

**UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK DAUN BIDARA
(*Ziziphus mauritiana*) TERHADAP BAKTERI *Fusobacterium nucleatum***

Karya Tulis Ilmiah

Untuk memenuhi sebagian persyaratan
Mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi



Diajukan oleh:

Cindy Julieta

31101800022

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG
2022**



Karya Tulis Ilmiah

**UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK DAUN BIDARA
(*Ziziphus mauritiana*) TERHADAP BAKTERI *Fusobacterium nucleatum*
Universitas Islam Sultan Agung Semarang**

Yang dipersiapkan dan disusun oleh
Cindy Julieta
31101800022


Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
Pada tanggal 24 Maret 2022
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji


Ketua Tim Penguji


Dr. drg. Sandy Christiono, Sp.KGA

Anggota Tim Penguji I


Dr. drg. Yayun Siti Rochmah, Sp.BM

Anggota Tim Penguji II


drg. Musri Amurwaningsih, M.MedEd

Semarang, 12 APR 2022
Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Islam Sultan Agung
Dekan,




Dr. drg. Yayun Siti Rochmah, Sp.BM
NTK. 210100058

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Cindy Julieta

NIM : 31101800022

Dengan ini saya menyatakan bahwa Karya Tulis Ilmiah yang berjudul :

**“UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK DAUN
BIDARA (*Ziziphus mauritiana*) TERHADAP BAKTERI *Fusobacterium
nucleatum*”**

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 yang berlaku.

Semarang, 30 Agustus 2022



(Cindy Julieta)

PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Cindy Julieta
NIM : 31101800022
Program studi : Kedokteran Gigi
Fakultas : Kedokteran Gigi
Alamat Asal : Kruing Utara II no.73A, Kec. Banyumanik, Kota Semarang
No. HP / Email : 082133115913 / cindyj@std.unissula.ac.id

Dengan ini saya menyatakan bahwa karya ilmiah berupa skripsi yang berjudul :

**“UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK DAUN
BIDARA (*Ziziphus mauritiana*) TERHADAP BAKTERI *Fusobacterium
nucleatum*”**

Menyetujui menjadi hak milik Universitas Islam Sultan Agung Semarang serta memberikan Hak Bebas Royalti Non-eksklusif untuk disimpan, dialihmediakan, dikelola dalam pangkalan data, dan dipublikasikan di internet atau media lain untuk kepentingan akademis selama tetap mencantumkan nama penulis sebagai pemilik Hak Cipta.

Pernyataan ini saya buat dengan sungguh-sungguh, apabila dikemudian hari terbukti ada pelanggaran Hak Cipta/Plagiarisme dalam karya ilmiah ini, maka segala betuk tuntutan hukum yang timbul akan saya tanggung secara pribadi tanpa melibatkan pihak Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Semarang, 30 Agustus 2022

Yang menyatakan,



(Cindy Julieta)

PRAKATA

Bismillahirrahmanirrahim

Assalamu'alaikum Wr.Wb.

Alhamdulillahirabbilalamin, segala puji syukur saya haturkan kepada Allah SWT atas segala berkah, rahmat dan hidayah-Nya sehingga saya 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 **“UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK DAUN BIDARA (*Ziziphus mauritiana*) TERHADAP BAKTERI *Fusobacterium nucleatum*”** ini tidak lepas dari bimbingan, batuan dan dukungan dari berbagai pihak yang mengenal penulis. Penulis juga merasa bahwa dalam penyusunan karya tulis ilmiah ini masih banyak kekurangan dan penulis mengucapkan terimakasih pada 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. Dr. drg. Yayun Siti Rochmah, Sp.BM selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Islam Sultan Agung Semarang dan 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..

2. drg. Musri Amurwaningsih, M.MedEd 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 sata kesabaran dan ketulusan yang diberikan.
3. Dr. drg. Sandy Christiono, Sp. KGA selaku dosen penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji, mengarahkan, menasehati, memberi masukan, memotivasi 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.
4. 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.
5. Keluarga yaitu Papa, Mama, Kakak saya Wyona Lorensia dan Randy Adrian, saudara, dan sahabat penulis Arif Firmansyah, Dessy Adhira, Dirzka Putri, Noor Aziza, Shania Dwika, Silvia Dinda dan Silvi Anggraini yang selalu mendoakan, membantu, mendukung dalam menyelesaikan karya tulis ilmiah.

6. Teman-teman sebimbangan saya Fadela Zahrafrida dan Noor Aziza yang selalu mendukung dan memberikan semangat, serta teman diskusi dan membantu dalam penelitian dan penyusunan karya tulis ilmiah.
7. Teman-teman di Fakultas Kedokteran Gigi angkatan 2018 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.
8. Asisten Laboratorium yang mendukung dan membantu saya dalam menyelesaikan karya tulis ilmiah.

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 balasan kebaikan, berkah, dan rahmat dari Allah SWT.

Wassalamua'alaikum Wr.Wb. 

Semarang, 24 Maret 2022

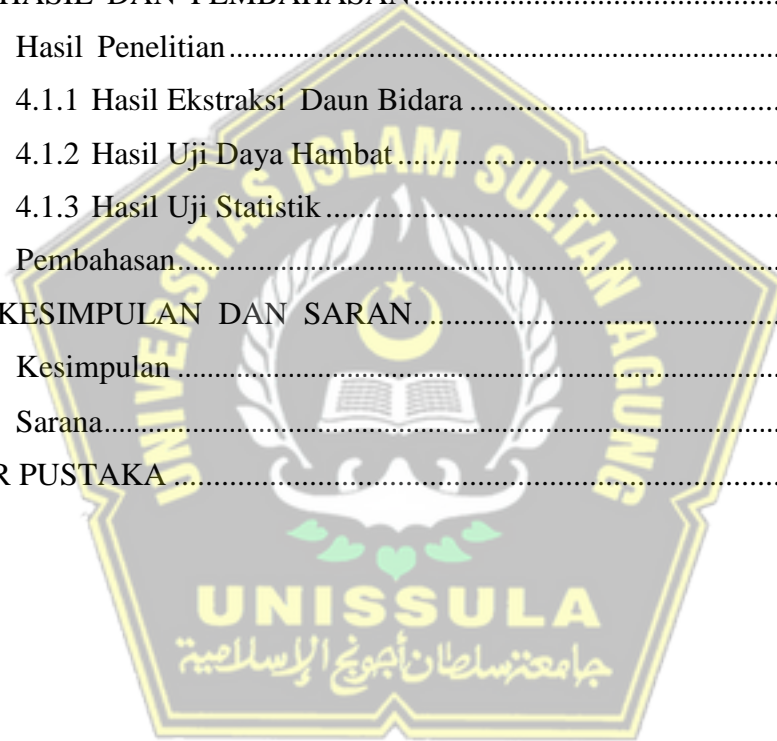
Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	i
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN.....	ii
PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	iii
PRAKATA.....	iv
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR SINGKATAN	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
ABSTRAK.....	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1 Tujuan Umum.....	3
1.3.2 Tujuan Khusus.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Manfaat Teoritis.....	4
1.4.2 Manfaat Praktis.....	5
1.5 Orisinalitas Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 <i>Fusobacterium nucleatum</i>	7
2.1.1 Taksonomi <i>Fusobacterium nucleatum</i>	7
2.1.2 Karakteristik Umum <i>Fusobacterium nucleatum</i>	7
2.1.3 Peran <i>Fusobacterium nucleatum</i> pada Penyakit Periodontal.....	9
2.2 Tanaman Bidara.....	10
2.2.1 Taksonomi Tanaman Bidara.....	10

2.2.2 Kandungan Tanaman Bidara.....	11
2.3 Pengaruh Ekstrak Daun Bidara (<i>Ziziphus mauritiana</i>) terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Fusobacterium nucleatum</i>	12
2.4 Penyakit Periodontal	14
2.4.1 Definisi Penyakit Periodontal	14
2.4.2 Klasifikasi Penyakit Periodontal	14
2.5 Kerangka Teori	19
2.6 Kerangka Konsep	20
2.7 Hipotesis	20
BAB III METODE PENELITIAN	21
3.1 Jenis Penelitian	21
3.2 Rancangan Penelitian.....	21
3.3 Variabel Penelitian	21
3.3.1 Variabel Terikat	21
3.3.2 Variabel Bebas	21
3.4 Definisi Operasional	22
3.5 Populasi dan Sampel Penelitian	23
3.5.1 Populasi Bakteri	23
3.5.2 Sampel Bakteri.....	23
3.5.3 Teknik Sampel	24
3.5.4 Besar Sampel.....	24
3.6 Kriteria Inklusi dan Kriteria Eksklusi.....	25
3.6.1 Kriteria Inklusi	25
3.6.2 Kriteria Eksklusi.....	25
3.7 Alat dan Bahan Penelitian	26
3.8 Cara Penelitian.....	27
3.8.1 <i>Ethical Clearance</i>	27
3.8.2 Sterilisasi Alat	27
3.8.3 Tahapan Ekstraksi Etanol Daun Bidara.....	27
3.8.4 Pembuatan Larutan Uji	28

3.8.5 Pembuatan Media <i>Mualler Hinton Agar</i> (MHA).....	29
3.8.6 Pembuatan Suspensi <i>Fusobacterium nucleatum</i>	30
3.8.7 Uji Efektivitas Ekstrak Daun Bidara terhadap <i>Fusobacterium nucleatum</i>	30
3.9 Tempat dan Waktu Penelitian.....	31
3.10Skema Alur Penelitian	32
3.11Analisis Hasil.....	33
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	34
4.1 Hasil Penelitian.....	34
4.1.1 Hasil Ekstraksi Daun Bidara	34
4.1.2 Hasil Uji Daya Hambat.....	34
4.1.3 Hasil Uji Statistik.....	37
4.2 Pembahasan.....	40
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	44
5.1 Kesimpulan.....	44
5.2 Sarana.....	44
DAFTAR PUSTAKA	45

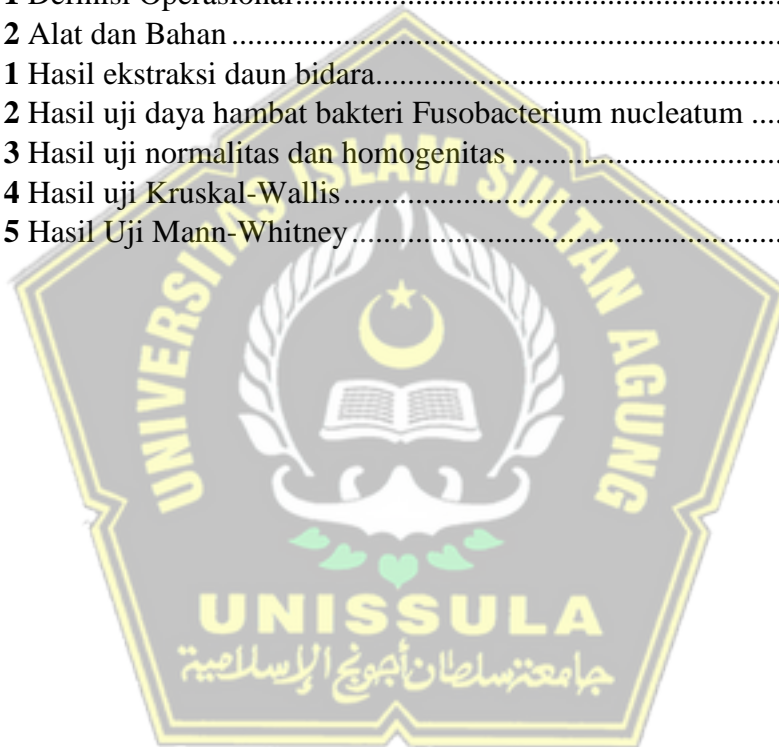


DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Fusobacterium nucleatum adalah bakteri gram-negatif anaerob berbentuk batang (Imai & Ogata, 2020)	7
Gambar 2. 2 Daun tanaman bidara (Ziziphus Mauritiana) (Abdallah et al., 2016)...	11
Gambar 2. 3 Penyakit gingiva yang disebabkan oleh plak memperlihatkan adanya inflamasi pada margin gingiva dan papila interdental (Carranza, 2018)	15
Gambar 2. 4 Pasien dengan infeksi herpes primer dengan peradangan gingivitis yang berat (Carranza, 2018)	16
Gambar 2. 5 Gambaran klinis dari periodontitis kronis dengan tingkat keparahan yang ringan terlihat dari pemeriksaan clinical attachment loss sebesar 1 – 2 mm (Carranza, 2018)	17
Gambar 2. 6 Gambaran klinis dari periodontitis dengan tingkat keparahan berat terlihat dari clinical attachment loss sebesar >5 mm (Carranza, 2018).	17
Gambar 2. 6 Gambaran klinis dari periodontitis agresif dengan tingkat keparahan berat terlihat dari pemeriksaan clinical attachment loss sebesar 3 – 13 mm dan kedalaman probing sebesar 7 – 15 mm (Carranza, 2018).....	17
Gambar 2. 7 Kerangka Teori	18
Gambar 2. 8 Kerangka Konsep	19
Gambar 3. 1 Skema Alur Penelitian	31
Gambar 4. 1 Gambaran zona terang hasil uji hasil uji daya hambat ekstrak daun bidara (Ziziphus mauritiana) terhadap bakteri Fusobacterium nucleatum pengujian pertama	35
Gambar 4. 2 Gambaran zona terang hasil uji hasil uji daya hambat ekstrak daun bidara (Ziziphus mauritiana) terhadap bakteri Fusobacterium nucleatum pengulangan kedua	35
Gambar 4. 3 Gambaran zona terang hasil uji hasil uji daya hambat ekstrak daun bidara (Ziziphus mauritiana) terhadap bakteri Fusobacterium nucleatum pengulangan ketiga	35
Gambar 4. 4 Gambaran zona terang hasil uji hasil uji daya hambat ekstrak daun bidara (Ziziphus mauritiana) terhadap bakteri Fusobacterium nucleatum pengulangan keempat	36
Gambar 4. 5 Gambaran zona terang hasil uji hasil uji daya hambat ekstrak daun bidara (Ziziphus mauritiana) terhadap bakteri Fusobacterium nucleatum pengulangan kelima	36

DAFTAR TABEL

Tabel 1. 1 Orisinalitas Penelitian.....	5
Tabel 2. 1 Faktor Virulensi bakteri <i>Fusobacterium nucleatum</i> (De Andrade et al., 2019).....	9
Tabel 2. 2 Analisis fitokimia dari ekstrak metanol daun bidara (<i>Ziziphus mauritiana</i>)	13
Tabel 2. 3 Klasifikasi Penyakit Periodontal AAP 99 (Carranza, 2018)	14
Tabel 3. 1 Definisi Operasional.....	21
Tabel 3. 2 Alat dan Bahan	25
Tabel 4. 1 Hasil ekstraksi daun bidara.....	33
Tabel 4. 2 Hasil uji daya hambat bakteri <i>Fusobacterium nucleatum</i>	34
Tabel 4. 3 Hasil uji normalitas dan homogenitas	37
Tabel 4. 4 Hasil uji Kruskal-Wallis.....	37
Tabel 4. 5 Hasil Uji Mann-Whitney.....	38



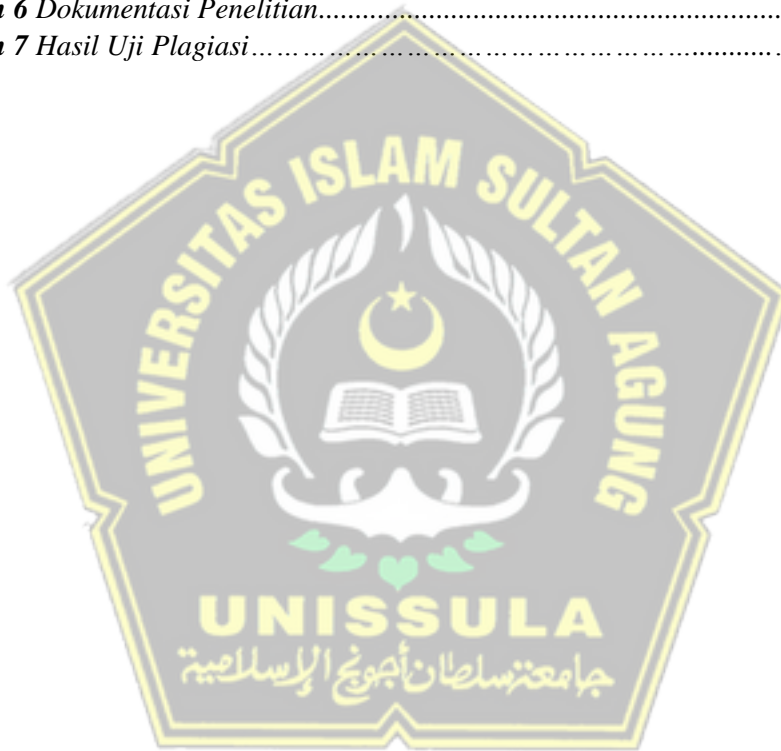
DAFTAR SINGKATAN

RISKESDAS	: Riset Kesehatan Dasar
CAL	: <i>Clinical Attachment Loss</i>
AAP	: <i>American Academy Of Periodontology</i>
HIV	: <i>Human Immunodeficiency Virus</i>
LPS	: Liposakarida
MHA	: <i>Mueller Hinton Agar</i>
BHIB	: <i>Brain Heart Infusion Broth</i>
DMSO	: <i>Dimethyl Sufoxide</i>



DAFTAR LAMPIRAN

<i>Lampiran 1 Ethical Clearance</i>	47
<i>Lampiran 2 Surat Keterangan Melaksanakan Penelitian Laboratorium Kimia UNISSULA</i>	48
<i>Lampiran 3 Surat Keterangan Melaksanakan Penelitian Laboratorium Mikrobiologi UNAIR</i>	49
<i>Lampiran 4 Sertifikat Bakteri Fusobacterium nucleatum</i>	50
<i>Lampiran 5 Hasil Analisis SPSS</i>	51
<i>Lampiran 6 Dokumentasi Penelitian</i>	55
<i>Lampiran 7 Hasil Uji Plagiasi</i>	56



ABSTRACT

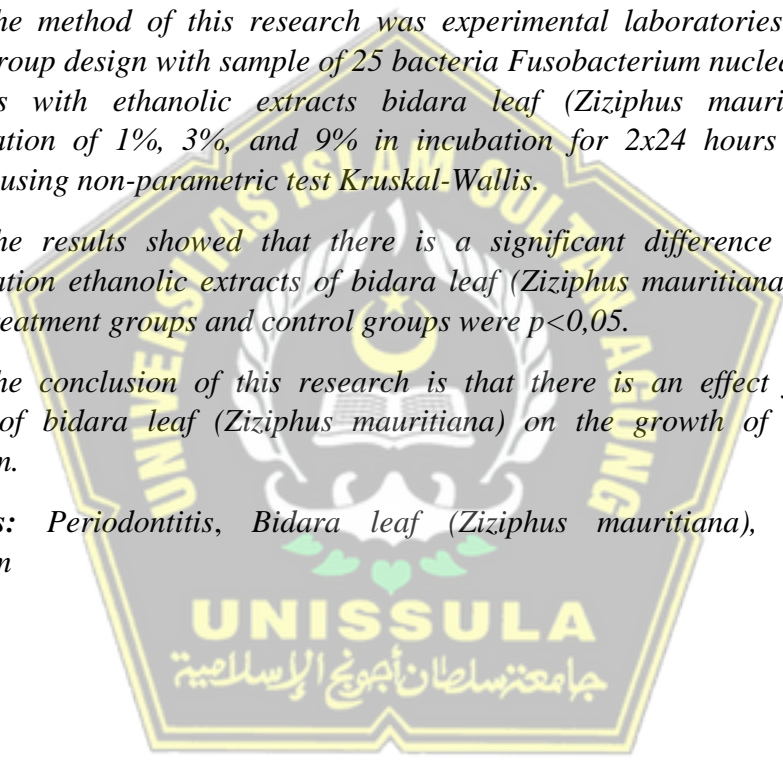
Periodontitis is an oral inflammation caused by biofilm formation on teeth and gingival tissue. The prevalence of periodontitis in Indonesia is 74,1%. One of the bacteria that causes periodontitis is Fusobacterium nucleatum which was found 85,1% in the oral cavity. The aim of this study is to determine the antibacterial effectiveness of ethanolic bidara leaf extracts on the growth of Fusobacterium nucleatum.

The method of this research was experimental laboratories post test only control group design with sample of 25 bacteria Fusobacterium nucleatum consisting 5 groups with ethanolic extracts bidara leaf (Ziziphus mauritiana) with a concentration of 1%, 3%, and 9% in incubation for 2x24 hours at 37°C, then analyzed using non-parametric test Kruskal-Wallis.

The results showed that there is a significant difference between three concentration ethanolic extracts of bidara leaf (Ziziphus mauritiana), it was found that all treatment groups and control groups were $p < 0,05$.

The conclusion of this research is that there is an effect from ethanolic extracts of bidara leaf (Ziziphus mauritiana) on the growth of Fusobacterium nucleatum.

Keywords: *Periodontitis, Bidara leaf (Ziziphus mauritiana), Fusobacterium nucleatum*



ABSTRAK

Periodontitis merupakan salah satu penyakit inflamasi rongga mulut yang disebabkan oleh pembentukan biofilm pada gigi dan jaringan gingiva. Prevalensi periodontitis di Indonesia yaitu 74,1%. Salah satu bakteri penyebab periodontitis adalah *Fusobacterium nucleatum* yang ditemukan sebanyak 85,1% pada rongga mulut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas antibakteri ekstrak etanolik daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) terhadap pertumbuhan *Fusobacterium nucleatum*.

Penelitian ini menggunakan metode *experimental laboratories post test only controlled group design* dengan sampel berjumlah 25, terdiri atas 5 kelompok yaitu 3 perlakuan ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) konsentrasi 1%, 3%, dan 9% dalam inkubasi 2x24 jam pada suhu 37°C. Kemudian dianalisis menggunakan uji non parametrik Kruskal-Wallis.

Hasil penelitian menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antara ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) konsentrasi 1%, 3%, dan 9%, didapatkan semua kelompok perlakuan dan kelompok kontrol $p < 0,05$.

Kesimpulan yang diperoleh adalah terdapat pengaruh ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Fusobacterium nucleatum*.

Kata kunci : Periodontitis, Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana*), *Fusobacterium nucleatum*

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit periodontal merupakan penyakit inflamasi yang disebabkan oleh pembentukan campuran dari biofilm pada gigi dan jaringan gingiva. Penyakit periodontal mempengaruhi semua jaringan pendukung dari gigi. Prevalensi penyakit periodontal pada semua kelompok umur di Indonesia yaitu 96,58% dan persentase kasus periodontitis di Indonesia sebesar 74,1% berdasarkan data RISKESDAS 2018 (KEMENKES, 2018). Penyakit periodontal paling umum adalah gingivitis dan periodontitis, dimana keduanya merupakan penyakit inflamasi yang diawali dan disebabkan oleh *polymicrobial biofilm* (plak gigi) yang terbentuk karena tidak adanya prosedur pembersihan gigi yang baik (Dahlen et al., 2019).

Gingivitis dan periodontitis disebabkan lebih dari 200 spesies bakteri, salah satunya yaitu *Fusobacterium nucleatum*. Bakteri ini merupakan flora normal rongga mulut dan berperan dalam terjadinya periodontitis dengan cara memproduksi berbagai zat toksik seperti butirrat, ion propionate dan ammonium. Zat-zat toksik tersebut dapat menghambat proliferasi fibroblas gingiva dan mampu menembus epitel gingiva (Hakima et al., 2018).

Fusobacterium nucleatum adalah salah satu spesies yang paling melimpah di rongga mulut, pada individu yang sehat bakteri ini ditemukan 85,1% pada rongga mulut (Carranza, 2018). Bakteri ini terlibat dalam

berbagai bentuk penyakit periodontal termasuk bentuk gingivitis reversibel sampai ke bentuk ireversibel dan pada periodontitis termasuk periodontitis kronis, periodontitis agresif terlokalisasi dan periodontitis agresif umum. Hal ini sering dikaitkan dengan infeksi endodontik seperti nekrosis pulpa dan periodontitis periapikal. Prevalensi *Fusobacterium nucleatum* meningkat sebanyak 95,7% seiring dengan keparahan penyakit, perkembangan penyakit peradangan dan kedalaman saku periodontal (Han, 2016).

Perawatan penyakit periodontal terdiri atas beberapa fase, yaitu fase *initial therapy* (non bedah) atau fase etiotropik, fase *surgical* (bedah), fase *restorative therapy*, dan fase *maintenance* (Bathla, 2017). Perawatan non bedah lainnya adalah perawatan dengan bahan antimikroba seperti menggunakan tanaman obat tradisional yang membuktikan bahan alam mampu digunakan untuk berbagai proses pengobatan manusia. Salah satu ekstrak tumbuhan yang dapat digunakan sebagai obat tradisional adalah tanaman bidara (*Ziziphus mauritiana*) (Aural Miftahul Hasanah, 2019).

Tanaman bidara merupakan salah satu tanaman yang disebut dalam Al-Quran, salah satu dalam QS. Saba ayat 16 yang berbunyi:

وَأَنْتَلِي حَمَاطٍ أُكْلِي ذَوَاتِي جَنَّتَيْنِ بِجَنَّتَيْهِمْ وَبَدَّلْنَاهُمُ الْعَرْمَ سَيْلٍ عَلَيْهِمْ فَأَرْسَلْنَا فَأَعْرَضُوا
 قَلِيلٍ سِدْرٍ مِّنْ وَشْيٍ

Artinya : “Tetapi mereka berpaling, Maka Kami datangkan kepada mereka banjir yang besar dan Kami ganti kedua kebun mereka dengan dua kebun yang ditumbuhi (pohon-pohon) yang berbuah pahit, pohon Atsl dan sedikit dari pohon Sidr (bidara)”

Penelitian sebelumnya menjelaskan tentang kegunaan tanaman bidara untuk dijadikan obat tradisional dengan efek antibakteri. Pada penelitian (Abdallah et al., 2016) menunjukkan ekstrak metanol daun bidara mengandung komponen bioaktif seperti saponin, tanin, alkaloid, dan fenol, dimana saponin merupakan komponen yang paling banyak ditemukan pada daun bidara. Hal ini dibuktikan pada penelitian (Mardhiyani & Afriani, 2021) dimana hasil dari ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) yang dibentuk dalam berbagai konsentrasi mampu membentuk zona hambat pada bakteri *Staphylococcus aureus*. Peneliti mengharapkan adanya penelitian lebih lanjut guna membuktikan pengaruh ekstrak etanol daun bidara terhadap pertumbuhan bakteri *Fusobacterium nucleatum*.

1.2 Rumusan Masalah

“Bagaimanakah pengaruh ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam) terhadap pertumbuhan bakteri *Fusobacterium nucleatum*?”

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) terhadap pertumbuhan bakteri *Fusobacterium nucleatum*.

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) terhadap pertumbuhan bakteri *Fusobacterium nucleatum* dengan konsentrasi 1%
- b. Mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) terhadap pertumbuhan bakteri *Fusobacterium nucleatum* dengan konsentrasi 3%
- c. Mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) terhadap pertumbuhan bakteri *Fusobacterium nucleatum* dengan konsentrasi 9%

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

- a. Menambah wawasan ilmu pengetahuan tentang efektivitas antibakteri dari ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) terhadap bakteri *Fusobacterium nucleatum* dengan berbagai konsentrasi.
- b. Menjadi landasan dalam pengembangan ekstrak tanaman daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) yang memiliki sifat antibakteri yang baik sebagai terapi penyakit periodontal.

1.4.2 Manfaat Praktis

- a. Bagi mahasiswa kedokteran gigi, hasil dari penelitian diharapkan dapat menjadi pengetahuan baru bagi mahasiswa kedokteran gigi dan menjadi referensi untuk penelitian lebih lanjut.
- b. Bagi dokter gigi, penggunaan daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) dengan konsentrasi dan sifat antibakteri yang baik dapat digunakan sebagai bahan preventif dan terapi penyakit periodontal.
- c. Bagi masyarakat, pengetahuan baru pada masyarakat terhadap daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) yang memiliki sifat antibakteri yang baik sebagai terapi penyakit periodontal.



1.5 Orisinalitas Penelitian

Tabel 1. 1 Orisinalitas Penelitian

Peneliti	Judul Penelitian	Perbedaan
(Al Ghasham et al., 2017)	<i>Phytochemical Screening, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Methanolic Extract of Ziziphus mauritiana Lam. Leaves Collected from Unaizah, Saudi Arabia</i>	Pada penelitian ini mengamati efektivitas antibakteri ekstrak methanol daun bidara (<i>Ziziphus mauritiana</i>) terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus cereus</i> , dan <i>Streptococcus pneumoniae</i>
(Aural Miftahul Hasanah, 2019)	Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Bidara (<i>Ziziphus Spina-Christi L.</i>) Terhadap Pertumbuhan <i>Propionibacterium Acne</i>	Pada penelitian ini mengamati efektivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun bidara (<i>Ziziphus Spinachristi L.</i>) terhadap bakteri <i>Propionibacterium Acne</i>
(Upadhyay et al., 2015)	<i>Antibacterial Potency Of Ziziphus Mauritiana (Famrhamnaceae) Roots</i>	Penelitian ini mengamati efektivitas antibakteri dari akar <i>Z. mauritiana</i> terhadap bakteri <i>E. coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
(Yahia et al., 2020)	<i>Bioactive compounds, antioxidant and antimicrobial activities of extracts from different plant parts of two Ziziphus Mill. species</i>	Penelitian membandingkan efektivitas antibakteri dari dua spesies <i>Ziziphus lotus L. (Lam.)</i> dan <i>Z. mauritiana Lam.</i> terhadap bakteri <i>Streptococcus aureus</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>S. typhimurium</i> dan <i>E. coli</i>
(Susanto & Girsang, 2020)	<i>The Effectiveness of Aloe vera Hydrogel Against Fusobacterium nucleatum</i>	Penelitian mengevaluasi efek daya hambat hidrogel <i>Aloe vera</i> terhadap bakteri <i>Fusobacterium nucleatum</i>

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Fusobacterium nucleatum*

2.1.1 Taksonomi *Fusobacterium nucleatum*

Kingdom : *Bacteria*
Subkingdom : *Negibacteria*
Filum : *Fusobacteria*
Kelas : *Fusobacteriia*
Ordo : *Fusobacteriales*
Famili : *Fusobacteriaceae*
Genus : *Fusobacterium*
Spesies : *Fusobacterium nucleatum*



Gambar 2. 1 *Fusobacterium nucleatum* adalah bakteri gram-negatif anaerob berbentuk batang (Imai & Ogata, 2020)

2.1.2 Karakteristik Umum *Fusobacterium nucleatum*

Fusobacterium merupakan bakteri gram negatif anaerob obligat yang ditemukan pada flora normal menempati rongga mulut. Nama fusobacterium mempunyai arti dari fusus yaitu poros, dan

bakterion yaitu tangkai. Sel dari bakteri ini memiliki filament sepanjang 5-25 μm , bisa juga berbentuk batang pleomorfik. Bakteri ini merupakan bakteri anaerob tetapi dapat tumbuh dengan adanya oksigen hingga 6% (Lindawati et al., 2018).

Bakteri ini ditemukan dalam saku periodontal dan gingiva krevikular yang normal. *Fusobacterium nucleatum* ini memproduksi berbagai jenis zat toksik yaitu butir, ion propionate dan ammonium yang menghambat terjadinya proliferasi fibroblas gingiva dan mampu menembus epitel gingiva serta berada dalam plak yang menyebabkan periodontitis (Hakima et al., 2018).

Fusobacterium nucleatum adalah salah satu spesies yang paling melimpah sebanyak 85,1% bakteri ini ditemukan di rongga mulut, baik pada individu yang sakit maupun individu yang sehat. Bakteri ini terlibat dalam berbagai bentuk penyakit rongga mulut dari gingivitis reversibel sampai ireversibel dan pada periodontitis terlibat dalam periodontitis kronis, periodontitis agresif terlokalisasi dan periodontitis agresif umum. Bakteri ini juga sering dikaitkan dengan infeksi endodontik seperti nekrosis pulpa dan periodontitis periapikal. Prevalensi *Fusobacterium nucleatum* meningkat seiring dengan keparahan penyakit, perkembangan penyakit peradangan dan kedalaman saku periodontal (Han, 2016).

2.1.3 Peran *Fusobacterium nucleatum* pada Penyakit Periodontal

Fusobacterium nucleatum adalah bakteri yang terlibat dalam kolonisasi sekunder pada plak, dimana bakteri ini tidak melekat pada gigi yang bersih dan sehat tetapi melekat pada bakteri lain yang sudah berada pada plak (Carranza, 2018).

Fusobacterium nucleatum merupakan bakteri penghubung atau jembatan, dimana bakteri ini mentransfer patogen periodontal ke tempat infeksi periodontal dan mengaktifkan sel kekebalan lokal, yang menghasilkan kerusakan jaringan pendukung gigi. *Fusobacterium nucleatum* menyerang jaringan inang dan menghalangi penyembuhan jaringan mulut yang rusak dengan mengeluarkan dalam jumlah besar amonia dan butirir (Kang et al., 2019).

Tabel 2. 1 Faktor Virulensi dari bakteri *Fusobacterium nucleatum* (De Andrade, 2019)

Periodontopathogenic pathogen	Faktor virulensi	Fungsi
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	Adhesi	FadA diperlukan untuk pengikat dan invasi dari sel pejamu
	LPS	Merangsang inflamasi dan resorpsi tulang
	Serine protease	Menyebabkan kerusakan jaringan pejamu dan mendegradasi IgA selagi memperoleh nutrisi
	Ammonium dan butirir	Amonium dan butirir berfungsi untuk menghambat proliferasi fibroblas gingiva

Bakteri ini juga menunjukkan faktor virulensi yang membuatnya menjadi patogen potensial dalam menyebabkan infeksi periodontal. *Fusobacterium nucleatum* memiliki beberapa faktor virulensi, termasuk adhesi (memfasilitasi adhesi dan invasi ke berbagai jenis sel, menyebabkan kolonisasi, penyebaran, dan memicu kekebalan tubuh tanggapan), endotoksin (misalnya, LPS), dan sekresi protease serin (bertanggung jawab untuk menekan kebutuhan nutrisi mikroorganisme oral lainnya) (De Andrade, 2019).

2.2 Tanaman Bidara

2.2.1 Taksonomi Tanaman Bidara

Kelas : *Magnoliopsida*

Ordo : *Rosales*

Famili : *Rhamnaceae*

Genus : *Ziziphus* Mill. جامعنا

Sinonim : *Ziziphus jujube* (L.) Lam.

Nama umum : Bidara / Indian jujube



Gambar 2. 2 Daun tanaman bidara (*Ziziphus Mauritiana*) (Abdallah et al., 2016)

2.2.2 Kandungan Tanaman Bidara

Penggunaan tanaman bidara sebagai bahan antimikroba tradisional pada beberapa penelitian membuktikan tanaman bidara dapat signifikan menghambat aktivitas bakteri. Tanaman tradisional merupakan sumber yang mengandung banyak agen antimikroba. Efek samping dan resistensi yang muncul akibat penggunaan antibiotik menarik perhatian pada penggunaan ekstrak tumbuhan dan senyawa biologis aktif pada tumbuhan. Senyawa organik yang terdeteksi pada ekstrak tanaman bidara yaitu tannin, saponin, polifenol, alkaloid, glukosida, dan flavonoid (Sivasankari & Sankaravadivoo, 2015).

Abdallah et al. (2016) meneliti tentang aktivitas antioksidan dan antibakteri dari ekstrak methanol dari daun bidara dan menunjukkan bahwa terdapat bahan-bahan bioaktif seperti saponin,

tanin, alkaloid, senyawa fenolik, terpenoid dan flavonoid terkandung dalam daun bidara. Penelitian lain menunjukkan tanaman bidara mengandung golongan senyawa flavonoid, steroid dan senyawa organik dan menunjukkan aktivitas antibakteri yang signifikan terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli* (Haeria et al., 2018).

2.3 Pengaruh Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Fusobacterium nucleatum*

Kandungan alkaloid, flavonoid, fenol, tanin dan saponin pada ekstrak daun bidara merupakan zat aktif yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Flavonoid memiliki mekanisme antimikroba dengan cara menghambat sintesis asam nukleat dan metabolisme energi. Senyawa fenol memiliki kemampuan membunuh bakteri dengan mendenaturasi protein sel yang menyebabkan terganggunya permeabilitas dinding sel dan membrane sitoplasma lalu makromolekul ion pada sel menjadi tidak seimbang, sehingga sel menjadi lisis. Senyawa tanin mempunyai aktivitas antibakteri melalui reaksi membrane sel, inaktivasi enzim dan inaktivasi fungsi materi genetik. Efek antibakteri saponin yaitu dengan mengakibatkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel. Mekanisme kerja antibakteri alkaloid yaitu mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri,

sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk sempurna dan menyebabkan kematian sel (Aural Miftahul Hasanah, 2019).

Pada penelitian Abdallah et al., (2016) menunjukkan ekstrak metanol daun bidara mengandung komponen bioaktif seperti saponin, tanin, alkaloid, dan fenol.

Tabel 2. 2 Analisis fitokimia dari ekstrak metanol daun bidara (*Ziziphus mauritiana*)

Fitokimia	Ekstrak metanol
Saponin	+++
Tanin	++
Alkaloid	++
Flavonoid	+
Terpena	+
Fenol	++

Keterangan :

+++ = ada dalam jumlah banyak, ++ = ada dalam jumlah cukup, + = ada dalam jumlah sedikit

Berbagai penelitian menunjukkan bahwa baik atau tidaknya kerja ekstrak bergantung pada senyawa aktif yang berada saat dilakukan ekstraksi. Pada penelitian Haeria et al., (2018) ditunjukkan bahwa golongan senyawa aktif antibakteri terbaik pada daun bidara yang menunjukkan zona hambat terbesar merupakan flavonoid dan senyawa organik saat diuji menggunakan fraksinasi n.heksan dan etil asetat dengan perbandingan 15:1. Penelitian lain yang menggunakan metanol sebagai pelarut menyebutkan senyawa pada tanin merupakan senyawa aktif yang baik untuk antibakteri, sedangkan senyawa

saponin lebih optimal jika bekerja sebagai antiinflamasi (Abdallah et al., 2016).

2.4 Penyakit Periodontal

2.4.1 Definisi Penyakit Periodontal

Penyakit periodontal merupakan penyakit inflamasi kronis yang disebabkan adanya bakteri yang menyerang periodonsium, yaitu jaringan penyangga gigi. Penyakit periodontal ini sering ditemukan pada pasien dengan *oral hygiene* yang buruk. Koloni bakteri yang tidak dibersihkan pada permukaan gigi dan di bawah margin gingiva dapat menyebabkan gingivitis dan akan berlanjut menjadi periodontitis (Mawaddah et al., 2017).

2.4.2 Klasifikasi Penyakit Periodontal

The American Academy Of Periodontology (AAP,2018) mengklasifikasikan penyakit periodontal dua golongan yaitu penyakit pada gingiva (gingivitis) dan penyakit pada jaringan periodontium (periodontitis).

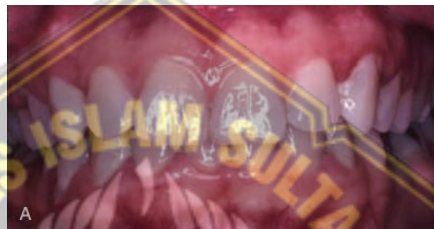
Tabel 2. 3 Klasifikasi Penyakit Periodontal AAP 99 (Carranza, 2018)
Klasifikasi Penyakit Periodontal

-
- a. Penyakit gingiva
 - i. Penyakit gingiva yang disebabkan oleh plak
 - ii. Penyakit gingiva yang disebabkan oleh non-plak
-
- b. Periodontitis kronis
 - i. Lokalisasi
 - ii. Umum
-
- c. Periodontitis agresif
 - i. Lokalisasi
 - ii. Umum
-
- d. Periodontitis karena penyakit sistemik
 - i. *Necrotizing periodontal disease*
 - ii. Abses pada periodontium
 - iii. Periodontitis yang berhubungan dengan lesi endodontik
-
- e. Kondisi kelainan perkembangan
 - i. Lokalisasi hubungan gigi karena plak yang dapat menyebabkan penyakit gingival dan periodontitis
 - ii. Kelainan mucogingival dan kondisinya mengelilingi gigi
 - iii. Kelainan mucogingival dan di daerah edentulous
 - iv. Trauma oklusal
-

a. Penyakit gingiva

Penyakit gingiva yang disebabkan oleh plak

Gingivitis merupakan respon inflamasi dari *host* akibat akumulasi plak bakteri karena kurangnya menjaga kebersihan mulut. Tanda klinis gingivitis yaitu perubahan kontur dan warna gingiva (Tetan-el et al., 2021).



Gambar 2. 3 Penyakit gingiva yang disebabkan oleh plak memperlihatkan adanya inflamasi pada *margin gingiva* dan *papila interdental* (Carranza, 2018)

Penyakit gingiva yang disebabkan oleh non-plak

Penyakit gingiva ini disebabkan oleh bakteri seperti bakteri, virus, jamur, manifestasi penyakit sistemik, dan bisa juga terjadi karena adanya alergi terhadap benda asing. Lesi ini mempunyai manifestasi terjadi ulser, nyeri, edema eritematous atau sebagai gingivitis yang sangat meradang (Tetan-el et al., 2021).



Gambar 2. 4 Pasien dengan infeksi herpes primer dengan peradangan gingivitis yang berat (Carranza, 2018)

b. Periodontitis kronis

Periodontitis kronis dikaitkan dengan penumpukan plak dan kalkulus. Laju perkembangan penyakit dapat meningkat karena faktor lokal, sistemik, atau lingkungan yang mungkin mempengaruhi interaksi host-bakteri normal. Faktor lokal mungkin mempengaruhi akumulasi plak, sedangkan penyakit sistemik (diabetes mellitus, HIV) dapat memengaruhi pertahanan *host*, dan faktor lingkungan (merokok, stres) dapat mempengaruhi respons *host* terhadap akumulasi plak (Carranza, 2018).



Gambar 2. 5 Gambaran klinis dari periodontitis kronis dengan tingkat keparahan yang ringan terlihat dari pemeriksaan *clinical attachment loss* sebesar 1 – 2 mm (Carranza, 2018)

c. Periodontitis Agresif

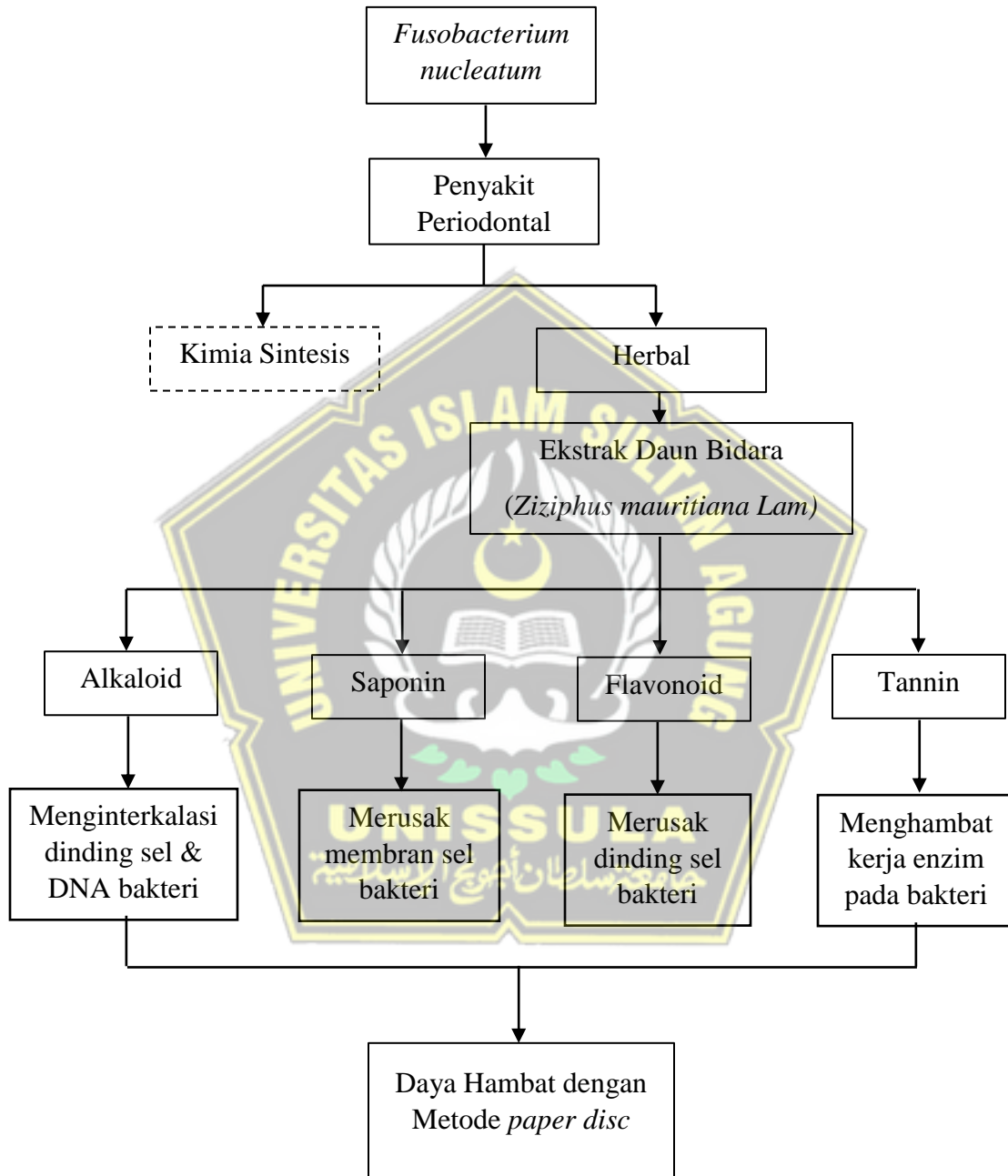
Periodontitis agresif memiliki perbedaan pada periodontitis kronis yaitu pada laju perkembangan periodontitis agresif lebih cepat. Periodontitis agresif menunjukkan tidak adanya akumulasi plak dan kalkulus yang besar tetapi dipengaruhi oleh riwayat keluarga yang memiliki periodontitis agresif juga (Carranza, 2018).



Gambar 2. 6 Gambaran klinis dari periodontitis agresif dengan tingkat keparahan berat terlihat dari pemeriksaan *clinical attachment loss* sebesar 3 – 13 mm dan kedalaman probing sebesar 7 – 15 mm (Carranza, 2018)



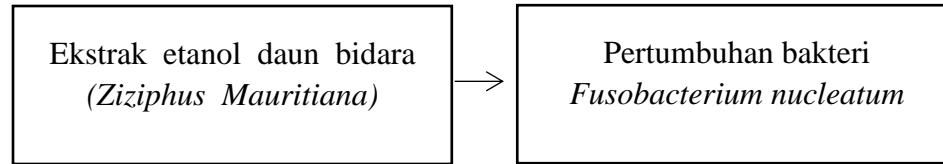
2.5 Kerangka Teori



Gambar 2.7 Kerangka Teori

: Tidak diteliti

2.6 Kerangka Konsep



Gambar 2. 8 Kerangka Konsep

2.7 Hipotesis

Ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus Mauritiana*) efektif menurunkan jumlah kolonisasi bakteri *Fusobacterium nucleatum*.



BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang akan dilaksanakan adalah penelitian analitik untuk mengetahui sebab akibat dua variabel yang akan dilakukan secara eksperimental laboratorium *in vitro*.

3.2 Rancangan Penelitian

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

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Terikat

Variabel terikat penelitian ini adalah diameter zona hambat bakteri *Fusobacterium nucleatum*

3.3.2 Variabel Bebas

Variabel dalam penelitian ini adalah

- Ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) 1%, 3% dan 9%
- Aquadest (kontrol negatif)
- Obat kumur ekstrak daun sirih (kontrol positif)

3.4 Definisi Operasional

Tabel 3. 1 Definisi Operasional

No.	Variabel	Definisi Operasional	Skala
1.	Ekstrak etanol daun bidara (<i>Ziziphus mauritiana</i>)	Ekstrak etanol daun bidara (<i>Ziziphus mauritiana</i>) adalah daun bidara (<i>Ziziphus mauritiana</i>) yang telah kering, diblender lalu dimaserasi menggunakan etanol 96% ditutup dan disimpan ditempat terhindar dari sinar matahari. Hasil maserasi disaring, lalu dipisahkan antara ampas dan filtrat. Filtrat dikumpulkan kemudian diuapkan dengan <i>rotary evaporator</i> sampai diperoleh ekstrak yang kental (Haeria et al., 2018).	Rasio
2.	Zona hambat bakteri <i>Fusobacterium nucleatum</i> .	Zona hambat bakteri yaitu daerah sekeliling <i>paper disc</i> yang tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri <i>Fusobacterium nucleatum</i> . Cawan petri yang terdapat bakteri <i>Fusobacterium nucleatum</i> diperoleh dari biakan murni Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya. Pengukuran zona hambat pertumbuhan bakteri dilakukan menggunakan jangka sorong (Utomo et al., 2018).	Rasio

3.5 Populasi dan Sampel Penelitian

3.5.1 Populasi Bakteri

- a. Populasi target

Bakteri *Fusobacterium nucleatum*

- b. Populasi terjangkau

Bakteri *Fusobacterium nucleatum* yang dikembangkan di Laboratorium mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.

3.5.2 Sampel Bakteri

Pengambilan sampel dalam penelitian ini dibagi menjadi lima kelompok, yaitu:

- a. Kelompok I : Kelompok perlakuan yang diberi ekstrak daun bidara konsentrasi 1% durasi inkubasi 2x24 jam.
- b. Kelompok II : Kelompok perlakuan yang diberi ekstrak etanol daun bidara konsentrasi 3% durasi inkubasi 2x24 jam.
- c. Kelompok III: Kelompok perlakuan yang diberi ekstrak etanol daun bidara konsentrasi 9% durasi inkubasi 2x24 jam.
- d. Kelompok IV: Kelompok kontrol positif menggunakan obat kumur ekstrak daun sirih durasi inkubasi 2x24 jam.
- e. Kelompok V: Kelompok kontrol negatif menggunakan aquadest durasi inkubasi 2x24 jam.

3.5.3 Teknik Sampel

Pengambilan sampel menggunakan metode *simple random sampling*. Populasi yang dibutuhkan sebanyak 25 sampel dimana terdapat 5 kelompok lalu masing-masing kelompok diulang sebanyak 5 kali dan menggunakan 10 cawan petri.

3.5.4 Besar Sampel

Rumus untuk menentukan besar sampel didapatkan dengan rumus *Federer* yaitu :

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

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

$$(5-1)(r-1) \geq 15$$

$$4(r-1) \geq 15$$

$$4r - 4 \geq 15$$

$$4r \geq 15 + 4$$

$$4r = 19$$

$$r = \frac{19}{4}$$

$$r = 4,75$$

$$\text{Sampel} = n = t \times r$$

$$= 5 \times 5$$

$$n = 25$$

Keterangan :

n = Jumlah bakteri yang diperlukan

t = Jumlah kelompok perlakuan

Berdasarkan rumus yang digunakan jumlah sampel keseluruhan yang dibutuhkan dalam penelitian ini ada 25, yang mana jumlah kelompok perlakuan ada 5 macam, kelompok diberi ekstrak daun bidara konsentrasi 1%, konsentrasi 3%, konsentrasi 9%, kelompok kontrol positif yaitu obat kumur dengan ekstrak daun sirih dan kelompok kontrol negatif yaitu aquadest. Tiap kelompok diinkubasi selama 2x24 jam dan dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali.

3.6 Kriteria Inklusi dan Kriteria Eksklusi

3.6.1 Kriteria Inklusi

- a. Bakteri *Fusobacterium nucleatum* yang sudah dibiakkan.
- b. Medium cawan petri yang telah disterilkan.

3.6.2 Kriteria Eksklusi

- a. Bakteri *Fusobacterium nucleatum* yang terkontaminasi lingkungan
- b. Medium cawan petri yang terkontaminasi lingkungan

3.7 Alat dan Bahan Penelitian

Tabel 3. 2 Alat dan Bahan

Alat	Bahan
a. Labu Erlenmeyer	a. Sediaan Daun Bidara (<i>Ziziphus</i>
b. Wadah Maserasi	mauritiana Lam) 300 gram
c. Batang Pengaduk	b. Etanol 96%
d. <i>Rotary Evaporator</i>	c. Isolate Murni Bakteri <i>Fusobacterium</i>
e. Corong Pisah	<i>nucleatum</i>
f. Neraca Analitik	d. <i>Mualler Hinton Agar</i> (MHA)
g. Mikropipet	e. <i>Brain Heart Infusion Broth</i> (BHIB)
h. Tabung Reaksi	f. DMSO
i. Cawan Petri	g. Kertas Whatman No. 1
j. Inkubator	h. Aquadest
k. Jarum Ose	i. Obat Kumur Ekstrak Daun Sirih
l. Autoklaf	
m. Lampu Spirtus	
n. Jangka Sorong	
o. <i>Vortex Mixer</i>	
p. <i>Anaerobic Jar</i>	

3.8 Cara Penelitian

3.8.1 *Ethical Clearance*

Ethical Clearance No.317/B.1-KEPK/SA-FKG/X/2021 dikeluarkan oleh Komite Tim Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Islam Sultan Agung Semarang pada tanggal 7 Oktober 2021.

3.8.2 Sterilisasi Alat

Proses sterilisasi alat ini dilakukan untuk menghilangkan semua jenis mikroorganisme yang tidak diinginkan pada alat penelitian (Nurrobifahmi et al., 2020). Sterilisasi menggunakan autoklaf, yang merupakan alat yang digunakan dalam mikrobiologi untuk mensterilkan berbagai macam alat dan bahan menggunakan uap air panas dengan suhu 121 °C bertekanan 2 atm selama 15 menit. Alat didiamkan hingga mencapai suhu kamar dan suhu kering sehingga alat dapat digunakan (Syah, 2013).

3.8.3 Tahapan Ekstraksi Etanol Daun Bidara

Persiapan bahan penelitian yaitu daun bidara (*Ziziphus mauritiana Lam*) yang masih segar berwarna hijau dan dipetik langsung dari pohonnya. Daun yang diambil lalu dicuci bersih dan dikeringkan dengan cara diangin anginkan. Daun bidara yang sudah kering dibuat menjadi serbuk dengan cara potong kecil-kecil kemudian diblender (Taufiq, 2018).

Maserasi diawali dengan menimbang serbuk daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) sebanyak 300 gram, kemudian dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 1 liter didalam labu erlenmeyer. Hasil maserasi disimpan ditempat yang terhindar dari sinar matahari dan didiamkan selama 3×24 jam dengan suhu ruangan sambil sesekali diaduk, 3 hari kemudian disaring lalu ampasnya dimaserasi kembali menggunakan etanol 96%. Remaserasi dilakukan sebanyak 5 kali dengan jumlah pelarut yang sama. Ampas setiap maserasi disaring menggunakan kertas whatman, lalu digabungkan menjadi satu kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak etanol daun bidara yang kental.

Konsentrasi ekstrak yang digunakan sebagai bahan uji pertumbuhan bakteri *Fusobacterium nucleatum* adalah dengan konsentrasi 1%, 3%, dan 9%.

3.8.4 Pembuatan Larutan Uji

Pembuatan sediaan larutan dengan dosis 9% sebanyak 150 ml, dengan cara dilakukan perhitungan :

$$\frac{9}{100} \times 150 = 13,5 \text{ gr}$$

Diambil ekstrak kental sebanyak 13,5 gr dengan ditambahkan DMSO sebanyak 7,5 ml (5% dari volume yang dibuat yaitu 150),

ditepatkan dengan *aquadest* sampai 150 ml, setelah itu dilakukan pengenceran dosis 3% dan 1% dengan rumus :

$$\begin{aligned} N_1 \times V_1 &= N_2 \times V_2 \\ 9\% \times V_1 &= 3\% \times 50 \text{ ml} \\ V_1 &= \frac{3\% \times 50 \text{ ml}}{9\%} \\ V_1 &= \frac{50 \text{ ml}}{3} \\ V_1 &= 16,7 \text{ ml} \end{aligned}$$

(diambil dari stok dosis 9% lalu ditepatkan dengan *aquadest* hingga 50 ml)

Pengenceran dosis 1% dengan rumus:

$$\begin{aligned} N_1 \times V_1 &= N_2 \times V_2 \\ 9\% \times V_1 &= 1\% \times 50 \text{ ml} \\ V_1 &= \frac{1\% \times 50 \text{ ml}}{9\%} \\ V_1 &= \frac{50 \text{ ml}}{9} \\ V_1 &= 5,6 \text{ ml} \end{aligned}$$

(diambil dari stok dosis 9% lalu ditepatkan dengan *aquadest* hingga 50 ml)

Konsentrasi ekstrak yang didapat untuk bahan uji pertumbuhan bakteri *Fusobacterium nucleatum* adalah konsentrasi 1%, 3%, dan 9%.

3.8.5 Pembuatan Media *Mualler Hinton Agar* (MHA)

MHA disiapkan sebanyak 5,7 g dan *aquadest* 150 ml sebagai pelarut dalam tabung erlemeyer lalu dihomogenkan kemudian MHA dipanaskan hingga mendidih, sterilkan MHA menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit setelah itu tuang ke dalam cawan

petri steril, dan diamankan hingga media memadat (Ningrum & Rahmatullah, 2020).

3.8.6 Pembuatan Suspensi *Fusobacterium nucleatum*

Fusobacterium nucleatum diambil menggunakan jarum ose steril, lalu dimasukkan ke tabung reaksi yang berisi *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB) lalu dihomogenkan dengan *vortex*. Kekeruhan bakteri disetarakan dengan 0,5 *Mcfarland* (sekitar $1-2 \times 10^8$ CFU/ml).

3.8.7 Uji Efektivitas Ekstrak Daun Bidara terhadap *Fusobacterium nucleatum*

Pengujian efektivitas antimikroba ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus mauritiana Lam*) terhadap *Fusobacterium nucleatum* dilakukan menggunakan metode difusi *paper disc* dengan media *Mualler Hinton Agar* (MHA).

Pengenceran bakteri dilakukan dengan cara mencampur 1 ose suspensi bakteri *Fusobacterium nucleatum* ke dalam tabung reaksi yang telah berisi larutan BHIB dan telah di standarisasi sesuai konsentrasi 0,5 Mc Farland (sekitar $1-2 \times 10^8$ CFU/ml) kemudian mengulaskan suspensi bakteri *Fusobacterium nucleatum* menggunakan lidi kapas steril secara merata dengan cara cawan petri diputar sebanyak 4 kali pada permukaan media MHA. Tiap *paper disc* ditetaskan 10 μ m setiap ekstrak daun bidara

konsentrasi 1%, 3%, dan 9%, kontrol negatif diteteskan aquades dan kontrol positif diteteskan dengan obat kumur daun sirih (Taufiq, 2018). Cawan petri dimasukan ke inkubator pada suhu 37°C selama 2x24 jam. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam dan pengukuran diameter zona terang (*clear zone*) yang terbentuk di sekitar lubang dengan menggunakan jangka sorong (Ningrum & Rahmatullah, 2020).

Zona hambat diukur menggunakan rumus berikut (Nurhayati et al., 2020) :

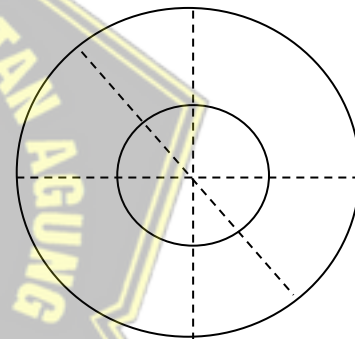
$$\frac{dv + dh + dm}{3}$$

Keterangan :

dv : diameter vertikal

dh : diameter horizontal

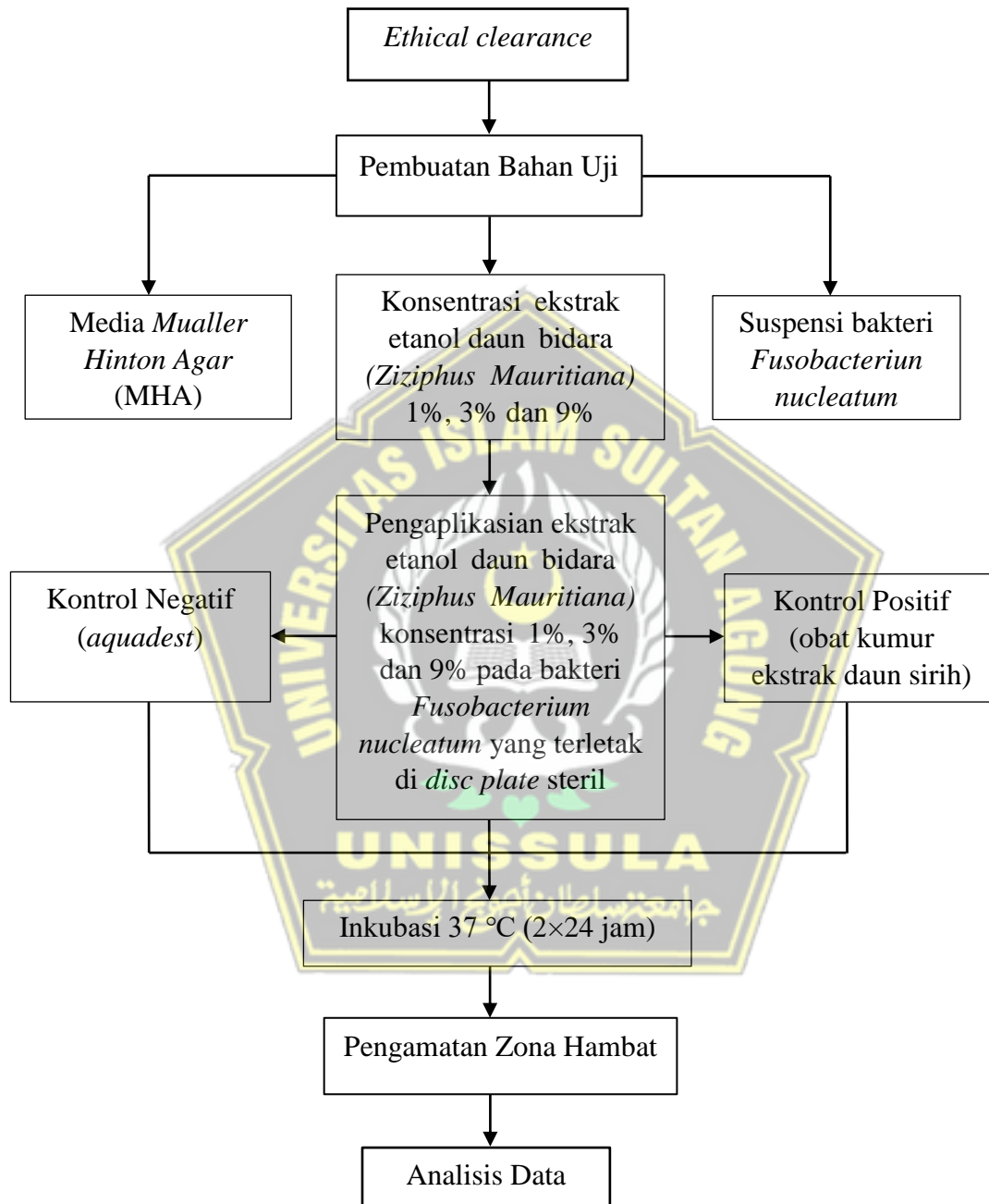
dm : diameter miring



3.9 Tempat dan Waktu Penelitian

Pembuatan ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus Mauritiana*) dilaksanakan di Laboratorium Kimia Universitas Islam Sultan Agung Semarang pada tanggal 8 Oktober 2021 dengan penanggung jawab Ibu Eva dan uji efektivitas ekstrak terhadap bakteri *Fusobacterium nucleatum* dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Airlangga Surabaya dengan waktu penelitian pada 24 Oktober 2021 dengan Bapak Eta Radhianto, A.Md sebagai penanggung jawab.

3.10 Skema Alur Penelitian



Gambar 3. 1 Skema Alur Penelitian

3.11 Analisis Hasil

Uji normalitas data menggunakan uji *Sapphiro Wilk* dan uji homogenitas menggunakan *Levenes test*, hasil data berdistribusi normal tetapi pada uji homogenitas data terdistribusi tidak homogen sehingga pengolahan data dilanjutkan dengan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis* untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan efektivitas dari berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus Mauritiana*) terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri *Fusobacterium nucleatum*.



BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

4.1.1 Hasil Ekstraksi Daun Bidara

Pengumpulan daun bidara dilakukan pada 8 Oktober 2021, didapatkan daun segar sebanyak 1,5 kg dan dilakukan sortasi untuk memilih daun yang tidak lubang, tidak busuk dan masih segar. Bahan didapatkan dari 1 pohon bidara di daerah Banyumanik karena tanah, atmosfer, cuaca, temperatur dan cahaya yang berbeda dapat merubah kandungan dari sampel yang dikumpulkan.

Hasil ekstraksi daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) sebanyak 300 gram dimaserasi menggunakan pelarut etanol sehingga memperoleh ekstrak etanol daun bidara kental. Maka diperoleh hasil ekstrak seperti pada tabel berikut :

Tabel 4. 1 Hasil ekstraksi daun bidara

Sampel	Daun bidara 300 gram
Pelarut	Etanol 96% 1 liter
Berat Ekstrak	13,5 gram
% rendamen	9 %

Konsentrasi ekstrak yang didapat untuk bahan uji pertumbuhan bakteri *Fusobacterium nucleatum* adalah konsentrasi 1%, 3%, dan 9%.

4.1.2 Hasil Uji Daya Hambat

Penelitian ini dilakukan menggunakan 10 cawan petri untuk 5 kelompok, setiap kelompok menggunakan 2 cawan petri, 1 cawan

petri digunakan untuk ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) konsentrasi 1%, 3% dan 9%, lalu 1 cawan petri digunakan untuk menguji kontrol positif dan kontrol negatif. Setiap kelompok perlakuan diulang sebanyak 5 kali. Cawan petri diinkubasi selama 2x24 jam didalam inkubator pada suhu 37°C kemudian dilakukan pengukuran menggunakan jangka sorong.

Tabel 4. 2 Hasil uji daya hambat bakteri *Fusobacterium nucleatum*

Kelompok	Percobaan				
	Uji 1	2	3	4	5
A	-	-	-	-	-
B	13,20 mm	11,80 mm	12,20 mm	13,80 mm	13,05 mm
C	20,20 mm	18,60 mm	19,80 mm	19,20 mm	20,05 mm
D	25,20 mm	24,80 mm	25,05 mm	25,60 mm	25,15 mm
E	-	-	-	-	-

Keterangan :

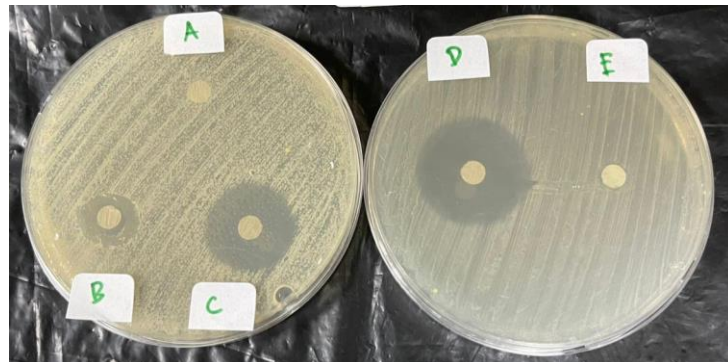
Kelompok A : Kelompok perlakuan ekstrak etanol daun bidara konsentrasi 1% durasi inkubasi 2x24 jam

Kelompok B : Kelompok perlakuan ekstrak etanol daun bidara konsentrasi 3% durasi inkubasi 2x24 jam

Kelompok C : Kelompok perlakuan ekstrak etanol daun bidara konsentrasi 9% durasi inkubasi 2x24 jam

Kelompok D : Kelompok kontrol positif menggunakan obat kumur ekstrak daun sirih durasi inkubasi 2x24 jam

Kelompok E : Kelompok kontrol negatif menggunakan aquadest durasi inkubasi 2x24 jam



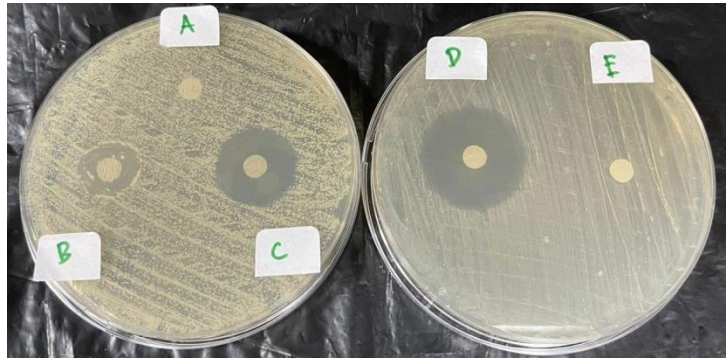
Gambar 4. 1 Gambaran zona terang uji daya hambat ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) terhadap bakteri *Fusobacterium nucleatum* pengujian pertama



Gambar 4. 2 Gambaran zona terang uji daya hambat ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) terhadap bakteri *Fusobacterium nucleatum* pengulangan kedua



Gambar 4. 3 Gambaran zona terang uji daya hambat ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) terhadap bakteri *Fusobacterium nucleatum* pengulangan ketiga



Gambar 4. 4 Gambaran zona terang uji daya hambat ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) terhadap bakteri *Fusobacterium nucleatum* pengulangan keempat



Gambar 4. 5 Gambaran zona uji daya hambat ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) terhadap bakteri *Fusobacterium nucleatum* pengulangan kelima

4.1.3 Hasil Uji Statistik

a. Uji normalitas dan uji homogenitas

Uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas varian data menggunakan *Levene test*. Uji ini dilakukan untuk mengetahui uji parametrik atau uji non parametrik yang akan digunakan.

Tabel 4. 3 Hasil uji normalitas dan homogenitas

Kelompok	Shapiro-Wilk		Levene test
	Sig.	Ket.	
I	.	Data berdistribusi tidak normal	.000
II	.776	Data berdistribusi normal	
III	.501	Data berdistribusi normal	
IV	.787	Data berdistribusi normal	
V	.	Data berdistribusi tidak normal	

Berdasarkan data hasil yang didapatkan kemudian dilakukan uji normalitas. Pada kelompok I dan V berdistribusi tidak normal karena nilai $p < 0,05$. Kelompok II didapatkan $p = 0.776$ dimana nilai $p > 0.05$ sehingga data berdistribusi normal. Kelompok III didapatkan $p = 0.501$ dimana nilai $p > 0.05$ sehingga data berdistribusi normal. Kelompok IV didapatkan $p = 0.787$ dimana nilai $p > 0.05$ sehingga data berdistribusi normal

Uji homogenitas menunjukkan Nilai p pada uji *homogenitas of variances* menggunakan uji *Levene test* = 0.000 yang berarti nilai $p < 0.05$ sehingga data berdistribusi tidak homogen maka uji statistik dilanjutkan menjadi uji statistik non parametrik dengan menggunakan uji *Kruskal wallis*.

b. Uji *Kruskal Wallis*

Tabel 4. 4 Hasil uji Kruskal-Wallis

Efektivitas_mm	
Kruskal-Wallis H	23.409
df	4
Asymp. Sig.	.000

Nilai p pada uji statistik *Kruskal-Wallis* = 0.000 ($p < 0.05$) yang berarti bahwa terdapat perbedaan bermakna di antara 2 kelompok lalu dilanjutkan menggunakan uji *Mann-Whitney*.

c. Uji *Mann-Whitney*

Hasil dari uji *Mann-Whitney* didapatkan perbedaan bermakna dengan nilai $p=0,00$ antara kelompok A dan kelompok B,C,D, dan tidak ada perbedaan yang bermakna dengan nilai $p=1,00$ antara kelompok A dan kelompok E. Kelompok B memiliki perbedaan yang bermakna dengan nilai $p=0,00$ terhadap kelompok A,C,D,E. Kelompok C memiliki perbedaan yang bermakna dengan nilai $p=0,00$ terhadap kelompok A,B,D,E. Kelompok D memiliki perbedaan yang bermakna dengan nilai $p=0,00$ terhadap kelompok A,B,C,E. Kelompok E memiliki perbedaan yang bermakna dengan terhadap kelompok B,C,D dengan nilai $p=0,00$ tetapi tidak ada perbedaan yang bermakna terhadap kelompok A dengan nilai $p=1,00$.

Tabel 4. 5 Hasil Uji Mann-Whitney

Kelompok	A	B	C	D	E
A	-	.000*	.000*	.000*	1.000
B	.000*	-	.000*	.000*	.000*
C	.000*	.000*	-	.000*	.000*
D	.000*	.000*	.000*	-	.000*
E	1.000	.000*	.000*	.000*	-

Keterangan (*) = signifikan ($p < 0,05$)

4.2 Pembahasan

Ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) dengan pelarut etanol 96% terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Fusobacterium nucleatum*, etanol 96% memiliki kemampuan untuk menarik sebagian besar senyawa bioaktif yang terdapat pada daun bidara. Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi aktivitas antibakteri yaitu tempat pengambilan sampel, jenis bakteri, konsentrasi ekstrak, kondisi inkubasi, daya difusi dan senyawa antibakteri (Sania et al., 2020). Senyawa antibakteri merupakan senyawa yang dapat mengganggu metabolisme bakteri. Senyawa antibakteri dibedakan berdasarkan aktivitasnya yaitu bakteriostatik yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri dan bakterisidal dapat membunuh bakteri (Aan Yulianingsih & Arwie, 2019).

Zona hambat merupakan zona bening (*free bacterial zone*) yang lebih terang dibandingkan dengan daerah disekitarnya. Zona bening ini terbentuk karena ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) mengandung senyawa metabolit sekunder yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Fusobacterium nucleatum*. Zona bening menunjukkan kepekaan bakteri terhadap kandungan antibakteri pada bahan uji. Zona hambat yang terbentuk di sekitar *paper disc* diukur diameter vertikal dan horizontal dengan menggunakan jangka sorong dan dinyatakan dalam satuan millimeter (mm) (Paliling et al., 2016).

Penentuan kriteria besarnya zona hambat berdasarkan kategori menurut Susanto et al, yaitu kategori lemah memiliki diameter ≤ 5 mm, kategori sedang memiliki diameter zona hambat sekitar 6-10 mm, dan diameter zona hambat yang kuat sekitar 11-20 mm (Mardhiyani & Afriani, 2021). Penelitian ini membuktikan ekstrak daun bidara memiliki senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Fusobacterium nucleatum* karena terbentuknya zona hambat pada permukaan media yang ditumbuhi biakan *Fusobacterium nucleatum* (Aan Yulianingsih & Arwie, 2019).

Hasil penelitian menunjukkan peningkatan efektivitas antibakteri dari rata-rata diameter hambat yang dihasilkan pada konsentrasi 1% adalah 0 mm yang artinya sangat tidak poten dalam menghambat pertumbuhan bakteri, pada konsentrasi 3% adalah 12,81 mm yang artinya pada konsentrasi ini ekstrak daun bidara kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri, dan pada konsentrasi 9% adalah 19,57 mm yang artinya pada konsentrasi ini ekstrak daun bidara sangat kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Konsentrasi ekstrak 1% tidak ditemukan adanya efek antibakteri dan konsentrasi ekstrak uji 9% memiliki daya hambat paling besar, hal ini disebabkan karena semakin pekat konsentrasi ekstrak dapat mempengaruhi sifat antimikroba dan meningkatkan kandungan senyawa metabolit sekunder sehingga kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan mikroba juga semakin besar (Taufiq, 2018).

Daya hambat konsentrasi 3% dan konsentrasi 9% dikategorikan kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri hal ini karena banyaknya senyawa aktif yang berada pada daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) yaitu alkaloid, terpenoid, tannin, flavonoid, dan saponin. Saponin akan mengganggu tegangan permukaan dinding sel lalu zat antibakteri akan masuk dengan mudah kedalam sel dan akan mengganggu metabolisme bakteri. Mekanisme kerja alkaloid dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk sempurna. Flavonoid bekerja sebagai antimikroba dengan cara mendenaturasi protein sehingga mengakibatkan berhentinya aktivitas metabolisme protein bakteri. Mekanisme tanin sebagai antibakteri adalah dengan merusak membran sel bakteri. Mekanisme terpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat mengakibatkan rusaknya protein yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri dan mengakibatkan kekurangan nutrisi pada bakteri (Aural Miftahul Hasanah, 2019; Sania et al., 2020).

Jenis bakteri merupakan faktor yang dapat mempengaruhi aktivitas antibakteri selain konsentrasi, dimana pada jurnal Taufiq (2018) yang merupakan jurnal acuan saya menunjukkan konsentrasi 1% mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* sebesar

11,33 mm sedangkan pada *Fusobacterium nucleatum* konsentrasi 1% tidak ditemukan adanya efek antibakteri. Perbedaan ini dikarenakan bedanya jenis bakteri yang digunakan, *Escherecia coli* dan *Fusobacterium nucleatum* merupakan bakteri gram negatif tetapi dinding sel *Fusobacterium nucleatum* memiliki fosfolipid dan porin yang lebih tinggi sehingga permeabilitas bakteri juga tinggi sehingga mengakibatkan bakteri *Fusobacterium nucleatum* lebih sulit ditembus oleh senyawa antibakteri (Pargaputri et al., 2017).

Ekstrak etanol daun bidara memiliki kemampuan yang baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Fusobacterium nucleatum* ditunjukkan dengan hasil olah data penelitian menggunakan uji *Kruskall-Wallis* menunjukkan aktivitas yang antibakteri *Fusobacterium nucleatum* cukup signifikan sebesar 0,00 ($p < 0,05$) sehingga memperlihatkan terdapat perbedaan yang signifikan tiap-tiap konsentrasi ekstrak etanol daun bidara.

Keterbatasan pada penelitian adalah konsentrasi uji yang kurang variatif dan larutan uji berbentuk cair sehingga pengukuran zona hambat hanya dapat dilakukan menggunakan metode difusi disk, dimana jika menggunakan metode difusi sumuran dapat menghasilkan zona hambat yang lebih tinggi karena larutan lebih homogen dan adanya proses osmolaritas yang menyeluruh (Khusuma et al., 2019; Haryati et al., 2017).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari hasil penelitian mengenai efektivitas ekstrak etanolik daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) terhadap bakteri *Fusobacterium nucleatum* adalah :

1. Ekstrak etanolik daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) konsentrasi 1% tidak efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Fusobacterium nucleatum in vitro*
2. Ekstrak etanolik daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) konsentrasi 3% dan 9% efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Fusobacterium nucleatum in vitro*
3. Terdapat perbedaan yang signifikan antara konsentrasi 1%, 3% dan 9% pada semua kelompok percobaan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Fusobacterium nucleatum*

5.2 Saran

Saran penulis berdasarkan penelitian yang telah dilakukan:

1. Perlu dilakukan kembali penelitian lebih lanjut mengenai efektivitas antibakteri daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) dengan menggunakan metode difusi sumuran terhadap pertumbuhan bakteri *Fusobacterium nucleatum* secara *in vitro*.
2. Perlu dilakukan kembali penelitian lebih lanjut mengenai efektivitas antibakteri ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) terhadap pertumbuhan bakteri *Fusobacterium nucleatum* secara *in vivo*.

DAFTAR PUSTAKA

- Aan Yulianingsih, & Arwie, D. (2019). *Uji Bioaktivitas Ekstrak Daun Bidara Bidara (Ziziphus Mauritiana Lam) Terhadap Pertumbuhan Staphylococcus Aureus*. Jurnal Kesehatan Panrita Husada, 4(1), 49–57.
- Abdallah, E. M., Elsharkawy, E. R., & Ed-dra, A. (2016). *Biological activities of methanolic leaf extract of Ziziphus mauritiana*. Bioscience Biotechnology Research Communications, 9(4).
- Al Ghasham, A., Al Muzaini, M., Ahmad Qureshi, K., Osman Elhassan, G., Ahmed Khan, R., Ayesha Farhana, S., Hashmi, S., El-Agamy, E., & Abdallah, W. E. (2017). *Phytochemical Screening, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Methanolic Extract of Ziziphus mauritiana Lam. Leaves Collected from Unaizah, Saudi Arabia*. International Journal of Pharmaceutical Research & Allied Sciences, 6(3), 33–46.
- Aural Miftahul Hasanah, N. M. C. A. R. (2019). *UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN BIDARA (Ziziphus Spina-Christi L.) TERHADAP PERTUMBUHAN Propionibacterium acne*. Pharmaceutical Journal of Islamic Pharmacy, 3(1), 31.
- Bathla, S. (2017). *Textbook of Periodontics* (1st ed.). India: Jaypee Brothes Medical Publishers.
- Carranza, N. T. (2018). *Newman and Carranza Clinical Periodontology*. In Elsevier.
- Dahlen, G., Basic, A., & Bylund, J. (2019). *Importance of Virulence Factors for the Persistence of Oral Bacteria in the Inflamed Gingival Crevice and in the Pathogenesis of Periodontal Disease*. Journal of Clinical Medicine, 8(1339), 35–48.
- De Andrade, K. Q., Almeida-Da-Silva, C. L. C., & Coutinho-Silva, R. (2019). *Immunological pathways triggered by porphyromonas gingivalis and fusobacterium nucleatum: Therapeutic possibilities? Mediators of Inflammation, 2019*.
- Haeria, H., Dhuha, N., & Habra, R. (2018). *Aktivitas Antibakteri Fraksi-Fraksi Daun Bidara (Ziziphus mauritiana)*. Ad-Dawaa' Journal of Pharmaceutical Sciences, 1(2).
- Hakima, A. N., Ermawati, T., & Harmono, H. (2018). *Daya Hambat Ekstrak Biji Kopi Robusta (Coffea robusta) terhadap Pertumbuhan Fusobacterium nucleatum*. Stomatognatic, 15(2), 43.
- Han, Y. W. (2016). *Fusobacterium nucleatum: a commensal-turned pathogen NIH Public Access*. Curr Opin Microbiol, 141–147.

- Haryati, S. D., Darmawati, S., & Wilson, W. (2017). *Perbandingan Efek Ekstrak Buah Alpukat (Persea americana Mill) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Pseudomonas aeruginosa dengan Metode Disk dan Sumuran*. Prosiding Seminar Nasional Publikasi Hasil-Hasil Penelitian Dan Pengabdian Masyarakat Universitas Muhammadiyah Semarang, September, 348–352.
- Imai, K., & Ogata, Y. (2020). *How does Epstein–Barr virus contribute to chronic periodontitis*. International Journal of Molecular Sciences, 21(6), 1–11.
- Kang, W., Jia, Z., Tang, D., Zhang, Z., Gao, H., He, K., & Feng, Q. (2019). *Fusobacterium nucleatum Facilitates Apoptosis, ROS Generation, and Inflammatory Cytokine Production by Activating AKT/MAPK and NF- κ B Signaling Pathways in Human Gingival Fibroblasts*. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2019.
- Khusuma, A., Safitri, Y., Yuniarni, A., & Rizki, K. (2019).. *Uji Teknik Difusi Menggunakan Kertas Saring Media Tampung Antibiotik Dengan Escherichia Coli Sebagai Bakteri Uji*, Jurnal Kesehatan Prima. 13(2), 31–39.
- Lindawati, Y., Primasari, A., & Suryanto, D. (2018). *Fusobacterium Nucleatum : Bakteri Anaerob pada Lingkungan Kaya Oksigen (Dihubungkan dengan Staterin Saliva)*. Talenta Conference Series: Tropical Medicine (TM), 1(1), 181–188.
- Mardhiyani, D., & Afriani, M. (2021). *Antibacterial Activity Test Of Leaves Bidara (Ziziphus Mauritiana Lam) Ethanolic Extracts Against Staphylococcus Aureus Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Bidara (Ziziphus Mauritiana Lam) Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus*. 10(1), 44–48.
- Mawaddah, N., Arbianti, K., & W, N. R. (2017). *Perbedaan Indeks Kebutuhan Perawatan Periodontal (Cpitr) Anak Normal Dan Anak Tunarungu*. ODONTO : Dental Journal, 4(1), 44.
- Ningrum, W. A., & Rahmatullah, S. (2020). *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Bidara (Ziziphus Mauritiana Lamm) Dalam Formulasi Sediaan Sabun Cair Sebagai Antiseptik Terhadap Bakteri Stapylococcus Aureus Atcc 25923*. Medical Sains: Junal Ilmiah Kefarmasian, 5(1), 89–98.
- Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., & Hidayatulloh, A. (2020). *Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt Dengan Metode Difusi Sumuran Dan Metode Difusi Cakram*. Jurnal Teknologi Hasil Peternakan, 1(2), 41.
- Nurrobifahmi, N., Anas, I., Setiadi, Y., & Ishak, I. (2020). *Pengaruh Metode Sterilisasi Iradiasi Sinar Gamma Co-60 terhadap Bahan Pembawa dan Viabilitas Spora Gigaspora margarita*. Jurnal Tanah Dan Iklim, 41(1), 1.
- Paliling, A., Posangi, J., & Anindita, P. S. (2016). *Uji daya hambat ekstrak bunga cengkeh (Syzygium aromaticum) terhadap bakteri Porphyromonas gingivalis*. E-

GIGI, 4(2).

- Pargaputri, A. F., Munadzirah, E., & Indrawati, R. (2017). *Antibacterial effects of Pluchea indica Less leaf extract on E. faecalis and Fusobacterium nucleatum (in vitro)*. Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi), 49(2), 93.
- Sania, E., Kurniawan, S. V., & Angelina, Y. (2020). *Perbandingan Efektivitas Antibakteri Moringa oleifera dan Ziziphus mauritiana dengan Ekstrak Etanol 96% terhadap Escherichia Coli*. Sriwijaya Journal of Medicine, 3(1), 39–46.
- Sivasankari, M. P., & Sankaravadivoo, A. (2015). *Studies on Antimicrobial Activity of Ziziphus Mauritiana Lam.* International Journal of Ayurveda and Pharma Research, 3(7), 52–55.
- Susanto, C., & Girsang, E. (2020). *The Effectiveness of Aloe vera Hydrogel Against Fusobacterium nucleatum Efektivitas Hidrojel Aloe vera terhadap Bakteri Fusobacterium nucleatum*. 7(3).
- Syah, I. (2013). *Penentuan Tingkatan Jaminan Sterilitas Pada Autoklaf Dengan Indikator Biologi Spore Strip*. Farmaka, 4(1), 59–69.
- Taufiq. (2018). *Aktifitas Efek Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Bidara Laut (Ziziphus mauritiana Lam.) Terhadap Pertumbuhan Candida albicans dan Escherichia coli*. Jurnal Kesehatan Yamasi, 3(1), 1–8.
- Tetan-el, D., Adam, A. M., & Jubhari, E. H. (2021). *Gingival diseases : plaque induced and non-plaque induced Penyakit gingiva : induksi plak dan induksi non-plak*. Makassar Dental Journal, 10(1), 88–95.
- Upadhyay, S., Upadhyay, P., Ghosh, A., Mishra, A., Singh, V., & Srivastava, S. (2015). *Antibacterial potency of Ziziphus mauritiana (Fam-Rhamnaceae) roots*. Drug Development and Therapeutics, 6(1), 44.
- Utomo, S. B., Fujiyanti, M., Lestari, W. P., & Mulyani, S. (2018). *Antibacterial Activity Test of the C-4-methoxyphenylcalix[4]resorcinarene Compound Modified by Hexadecyltrimethylammonium-Bromide against Staphylococcus aureus and Escherichia coli Bacteria*. JKPK (Jurnal Kimia Dan Pendidikan Kimia), 3(3), 201.
- Wijaksana, I. K. E. (2019). *Periodontal Chart Dan Periodontal Risk Assessment Sebagai Bahan Evaluasi Dan Edukasi Pasien Dengan Penyakit Periodontal*. Jurnal Kesehatan Gigi, 6(1), 19.
- Yahia, Y., Benabderrahim, M. A., Tlili, N., Bagues, M., & Nagaz, K. (2020). *Bioactive compounds, antioxidant and antimicrobial activities of extracts from different plant parts of two Ziziphus Mill. species*. PLoS ONE, 15(5), 1–16.