapatkan nilai $p=0,088$ sehingga nilai $p>0.05$ yang berarti tidak terdapat perbedaan yang signifikan ketebalan biofilm pada masing-masing kelompok nanoemulsi gel daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*). Hal ini terjadi karena kondisi lingkungan yang tidak mendukung seperti kondisi iklim, suhu, hama, dan penyakit tanaman. Kondisi lingkungan ini mempengaruhi nutrisi tanaman untuk tumbuh kembang sehingga kualitas kandungan antibakteri tanaman kurang mampu signifikan khasiatnya (Wahab *et al.*, 2020).

Faktor lain yang mempengaruhi juga berdasarkan kualitas dari nanoemulsi gel daun mahkota dewa. Kualitas dari nanoemulsi dipengaruhi berdasarkan perbandingan ekstrak dan emulsi gel yang berpengaruh pada viskositas nanoemulsi gel, tempat penyimpanan dan lama penyimpanan. Beberapa hal yang mempengaruhi zona hambat yaitu metode uji, media kultur, dan kecepatan difusi zat bakteri (Syauqi, 2018).

Keterbatasan penelitian yang telah dilaksanakan ini yaitu tidak munculnya nilai *optical density* (OD) hasil pembacaan karena terlalu pekatnya warna sampel penelitian akibat *crystal violet*. Cara mengatasi supaya hasil nilai *optical density* (OD) dapat muncul dengan cara melakukan pembilasan ulang. Penelitian yang dilakukan pada masa pandemi ini kurang intens karena protokol kesehatan yang mengharuskan menjaga jarak tetapi hal ini dapat kita atasi sehingga komunikasi masih berjalan dengan baik. Waktu penelitian yang lebih lama dikarenakan jumlah antrian penelitian banyak yang menyita waktu.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa:

- 5.1.1 Formulasi nanoemulsi gel daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) konsentrasi 10%, 20%, dan 30% efektif terhadap penurunan ketebalan biofilm bakteri *Staphylococcus aureus in vitro*.
- 5.1.2 Terdapat efek antibakteri formulasi nanoemulsi gel daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) 30% inkubasi 4 jam dan 8 jam lebih besar daripada efek antibakteri *chlorhexidine gluconate* 0,2% gel inkubasi 4 jam dan 8 jam yang dilihat dari hasil pengukuran *optical density* biofilm.
- 5.1.3 Tidak terdapat perbedaan yang signifikan perubahan ketebalan biofilm antara inkubasi 4 jam dan 8 jam pada masing-masing kelompok penelitian formulasi nanoemulsi gel daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) konsentrasi 10%, 20%, 30%, kontrol positif *chlorhexidine gluconate* 0,2% gel dan kelompok kontrol negatif *aquades* dalam menurunkan ketebalan biofilm *Staphylococcus aureus*.

5.2 Saran

Saran penulis berdasarkan penelitian yang telah dilakukan yaitu :

- 5.2.1 Perlu dilakukan pencucian kembali apabila dalam proses pembacaan hasil nilai *optical density* tidak muncul.

- 5.2.2 Perlu dilakukan kembali penelitian lebih lanjut mengenai formulasi daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dengan konsentrasi lain terhadap uji ketebalan biofilm *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.
- 5.2.3 Perlu dilakukan kembali penelitian lebih lanjut mengenai nanoemulsi gel daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap biofilm *Staphylococcus aureus* secara *in vivo*.
- 5.2.4 Perlu dilakukan kembali penelitian lebih lanjut mengenai sediaan nanoemulsi gel supaya mendapatkan bentuk sediaan sifat yang lebih stabil dengan uji stabilitas fisik.



DAFTAR PUSTAKA

- Afnizar, M., Mahdi, N. and Zuraidah. 2016. Uji Aktivitas Anti Bakteri Ekstrak Daun Mahkota Dewa *Phaleria macrocarpa* Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Prosiding Seminar Nasional Biotik 2016*. 293–300.
- Andriani, I. and Chairunnisa, F. A. 2019. Case Report Periodontitis Kronis dan Penatalaksanaan Kasus dengan Kuretase. *Insisiva Dental Journal: Majalah Kedokteran Gigi Insisiva*. 8(1). 25–30. doi: 10.18196/di.8103.
- Astriyani, W., Surjowardojo, P. and Susilorini, T. 2017. Daya Hambat Ekstrak Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* L.) dengan Pelarut Ethanol dan Aquades terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Penyebab Mastitis pada Sapi Perah. *Journal of Tropical Animal Production*. 18(2). 8–13. doi: 10.21776/ub.jtapro.2017.018.02.2.
- Asykarie, I. N. A. and Faizah, A. 2017. Perawatan Kuretase Gingiva pada Gigi Incisivus Lateral Rahang Bawah. *Jurnal Ilmu Kedokteran Gigi*. 1(1). 64–70.
- Caton, J. G. *et al.* 2018. A New Classification Scheme for Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions – Introduction and Key Changes from The 1999 Classification. *Journal of Clinical Periodontology*. 45(Suppl 20). S1–S8. doi: 10.1111/jcpe.12935.
- Chellapa, P. *et al.* 2015. Nanoemulsion and Nanoemulgel As A Topical Formulation. *IOSR Journal of Pharmacy*. 5(10). 43–47.
- Chusnayni, N. 2017. Analisis Efek Gel Ekstrak Daun Pepaya (*Carica Papaya* L.) 5% Terhadap Jumlah Sel Fibroblas pada Kasus Terhadap Jumlah Sel Fibroblas pada Kasus Pasca Gingivektomi. *Universitas Islam Sultan Agung*. 1–14.
- Eid, A. M. *et al.* 2014. Preparation, Characterization and Anti-Inflammatory Activity of *Swietenia macrophylla* Nanoemulgel. *Journal of Nanomedicine and*

- Nanotechnology*. 5(2). 1–10. doi: 10.4172/2157-7439.1000190.
- Fajri, N., Ayuzar, E. and Ezraneti, R. 2016. Efektivitas Serbuk Daun Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap Bakteri *Edwardsiella tarda*. *Acta Aquatica Aquatic Sciences Journal*. 3(1). 23–25. doi: 10.29103/aa.v1i1.299.
- Fariad, A. *et al.* 2016. Potential of Indonesian Herbal Medicine, *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl, for Targeting Multiple Malignancy Signaling Pathways: An Introductory Overview. *European Journal of Medicinal Plants*. 11(2). 1–17. doi: 10.9734/ejmp/2016/20760.
- Fiana, N. and Oktaria, D. 2016. Pengaruh Kandungan Saponin dalam Daging Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah. *Majority*. 5(4). 128–132.
- Hestiyani, R. A. N. and Handini, T. O. 2019. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Mahkota Dewa Terhadap Bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Prosiding Seminar Nasional dan Call for Papers*. 3(November). 184–190.
- Holmstrup, P., Plemons, J. and Meyle, J. 2018. Non-Plaque-Induced Gingival Diseases. *Journal of Periodontology*. 89(Suppl 1). S28–S45. doi: 10.1002/JPER.17-0163.
- Homenta, H. . 2016. Infeksi Biofilm Bakterial. *Jurnal e-Biomedik*. 4(1). 1–11. doi: 10.35790/ebm.4.1.2016.11736.
- Ibrahim, A. and Rusli, R. 2010. Potensi Antibakteri Ekstrak Diethyl Ether Daun Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl) Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus Aureus*. *Journal Of Tropical Pharmacy and Chemistry*. 1(1). 17–23. doi: 10.25026/jtpc.v1i1.4.
- Imanto, T., Prasetiawan, R. and Wikantyasning, E. R. 2019. Formulasi dan

- Karakterisasi Sediaan Nanoemulgel Serbuk Lidah Buaya (*Aloe Vera L.*)', *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*. 16(1). 28–37. doi: 10.23917/pharmacon.v16i1.8114.
- 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.
- Jamal, M. *et al.* 2018. Bacterial Biofilm and Associated Infections. *Journal of The Chinese Medical Association*. Elsevier Ltd. 81(1). 7–11. doi: 10.1016/j.jcma.2017.07.012.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. 2018. Laporan Nasional Riset Kesehatan Dasar 2018. 1–582.
- Khoiriyah, H. *et al.* 2018. Formulation of Nano Spray Gel Bonggol Pisang Kepok (*Musa balbisiana colla*). *Prosiding Annual Pharmacy Conference*. 3. 47–53.
- Kholisa *et al.* 2018. Potensi Ekstrak Buah Delima Merah (*Punica granatum Linn*) terhadap Penurunan Jumlah Koloni *Streptococcus mutans* (The Potential of Red Pomegranate Fruit Extract (*Punica granatum Linn*) on The Reduction Number of *Streptococcus mutans* colony). *e-JPK*. 6(2). 351–357.
- 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 Alkoho terhadap Daya Hambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. 8(3). 139–146.
- Lamster, I. B. and Pagan, M. 2017. Periodontal Disease and The Metabolic Syndrome. *International Dental Journal*. 67(2). 67–77. doi: 10.1111/idj.12264.

- Lesouhaitier, O. *et al.* 2019. Host Peptidic Hormones Affecting Bacterial Biofilm Formation and Virulence. *Journal of Innate Immunity*. 11. 227–241. doi: 10.1159/000493926.
- Lindhe, J. and Lang, N. P. 2015. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry Sixth Edition*. *Journal of Chemical Information and Modeling*. doi: 10.1017/CBO9781107415324.004.
- Maryati, *et al.* 2017. Potensi Hambat Permen Lunak Sirih dan Pinang terhadap Pembentukan Biofilm *Streptococcus mutans*. *Journal Teknologi dan Industri Pangan*. 28(2). 150–158.
- Ma'ruf, M. T., Setiawan and Putra, B. P. D. 2015. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) Terhadap *Staphylococcus aureus*. 16–23.
- 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.
- Mozartha, M. 2015. Hidroksiapatit dan Aplikasinya Di Bidang Kedokteran Gigi. *Cakradonya Dent Journal*. 7(2). 807–868.
- Murakami, S. *et al.* 2018. Dental Plaque-Induced Gingival Conditions. *Journal of Periodontology*. 89(Suppl 1). S17–S27. doi: 10.1002/JPER.17-0095.
- 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. 40–44.

- Novaryatiin, S., Chusna, N. and Amelia, D. 2018. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* Boerl.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Surya Medika*. 4(1). 28–35. doi: 10.33084/jsm.v4i1.153.
- Nugrahani, N., Kunarti, S. and Setyowati, L. 2016. Konsentrasi Efektif Daya Antibiofilm Kitosan Cangkang Udang Terhadap *Streptococcus viridans*. *Conservative Dentistry Jurnal*. 6(2). 47–51.
- Nurjanah S., Isbiyantoro, and Fadhillah, H. 2017. Ekstrak Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray) Sebagai Antibakteri Terhadap *Streptococcus mutans* dan *Streptococcus sanguinis*. *Jurnal Farmasi Lampung*. 7(1). 33–40.
- Otto, M. 2018. Staphylococcal Biofilms. *Journal Microbiology Spectrum*. 6(4). 3–23. doi: 10.1128/microbiolspec.gpp3-0023-2018.
- OR, A., JA, A. and OA, O. 2016. Review on *Phaleria macrocarpa* Pharmacological and Phytochemical Properties. *Drug Designing: An Open Access Journal*. 5(3). 1–6. doi: 10.4172/2169-0138.1000134.
- 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 periodontology*. 89(Suppl 1). S173–S182. doi: 10.1002/JPER.17-0721.
- Pribadi, M. *et al.* 2019. Pendampingan Komunitas Kelompok Wanita Tani Kemesu Samigaluh Kulon Progo melalui Program Pembuatan Jamu Tradisional Menjadi

- Bubuk Kristal. *Jurnal Bakti Saintek: Jurnal Pengabdian Masyarakat Bidang Sains dan Teknologi*. 3(1). 39–46. doi: 10.14421/jbs.1384.
- Radita, D. C. and Widyarman, A. S. 2019. Mahkota Dewa (God's Crown) Fruit Extract Inhibits The Formation of Periodontal Pathogen Biofilms In Vitro. *Journal of Indonesian Dental Association*. 2(2). 57–62. doi: 10.32793/jida.v2i2.404.
- Rastina, R., Sudarwanto, M. and Wientarsih, I. 2015. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kari (*Murraya koenigii*) Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas sp.* *Jurnal Kedokteran Hewan - Indonesian Journal of Veterinary Sciences*. 9(2). 185–188. doi: 10.21157/j.ked.hewan.v9i2.2842.
- Raudah, R., Zubaidah, T. and Santoso, I. 2017. Analisis Efek Gel Ekstrak Daun Pepaya (*Carica Papaya L.*) 5% Terhadap Jumlah Sel Fibroblas pada Kasus Pasca Gingivektomi Penelitian Eksperimental Laboratoris (In Vivo). *Jurnal Kesehatan Lingkungan: Jurnal Dan Aplikasi Teknik Kesehatan Lingkungan*. 14(1). 425. Doi: 10.31964/Jkl.V14i1.56.
- Rezki, S. and Pawarti. 2014. Pengaruh Ph Plak Terhadap Angka Kebersihan Gigi dan Angka Karies Gigi Anak Di Klinik Pelayanan Asuhan Poltekkes Pontianak Tahun 2013. *ODONTO : Dental Journal*. 1(2). 13–18. doi: 10.30659/odj.1.2.13-18.
- Roekistiningsih, Hapsari, D. N. and Almira, H. 2013. Efek Ekstrak Daun Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) sebagai Penghambat Pembentukan Biofilm pada *Streptococcus mutans* Secara In Vitro. *Jurnal Prodentia*. 1(1). 24–34.
- 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><https://hdl.handle.net/20.500.12380/245180><http://dx.doi.org/10.1016/j.jsames.2011.03.003><https://doi.org/10.1016/j.gr.2017.08.001><http://dx.doi.org/10.1016/j.precamres.2014.12.0>.

Rusyanti, Y. 2014. Analisis Kadar Interleukin-8 Pada Periodontitis Agresif. *IJAS*. 4(3). 154–161.

Savita, A., Sungkar, S. and Chismirina, S. 2017. Perbandingan Laju Aliran Saliva Sebelum dan Sesudah Mengunyah Permen Karet Nonxylitol dan Xylitol pada Anak Usia 10-12 Tahun (Studi pada Murid Sekolah Dasar Negeri 57 Banda Aceh). *Journal Caninus Dentistry*. 2(2). 65–70.

Sharma, A. *et al.* 2016. Nanogel - An Advanced Drug Delivery Tool: Current and Future. *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology*. 44(1). 165–177. doi: 10.3109/21691401.2014.930745.

Sheikh, T. *et al.* 2018. Nanogel : A Versatile Nano-Scopic Platform for Oral Drug Delivery. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 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 and Research Insights*. 5(6). 183–187. doi: 10.15713/ins.jcri.240.

Syauqi, A. 2018. Pengaruh Suhu Perebusan Daun Sirih Merah Terhadap Daya Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus* Penyebab Mastitis pada Sapi Perah. *MADURANCH: Jurnal Ilmu Peternakan*. 75–80.

Tirmiara, N., Arianto, A. and Bangun, H. 2018. Formulasidan Evaluasi Sediaan Nanoemulsi Gel Vitamin E (Alfa Tokoferol) Sebagai Anti-Aging Kulit. *Talenta Conference Series: Tropical Medicine (TM)*. 1(3). 099–105. doi:

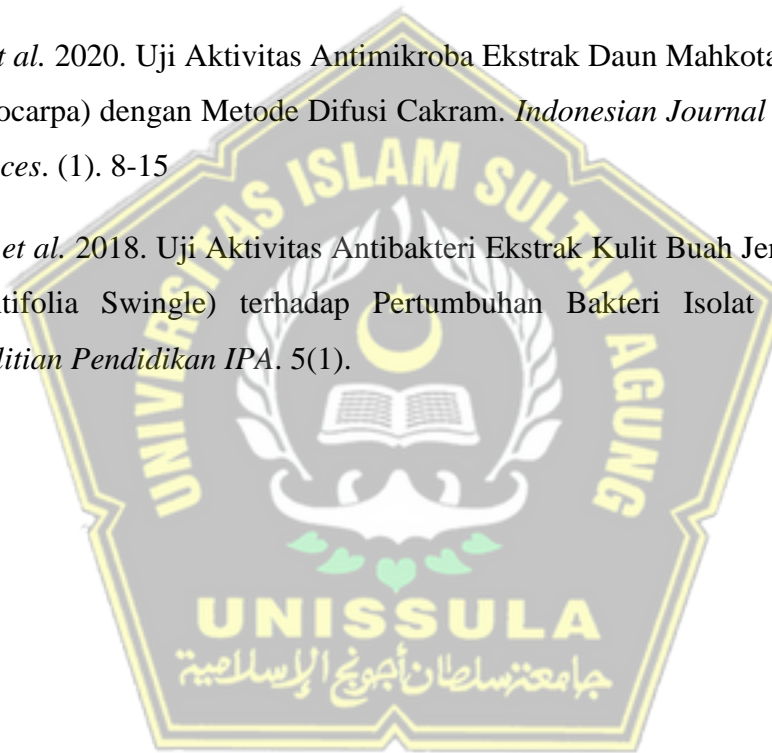
10.32734/tm.v1i3.270.

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). 1–7. doi: 10.1111/jcpe.12732.

Tyas, W. E. *et al.* 2016. Gambaran Kejadian Penyakit Periodontal pada Usia Dewasa Muda (15-30 Tahun) Di Puskesmas Srandol Kota Semarang. 4(4). 510–513.




Wahab *et al.* 2020. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) dengan Metode Difusi Cakram. *Indonesian Journal Of Fundamental Sciences*. (1). 8-15

Wardani *et al.* 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle) terhadap Pertumbuhan Bakteri Isolat Klinis. *Journal Penelitian Pendidikan IPA*. 5(1).



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 50112 Telp. (024) 6583584, Fax 024-6594366 |
| KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK DESCRIPTION OF ETHICAL APPROVAL "ETHICAL APPROVAL" No. 236/B.1-KEPK/SA-FKG/X/2020 | |
| Protokol penelitian yang diusulkan oleh : <i>The research protocol proposed by</i> | |
| Peneliti utama <i>Principal In Investigator</i> | : FENY NURSYAPUTRI |
| Pembimbing <i>Supervisor</i> | : 1. drg. Rosa Pratiwi, Sp.Perio 2. drg. Recita Indraswary, M.Sc |
| Nama Institusi <i>Name of the Institution</i> | : FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNISSULA |
| Tempat Penelitian <i>Research Place</i> | : 1. LABORATORIUM BIONANOTEKNOLOGI UNIVERSITAS DIPONEGORO 2. LABORATORIUM MIKROBIOLOGI UNIVERSITAS DIPONEGORO 3. LABORATORIUM GAKI UNIVERSITAS DIPONEGORO |
| Dengan Judul <i>Title</i> | : EFEKTIVITAS NANOEMULSI GEL DAUN MAHKOTA DEWA (<i>Phaleria macrocarpa</i>) TERHADAP KETEBALAN BIOFILM BAKTERI <i>Staphylococcus aureus</i> (<i>IN VITRO</i>) |
| Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) Standar WHO 2011, yaitu: 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah, 3) Pemerataan Beban dan Manfaat, 4) Risiko, 5) Bujukan / Eksploitasi, 6) Kerahasiaan dan Privacy, dan 7) Persetujuan Setelah Penjelasan, yang merujuk 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) Risks, 5) Persuasion /</i> | |
| <i>Guidelines This is as indicated by the fulfillment of the indicators of each standard.</i> | |
| Pernyataan Laik 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> | |
| Mengetahui, Wakil Dekan I | Semarang, 19 Oktober 2020 Ketua Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Gigi UNISSULA |
|  Dr. drg. Yavun Siti Rochmah, Sp. BM NIK. 210100058 |  Dr. Drg. Sandy Christiono, Sp.KGA 1010012 |

Lampiran 2 Hasil Analisis SPSS

Hasil Pembacaan Nilai *Optical Density*

| Kelompok | Sampel | | | Rerata |
|--------------------------------------|--------|-------|-------|--------|
| | 1 | 2 | 3 | |
| Nanoemulsi gel konsentrasi 10% 4 jam | 3,132 | 2,068 | 1,619 | 2,273 |
| Nanoemulsi gel konsentrasi 10% 8 jam | 3,269 | 3,264 | 2,355 | 2,963 |
| Nanoemulsi gel konsentrasi 20% 4 jam | 2,610 | 1,785 | 1,767 | 2,054 |
| Nanoemulsi gel konsentrasi 20% 8 jam | 3,161 | 3,100 | 2,402 | 2,888 |
| Nanoemulsi gel konsentrasi 30% 4 jam | 2,256 | 2,243 | 1,372 | 1,957 |
| Nanoemulsi gel konsentrasi 30% 8 jam | 2,990 | 2,758 | 2,028 | 2,592 |
| Kontrol + 4 jam | 2,518 | 2,437 | 2,288 | 2,414 |
| Kontrol + 8 jam | 3,356 | 3,346 | 3,296 | 3,333 |
| Kontrol - 4 jam | 3,073 | 2,966 | 2,857 | 2,965 |
| Kontrol - 8 jam | 3,284 | 3,221 | 3,173 | 3,226 |

| Descriptives | | Statistic | Std. Error | |
|---------------------------|----------------------------------|-------------|------------|--|
| formulasi 10% dalam 4 jam | Mean | 2,27300 | ,448632 | |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | ,34269 | |
| | | Upper Bound | 4,20331 | |
| | 5% Trimmed Mean | . | | |
| | Median | 2,06800 | | |
| | Variance | ,604 | | |
| | Std. Deviation | ,777053 | | |
| | Minimum | 1,619 | | |
| | Maximum | 3,132 | | |
| | Range | 1,513 | | |
| | Interquartile Range | . | | |
| | Skewness | 1,105 | 1,225 | |
| | Kurtosis | . | . | |
| formulasi 10% dalam 8 jam | Mean | 2,96267 | ,303837 | |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 1,65536 | |
| | | Upper Bound | 4,26997 | |
| | 5% Trimmed Mean | . | | |

| | | | |
|---------------------------|---|---------|---------|
| | Median | 3,26400 | |
| | Variance | ,277 | |
| | Std. Deviation | ,526261 | |
| | Minimum | 2,355 | |
| | Maximum | 3,269 | |
| | Range | ,914 | |
| | Interquartile Range | . | |
| | Skewness | -1,732 | 1,225 |
| | Kurtosis | . | . |
| formulasi 20% dalam 4 jam | Mean | 2,05400 | ,278049 |
| | 95% Confidence Interval for Lower Bound | ,85765 | |
| | Mean Upper Bound | 3,25035 | |
| | 5% Trimmed Mean | . | |
| | Median | 1,78500 | |
| | Variance | ,232 | |
| | Std. Deviation | ,481594 | |
| | Minimum | 1,767 | |
| | Maximum | 2,610 | |
| | Range | ,843 | |
| | Interquartile Range | . | |
| | Skewness | 1,729 | 1,225 |
| | Kurtosis | . | . |
| formulasi 20% dalam 8 jam | Mean | 2,88767 | ,243471 |
| | 95% Confidence Interval for Lower Bound | 1,84010 | |
| | Mean Upper Bound | 3,93524 | |
| | 5% Trimmed Mean | . | |
| | Median | 3,10000 | |
| | Variance | ,178 | |
| | Std. Deviation | ,421704 | |
| | Minimum | 2,402 | |
| | Maximum | 3,161 | |
| | Range | ,759 | |
| | Interquartile Range | . | |
| | Skewness | -1,691 | 1,225 |

| | | | |
|-----------------------------|----------------------------------|----------------------------|--------------------|
| | Kurtosis | . | . |
| formulasi 30% dalam 4 jam | Mean | 1,95700 | ,292524 |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound Upper Bound | ,69837 3,21563 |
| | 5% Trimmed Mean | . | . |
| | Median | 2,24300 | . |
| | Variance | ,257 | . |
| | Std. Deviation | ,506667 | . |
| | Minimum | 1,372 | . |
| | Maximum | 2,256 | . |
| | Range | ,884 | . |
| | Interquartile Range | . | . |
| | Skewness | -1,731 | 1,225 |
| | Kurtosis | . | . |
| formulasi 30% dalam 8 jam | Mean | 2,59200 | ,289844 |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound Upper Bound | 1,34490 3,83910 |
| | 5% Trimmed Mean | . | . |
| | Median | 2,75800 | . |
| | Variance | ,252 | . |
| | Std. Deviation | ,502024 | . |
| | Minimum | 2,028 | . |
| | Maximum | 2,990 | . |
| | Range | ,962 | . |
| | Interquartile Range | . | . |
| | Skewness | -1,325 | 1,225 |
| | Kurtosis | . | . |
| kontrol positif dalam 4 jam | Mean | 2,41433 | ,067356 |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound Upper Bound | 2,12453 2,70414 |
| | 5% Trimmed Mean | . | . |
| | Median | 2,43700 | . |
| | Variance | ,014 | . |
| | Std. Deviation | ,116663 | . |

| | | | | |
|-----------------------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
| | Minimum | | 2,288 | |
| | Maximum | | 2,518 | |
| | Range | | ,230 | |
| | Interquartile Range | | . | |
| | Skewness | | -,841 | 1,225 |
| | Kurtosis | | . | . |
| kontrol positif dalam 8 jam | Mean | | 3,33267 | ,018559 |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 3,25281 | |
| | | Upper Bound | 3,41252 | |
| | 5% Trimmed Mean | | . | |
| | Median | | 3,34600 | |
| | Variance | | ,001 | |
| | Std. Deviation | | ,032146 | |
| | Minimum | | 3,296 | |
| | Maximum | | 3,356 | |
| | Range | | ,060 | |
| | Interquartile Range | | . | |
| | Skewness | | -1,545 | 1,225 |
| | Kurtosis | | . | . |
| kontrol negatif dalam 4 jam | Mean | | 2,96533 | ,062355 |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 2,69704 | |
| | | Upper Bound | 3,23362 | |
| | 5% Trimmed Mean | | . | |
| | Median | | 2,96600 | |
| | Variance | | ,012 | |
| | Std. Deviation | | ,108002 | |
| | Minimum | | 2,857 | |
| | Maximum | | 3,073 | |
| | Range | | ,216 | |
| | Interquartile Range | | . | |
| | Skewness | | -,028 | 1,225 |
| | Kurtosis | | . | . |
| kontrol negatif dalam 8 jam | Mean | | 3,22600 | ,032140 |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 3,08771 | |

| | | | |
|---------------------|-------------|---------|-------|
| Mean | Upper Bound | 3,36429 | |
| 5% Trimmed Mean | | . | |
| Median | | 3,22100 | |
| Variance | | ,003 | |
| Std. Deviation | | ,055669 | |
| Minimum | | 3,173 | |
| Maximum | | 3,284 | |
| Range | | ,111 | |
| Interquartile Range | | . | |
| Skewness | | ,401 | 1,225 |
| Kurtosis | | . | . |

| Descriptives | | | | | |
|----------------------------------|---------------|----------------------------------|-------------|------------|---------|
| | perlakuan | | Statistic | Std. Error | |
| ketebalan biofilm | formulasi 10% | Mean | 2,61783 | ,287227 | |
| | | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 1,87949 | |
| | | | Upper Bound | 3,35617 | |
| | | 5% Trimmed Mean | | 2,63715 | |
| | | Median | | 2,74350 | |
| | | Variance | | ,495 | |
| | | Std. Deviation | | ,703560 | |
| | | Minimum | | 1,619 | |
| | | Maximum | | 3,269 | |
| | | Range | | 1,650 | |
| | | Interquartile Range | | 1,309 | |
| | | Skewness | | -,430 | ,845 |
| | | Kurtosis | | -1,920 | 1,741 |
| | | formulasi 20% | Mean | 2,47083 | ,249134 |
| 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | | 1,83041 | | |
| | Upper Bound | | 3,11125 | | |
| 5% Trimmed Mean | | | 2,47159 | | |
| Median | | | 2,50600 | | |
| Variance | | | ,372 | | |

| | | | | |
|-----------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
| | Std. Deviation | | ,610252 | |
| | Minimum | | 1,767 | |
| | Maximum | | 3,161 | |
| | Range | | 1,394 | |
| | Interquartile Range | | 1,335 | |
| | Skewness | | -,120 | ,845 |
| | Kurtosis | | -1,957 | 1,741 |
| formulasi 30% | Mean | | 2,27450 | ,232545 |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 1,67672 | |
| | | Upper Bound | 2,87228 | |
| | 5% Trimmed Mean | | 2,28489 | |
| | Median | | 2,24950 | |
| | Variance | | ,324 | |
| | Std. Deviation | | ,569617 | |
| | Minimum | | 1,372 | |
| | Maximum | | 2,990 | |
| | Range | | 1,618 | |
| | Interquartile Range | | ,952 | |
| | Skewness | | -,440 | ,845 |
| | Kurtosis | | ,292 | 1,741 |
| kontrol positif | Mean | | 2,87350 | ,207709 |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 2,33957 | |
| | | Upper Bound | 3,40743 | |
| | 5% Trimmed Mean | | 2,87922 | |
| | Median | | 2,90700 | |
| | Variance | | ,259 | |
| | Std. Deviation | | ,508781 | |
| | Minimum | | 2,288 | |
| | Maximum | | 3,356 | |
| | Range | | 1,068 | |
| | Interquartile Range | | ,949 | |
| | Skewness | | -,081 | ,845 |

| | | | | |
|-----------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
| | Kurtosis | | -3,056 | 1,741 |
| kontrol negatif | Mean | | 3,09567 | ,066193 |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 2,92551 | |
| | | Upper Bound | 3,26582 | |
| | 5% Trimmed Mean | | 3,09846 | |
| | Median | | 3,12300 | |
| | Variance | | ,026 | |
| | Std. Deviation | | ,162140 | |
| | Minimum | | 2,857 | |
| | Maximum | | 3,284 | |
| | Range | | ,427 | |
| | Interquartile Range | | ,298 | |
| | Skewness | | -,470 | ,845 |
| | Kurtosis | | -1,117 | 1,741 |

Uji Normalitas dengan *Saphiro-Wilk*

| | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|-----------------------------|---------------------------------|----|------|--------------|----|------|
| | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| formulasi 10% dalam 4 jam | ,271 | 3 | . | ,948 | 3 | ,560 |
| formulasi 10% dalam 8 jam | ,383 | 3 | . | ,754 | 3 | ,009 |
| formulasi 20% dalam 4 jam | ,378 | 3 | . | ,766 | 3 | ,036 |
| formulasi 20% dalam 8 jam | ,359 | 3 | . | ,810 | 3 | ,138 |
| formulasi 30% dalam 4 jam | ,380 | 3 | . | ,761 | 3 | ,025 |
| formulasi 30% dalam 8 jam | ,296 | 3 | . | ,918 | 3 | ,445 |
| kontrol positif dalam 4 jam | ,244 | 3 | . | ,972 | 3 | ,677 |
| kontrol positif dalam 8 jam | ,328 | 3 | . | ,871 | 3 | ,298 |
| kontrol negatif dalam 4 jam | ,175 | 3 | . | 1,000 | 3 | ,990 |
| kontrol negatif dalam 8 jam | ,202 | 3 | . | ,994 | 3 | ,851 |

Tests of Normality

| | perlakuan | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|-------------------|-----------------|---------------------------------|----|-------------------|--------------|----|------|
| | | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| ketebalan biofilm | formulasi 10% | ,268 | 6 | ,200 ⁺ | ,867 | 6 | ,216 |
| | formulasi 20% | ,203 | 6 | ,200 ⁺ | ,885 | 6 | ,293 |
| | formulasi 30% | ,180 | 6 | ,200 ⁺ | ,958 | 6 | ,801 |
| | kontrol positif | ,297 | 6 | ,107 | ,789 | 6 | ,047 |
| | kontrol negatif | ,183 | 6 | ,200 ⁺ | ,959 | 6 | ,808 |

Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variance

| | | Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|-------------------|--------------------------------------|------------------|-----|--------|------|
| ketebalan biofilm | Based on Mean | 3,197 | 4 | 25 | ,030 |
| | Based on Median | 2,910 | 4 | 25 | ,042 |
| | Based on Median and with adjusted df | 2,910 | 4 | 15,284 | ,057 |
| | Based on trimmed mean | 3,224 | 4 | 25 | ,029 |

Uji Kruskal-Wallis

Ranks

| | | N | Mean Rank |
|-------------------|-----------------|----|-----------|
| ketebalan biofilm | formulasi 10% | 6 | 15,00 |
| | formulasi 20% | 6 | 12,33 |
| | formulasi 30% | 6 | 9,00 |
| | kontrol positif | 6 | 20,17 |
| | kontrol negatif | 6 | 21,00 |
| Total | | 30 | |

Test Statistics^{a,b}

| | ketebalan biofilm |
|-------------|----------------------|
| Chi-Square | 8,095 |
| df | 4 |
| Asymp. Sig. | ,088 |



Lampiran 3 Surat Izin Penelitian

Surat Izin Penelitian Laboratorium Terpadu Bionano 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 : Feny Nursyaputri
NIM : 31101700033
Program Studi : Pendidikan Dokter Gigi
Fakultas : Kedokteran Gigi
Judul : EFEKTIVITAS NANOEMULSI GEL DAUN MAHKOTA DEWA (*Phalirea macrocarpa*) TERHADAP 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

Lampiran 4 Surat Selesai Penelitian

Surat Selesai Penelitian Laboratorium Terpadu Bionano 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 : Feny Nursyaputri

NIM : 31101700033

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 MAHKOTA DEWA (Phaleria macrocarpa) 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

Surat Selesai Penelitian Laboratorium 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 : 81/UN.7.5.4/Mikrobiologi/dok/11/2020

Yang bertanda tangan dibawah ini, menerangkan bahwa mahasiswa dengan :

Nama : Feny Nursyaputri
 Nim : 31101700033
 Fakultas : Kedokteran Gigi
 Perguruan Tinggi : Universitas Islam Sultan Agung
 Judul Skripsi : Efektivitas Nanoemulsi Gel Daun Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) 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

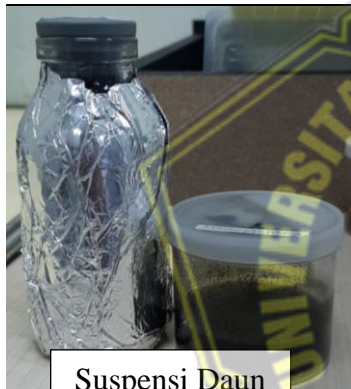
Lampiran 5 Dokumentasi Penelitian



Daun Mahkota Dewa



Formulasi nanoemulsi gel daun mahkota dewa berbagai konsentrasi



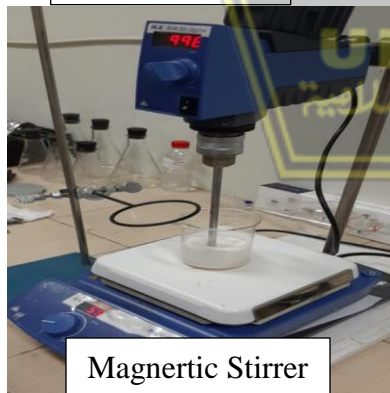
Suspensi Daun Mahkota Dewa



Neraca Analitik



Shaker



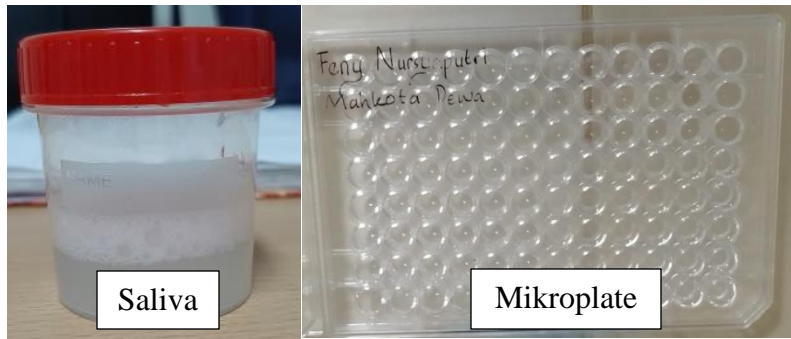
Magnertic Stirrer

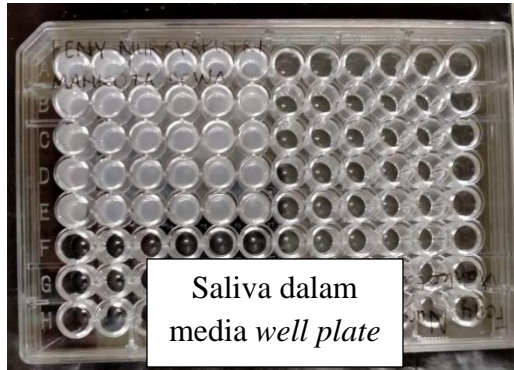


Propilen Glicol

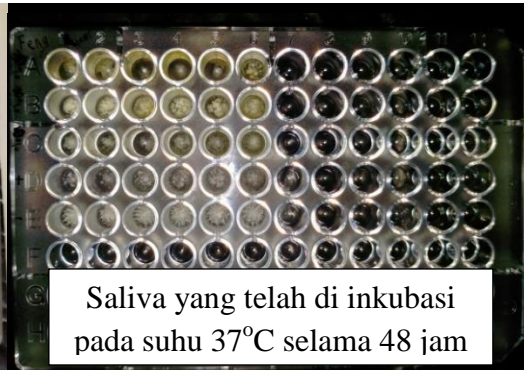


Palm Oil

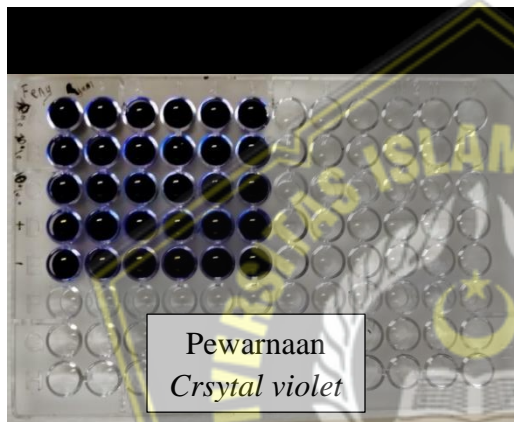




Saliva dalam media *well plate*



Saliva yang telah di inkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam



Pewarnaan *Crstyal violet*



Pembacaan dengan *ELISA-Reader*





EFEKTIVITAS NANOEMULSI GEL
DAUN MAHKOTA DEWA
(*Phaleria macrocarpa*)
TERHADAP KETEBALAN
BIOFILM BAKTERI
Staphylococcus aureus (IN
VITRO)

by Feny Nursyaputri .

Submission date: 05-May-2021 08:22PM (UTC+0700)

Submission ID: 1578654292

File name: Bismillahirrahmanirrohim_KTI_Feny_Nursyaputri_Fix.pdf (2.6M)

Word count: 14637

Character count: 96338

EFEKTIVITAS NANOEMULSI GEL DAUN MAHKOTA DEWA
(Phaleria macrocarpa) TERHADAP KETEBALAN BIOFILM
BAKTERI Staphylococcus aureus (IN VITRO)

ORIGINALITY REPORT

| | | | |
|------------------|------------------|--------------|----------------|
| 6% | 8% | 3% | 4% |
| SIMILARITY INDEX | INTERNET SOURCES | PUBLICATIONS | STUDENT PAPERS |

PRIMARY SOURCES

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | Submitted to Sultan Agung Islamic University Student Paper | 2% |
| 2 | repository.unissula.ac.id Internet Source | 1% |
| 3 | jurnal.ar-raniry.ac.id Internet Source | 1% |
| 4 | www.scribd.com Internet Source | 1% |
| 5 | ejurnal.poltekkes-tjk.ac.id Internet Source | 1% |
| 6 | repositori.uin-alauddin.ac.id Internet Source | 1% |
| 7 | exocorriges.com Internet Source | 1% |

Exclude quotes

On

Exclude matches

< 1%