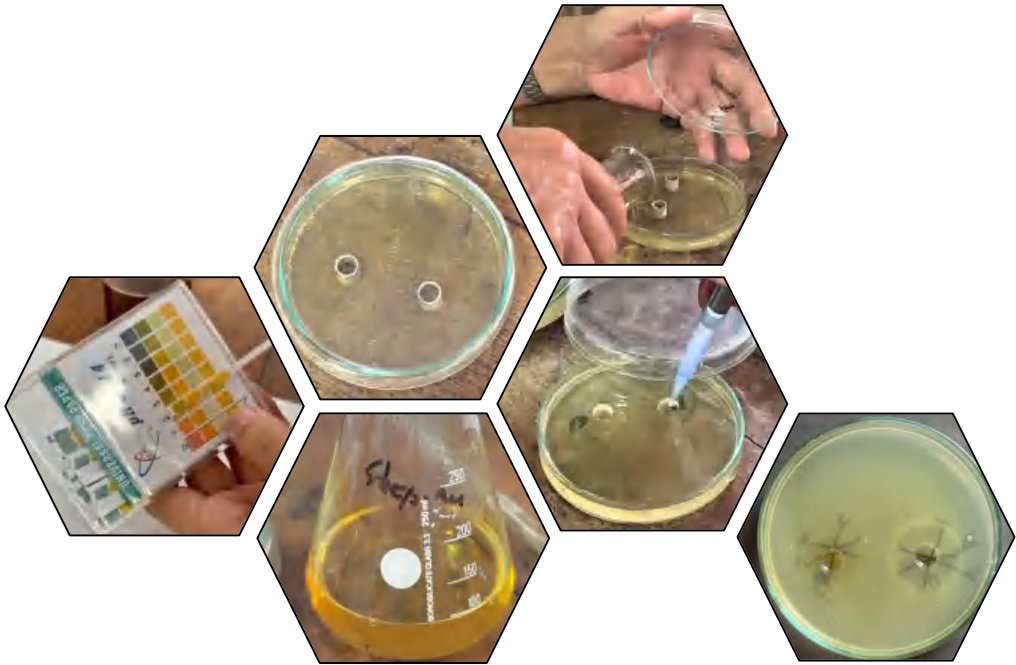


**EVALUASI DAYA HAMBAT *ECO-ENZYMETERHADAP* PERTUMBUHAN
BAKTERI *STREPTOCOCCUS MUTANS* (IN VITRO)**



**JANE CLARA MATILDA
J011211078**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**EVALUASI DAYA HAMBAT *ECO-ENZYME* TERHADAP PERTUMBUHAN
BAKTERI *STREPTOCOCCUS MUTANS* (IN VITRO)**

JANE CLARA MATILDA

J011211078



PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2024



Optimized using
trial version
www.balesio.com

**EVALUASI DAYA HAMBAT *ECO-ENZYME* TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI
*STREPTOCOCCUS MUTANS (IN VITRO)***

JANE CLARA MATILDA

J011211078

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana kedokteran gigi

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI

DEPARTEMEN KONSERVASI GIGI

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2024



SKRIPSI

EVALUASI DAYAHAMBAT *ECO-ENZYME* TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI
STREPTOCOCCUS MUTANS (IN VITRO)

JANE CLARA MATILDA

J011211078

Skripsi,

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana Kedokteran Gigi pada 14
Oktober 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

pada

Program Studi Pendidikan Dokter Gigi

Departemen Konservasi Gigi

Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Hasanuddin

Makassar

Mengesahkan:

Pembimbing tugas akhir,

Mengetahui:

Ketua Program Studi,



g., Ph.D., Sp.KG.,

032001



Muhammad Iqbal, drg., Ph.D., Sp. Pros.,
Subsp. PKIKG(K)

NIP 198010212009121002

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul "Evaluasi Daya Hambat *Eco-enzyme* terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus Mutans (In Vitro)*" adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing drg. Nurhayaty Natsir, Ph.D., Sp.KG., Subsp KR(K). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka skripsi ini. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku. Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa skripsi ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 14 Oktober 2024



Jane Clara Matilda

J011211078



UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yesus Kristus atas berkat dan karunia-Nya yang senantiasa memberkati, memberikan kelancaran serta kemampuan kepada penulis, sehingga skripsi yang berjudul “Evaluasi Daya Hambat *Eco-enzyme* terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans (In Vitro)*” dapat selesai tepat pada waktunya. Penulis menyadari bahwa dengan adanya dukungan, doa serta bantuan dari berbagai pihak, skripsi ini dapat selesai dengan baik. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati, penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar besarnya kepada:

1. drg. Irfan Sugianto, M.Med.Ed., Ph.D. selaku dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin beserta seluruh sivitas akademik atas bantuan selama penulis menempuh pendidikan.
2. drg. Nurhayaty Natsir, P.hD., Sp.KG., Subsp. KR(K) selaku dosen pembimbing skripsi yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran selama penulis melakukan penelitian dan penyusunan skripsi hingga selesai.
3. Prof. Dr. drg. Maria Tanumihardja, Md. Sc dan Prof. Dr. drg. H. Ardo Sabir, M.Kes selaku dosen penguji skripsi yang telah meluangkan waktu, memberikan saran dan arahan kepada penulis selama penyusunan skripsi.
4. Bapak Marcus Lembong, Am, Ak., SKM selaku staf Laboratorium Mikrobiologi FK UNHAS atas bantuan, arahan dan ilmu yang diberikan selama proses penelitian berlangsung.
5. Kedua orang tua tercinta penulis, Bapak Djoni Tandiupa dan Ibu Rita Karniawati Tumanan, serta kedua saudara terkasih penulis dr. Cindy Glory Octavine dan Jericho Marvellouis atas doa, dukungan dan motivasi yang tak henti-hentinya kepada penulis selama menempuh pendidikan hingga dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini.
6. Rekan-rekan seperjuangan saya Umma Mangiri, Jeannete Antolis, Gloria Adelia dan Gloria Immanuela atas kebersamaan yang selalu dirasakan, rasa saling mendukung dan memotivasi satu sama lain selama masa preklinik.



ABSTRAK

JANE CLARA MATILDA. **Evaluasi daya hambat *Eco-enzyme* terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus Mutans (In Vitro)*** (dibimbing oleh drg. Nurhayaty Natsir, P.hD., Sp.KG., Subsp. KR(K))

Latar belakang. *Streptococcus mutans* berkontribusi dalam pembentukan plak dengan kemampuan adhesi yang dimediasi oleh aktivitas Glukosiltransferase (Gtfs) yang dapat memediasi perlekatan bakteri lainnya untuk membentuk plak. Pemilihan alternatif berbahan alami dalam menekan akumulasi bakteri penyebab plak pada permukaan gigi telah banyak dimanfaatkan dalam bidang kedokteran gigi. Salah satu yang dapat menjadi pertimbangan yaitu penggunaan larutan *Eco-enzyme* yang terbukti memiliki aktivitas antibakteri yang cukup tinggi. *Eco-enzyme* memiliki aktivitas antibakteri yang tinggi karena mengandung asam asetat (H_3COOH) serta kandungan metabolik sekunder sebagai produk akhir dari hasil fermentasi. **Tujuan.** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dan mengevaluasi daya hambat *Eco-enzyme* terhadap pertumbuhan bakteri *S. mutans* secara invitro. **Metode.** Penelitian yang dilakukan adalah eksperimental laboratorium dengan desain penelitian *post-test with control group design* untuk mengevaluasi efektivitas *Eco-enzyme* terhadap pertumbuhan *S. mutans* menggunakan metode difusi sumuran dengan triplikasi pengulangan yang kemudian diinkubasi selama 24 jam pada temperatur $37^{\circ}C$. Setelah diinkubasi, dilakukan pengamatan dan pengukuran zona hambat dengan jangka sorong. **Hasil.** Hasil uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan *Eco-enzyme* secara signifikan ($p > 0,05$) memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans*. **Kesimpulan.** Penelitian ini membuktikan larutan *Eco-enzyme* memiliki potensi antibakteri yang sangat kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*, meskipun rata-rata daya hambat yang dihasilkan lebih rendah dibanding klorheksidin 0,2%.

Kata kunci: *Eco-enzyme*; *Streptococcus mutans*; zona hambat.



ABSTRACT


JANE CLARA MATILDA. **The evaluation of the inhibitory effect of Eco-enzyme on the growth of *Streptococcus Mutans* bacteria** (supervised by drg. Nurhayaty Natsir, P.hD., Sp.KG., Subsp. KR(K))

Background. *Streptococcus mutans* contributes to plaque formation through adhesion ability mediated by Glucosyltransferase (Gtfs) activity, which also facilitates the attachment of other bacteria in forming plaque. The selection of natural alternatives to suppress the accumulation of plaque-causing bacteria on tooth surfaces has been widely utilized in the field of dentistry. One potential option is the use of Eco-enzyme solution, which has been proven to have significant antibacterial activity. Eco-enzyme exhibits high antibacterial activity due to its acetic acid (H₃COOH) content and secondary metabolites produced as the final result of fermentation. **Objective.** This study aims to determine and evaluate the inhibitory effect of Eco-enzyme on the growth of *S. mutans* in vitro. **Methods.** The study was a laboratory experiment using a post-test with control group design to evaluate the effectiveness of Eco-enzyme on *S. mutans* growth, employing the well diffusion method with triplicate repetitions, followed by incubation for 24 hours at 37°C. After incubation, the inhibition zones were observed and measured using calipers. **Results.** The Shapiro-Wilk test results showed that Eco-enzyme significantly ($p > 0.05$) inhibited the growth of *S. mutans* bacteria. **Conclusion.** This study demonstrates that Eco-enzyme solution has very strong antibacterial potential in inhibiting the growth of *Streptococcus mutans*, although the average inhibitory effect was lower compared to 0.2% chlorhexidine.

Keywords: Eco-enzyme; *Streptococcus mutans*; inhibition zone.



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
PERNYATAAN PENGAJUAN	ii
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....	iv
UCAPAN TERIMA KASIH	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar belakang	1
1.2. Rumusan masalah	2
1.3. Hipotesis penelitian	2
1.4. Tujuan penelitian	2
1.5. Manfaat penelitian.....	2
1.5.1. Manfaat bagi peneliti	2
1.5.2. Manfaat bagi institusi	3
1.5.3. Manfaat bagi masyarakat.....	3
BAB II METODE PENELITIAN.....	4
2.1. Jenis penelitian	4
2.2. Desain penelitian.....	4
2.3. Tempat dan waktu penelitian	4
2.3.1. Tempat penelitian	4
2.3.2. Waktu penelitian.....	4
2.4. Sampel.....	4
2.5. Besar sampel	4
2.6. Variabel penelitian.....	4
2.7. Definisi operasional variabel	4
	5
.....	5
.....	5
.....	5
.....	5
.....	5

2.9.2. Pembuatan media agar	5
2.9.3. Inokulasi bakteri pada media agar	6
2.9.4. Pembuatan suspensi bakteri uji	6
2.9.5. Uji aktivitas antibakteri	6
2.9.6. Pengukuran zona hambat	6
2.10. Pengolahan dan analisa data	7
2.10.1. Jenis data	7
2.10.2. Pengolahan data	7
2.10.3. Penyajian data	7
2.10.4. Analisis data	8
BAB III HASIL DAN PEMBAHASAN	9
3.1. Hasil	9
3.2. Pembahasan	11
BAB IV KESIMPULAN DAN SARAN	14
4.1.1. Kesimpulan	14
4.1.2. Saran	14
DAFTAR PUSTAKA.....	15
LAMPIRAN	18



DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1. Klasifikasi daya hambat menurut David Stout.	7
Tabel 3. 1. Rerata dan simpangan baku diameter zona hambat dari setiap kelompok uji setelah inkubasi 24 jam.....	9
Tabel 3. 2. Hasil uji normalitas.....	10
Tabel 3. 3. Hasil uji <i>One Way</i> ANOVA diameter zona hambat antar kelompok uji <i>Eco-enzyme</i> dan klorheksidin setelah inkubasi 24 jam.....	10



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1. Pengukuran zona hambat.	7
Gambar 3. 1. Hasil uji aktifitas antibakteri Eco-enzyme dan kontrol positif terhadap pertumbuhan bakteri <i>Streptococcus mutans</i> . A: Klorheksidin; B: Eco-enzyme.....	9
Gambar 3. 2. Diagram batang rata-rata zona hambat dari setiap kelompok uji setelah inkubasi 24 jam.	10



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Undangan seminar proposal.....	18
Lampiran 2. Surat izin penelitian	19
Lampiran 3. Rekomendasi persetujuan etik	20
Lampiran 4. Dokumentasi penelitian	21
Lampiran 5. Surat undangan seminar hasil	24
Lampiran 7. Kartu kontrol bimbingan skripsi	25
Lampiran 8. Hasil analisis data	27
Lampiran 9. Rincian biaya penelitian.....	28



BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar belakang

Streptococcus mutans merupakan patogen utama dalam pembentukan dan perkembangan karies gigi yang pertama kali dikenalkan oleh J. Kilian Clarke pada tahun 1924. *S. mutans* merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat (*coccus*) berdiameter 0,5 – 2,0 μm , tidak bergerak, tidak berspora dan bersifat anaerob fakultatif (Nurrohman *et al.*, 2021, Meng *et al.*, 2019, Watanabe *et al.*, 2021). Secara signifikan *S. mutans* berkontribusi dalam pembentukan plak dengan kemampuan adhesi yang dimediasi oleh aktivitas Glukosiltransferase (Gtfs) yang dapat memecah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa, kemudian melalui ikatan glikosidik menghasilkan glukana yang akan memediasi perlekatan bakteri lainnya untuk membentuk plak (Nakano., 2018, Zhang *et al.*, 2020).

Akumulasi bakteri penyebab plak pada permukaan gigi dapat ditekan dengan penggunaan bahan aktif antibakteri yang dapat mengurangi akumulasi bakteri penyebab plak dalam rongga mulut. Salah satu bahan antibakteri sekaligus sebagai antiseptik utama yang sering dijumpai dalam praktik kedokteran gigi yaitu klorheksidin yang memiliki aktivitas antibakteri berspektrum luas (Bescos *et al.*, 2020, Chen *et al.*, 2022). Berdasarkan hasil laporan yang dikemukakan oleh Deus dan Ouanounou. (2022), larutan kumur klorheksidin dengan konsentrasi 0,1% hingga 0,2% menunjukkan efek antibakteri yang signifikan apabila digunakan rutin setiap hari selama 2 minggu. Akan tetapi, berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Manipal *et al.* (2016), klorheksidin memiliki beberapa efek samping dalam penggunaan jangka panjang berupa perubahan warna pada gigi, lidah dan mukosa bukal, gangguan pengecap, dan deskuamasi pada mukosa mulut. Hal ini menjadikan penggunaan klorheksidin sebagai profilaksis yang ideal hanya dapat diberikan apabila kontrol plak secara mekanis sulit untuk dilakukan (Manipal *et al.*, 2016). Pemilihan alternatif antibakteri berbahan alami dalam menekan akumulasi bakteri penyebab plak pada permukaan gigi telah banyak dimanfaatkan dalam bidang kedokteran gigi. Salah satu yang dapat menjadi pertimbangan yaitu penggunaan senyawa *Eco-enzyme* yang terbukti memiliki aktivitas antibakteri yang cukup tinggi (Diansyah *et al.*, 2021, Manipal *et al.*, 2016).

Eco-enzyme merupakan senyawa organik berwarna kecoklatan dengan aroma khas asam menyengat yang merupakan hasil fermentasi dari campuran gula, kulit buah-buahan segar, dan air dengan perbandingan 1:3:10 (Indraloka *et al.*, 2023, Rasit *et al.*, 2019). *Eco-enzyme* memiliki banyak manfaat yang baik bagi kesehatan n. Hal ini dikarenakan *Eco-enzyme* memiliki aktivitas antibakteri dari kandungan asam asetat (H_3COOH) dan metabolik sekunder hasil metabolisme bakteri secara alami dalam sisa buah yang ri & Wulandari., 2023, Zahira *et al.*, 2023).

kulit buah dapat dimanfaatkan sebagai bahan dasar fermentasi aranya seperti kulit buah papaya, nanas, dan jeruk (Gumilar *et al.*, *l.*, 2023). Pemilihan jenis kulit buah-buahan tersebut didasari akan



kandungan yang terdapat pada masing-masing kulit buah yang dapat mendukung sifat antibakteri dari fermentasi *Eco-enzyme* (Gumilar *et al.*, 2023). Hal ini sesuai dengan literatur yang menyatakan bahwa pada kulit buah pepaya yang telah difermentasi kaya akan *papain* yang dapat menghambat pertumbuhan *Enterococcus faecalis* (Mavani *et al.*, 2020). Selain itu, berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Arsyada *et al.* (2018) ekstrak kulit nanas menunjukkan sifat antibakteri karena mengandung bromelain yang mampu menyebabkan kematian pada sel bakteri. Penelitian yang dilakukan oleh Hikal *et al.* (2021) menyatakan *Eco-enzyme* berbahan kulit jeruk memiliki aktivitas antibakteri yang dihasilkan oleh senyawa fenolik berupa polifenol dan flavonoid yang mampu mendenaturasi protein dan merusak membran sel bakteri.

Berdasarkan uraian diatas dan hasil-hasil dari penelitian terdahulu terbukti bahwa *Eco-enzyme* dapat menekan pertumbuhan pada beberapa jenis bakteri. Oleh karena itu, pada penelitian ini peneliti tertarik untuk mengevaluasi daya hambat *Eco-enzyme* pada pertumbuhan bakteri *S. mutans*.

1.2. Rumusan masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

Bagaimana kemampuan daya hambat *Eco-enzyme* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* secara invitro?

1.3. Hipotesis penelitian

H₀: *Eco-enzyme* tidak memiliki kemampuan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

H₁: *Eco-enzyme* memiliki kemampuan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

1.4. Tujuan penelitian

Mengetahui dan mengevaluasi daya hambat *Eco-enzyme* terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* secara invitro.



tian

peneliti

itian ini diharapkan dapat menambah wawasan dan pemahaman hambat *Eco-enzyme* terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus*

1.5.2. Manfaat bagi institusi

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi literatur tambahan bagi penelitian selanjutnya dan dapat digunakan untuk mengembangkan kemampuan daya hambat *Eco-enzyme* terhadap permasalahan yang berhubungan dengan akumulasi bakteri penyebab plak.

1.5.3. Manfaat bagi masyarakat

Sebagai informasi kepada pembaca maupun masyarakat luas mengenai penggunaan *Eco-enzyme* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* yang merupakan patogen utama penyebab retensi plak pada permukaan gigi.



BAB II METODE PENELITIAN

2.1. Jenis penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah eksperimental laboratorium

2.2. Desain penelitian

Desain penelitian yang dilakukan adalah *post-test with control group design*.

2.3. Tempat dan waktu penelitian

2.3.1. Tempat penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin guna mengevaluasi daya hambat larutan *Eco-enzyme* terhadap bakteri *Streptococcus mutans*.

2.3.2. Waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari 2024 - Februari 2024

2.4. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah koloni bakteri *Streptococcus mutans*.

2.5. Besar sampel

Besar sampel pada penelitian menggunakan perlakuan 3 kali pengulangan (triplikat) untuk masing-masing variabel uji yaitu *Eco-enzyme* dan klorheksidin.

2.6. Variabel penelitian

- 1) Variabel independen: klorheksidin dan *Eco-enzyme*
- 2) Variabel dependen: bakteri *Streptococcus mutans*
- 3) Variabel kendali: konsentrasi larutan dan pH *Eco-enzyme*

2.7. Definisi operasional variabel

- 1) *Eco-enzyme* 100%: merupakan larutan zat organik kompleks hasil fermentasi kulit buah jeruk, nanas, pepaya dijual dengan merk dagang MM-3025 Eco Enzyme sebagai agen antibakteri.
- 2) Bakteri *Streptococcus mutans*: merupakan sediaan bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 yang tersedia di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.
- 3) Daya hambat *Eco-enzyme*: dinyatakan sebagai diameter zona hambat yang asarkan zona bening yang terbentuk disekitar silinder *stainless* unakan jangka sorong.
0,2%: sebagai kontrol positif merupakan larutan kumur ang dijual dengan merk dagang minosep.



2.8. Alat dan bahan

2.8.1. Alat

- 1) Cawan petri (One Med[®])
- 2) Ose steril (USBECK[®] German)
- 3) Gelas ukur (Pyrex[®] Jepang)
- 4) Tabung reaksi (Pyrex[®] Jepang)
- 5) Labu erlenmeyer (Pyrex[®] Jepang)
- 6) *Magnetic stirrer* (Toshiba[®] Jepang)
- 7) Pinset
- 8) Mikropipet (Nexty-S[®])
- 9) Silinder *stainless steel*
- 10) Jangka sorong (XP-TOOL[®])
- 11) pH meter (SUNCARE[®])
- 12) Bunsen
- 13) Rak tabung reaksi
- 14) Timbangan analitik (Sojiky[®])
- 15) Inkubator (Memmert[®])
- 16) Autoklaf (UL[®] Amerika Serikat)

2.8.2. Bahan

- 1) Isolat bakteri *Streptococcus mutans* (ATCC 25175)
- 2) Sediaan Eco-enzyme (MM-3025[®])
- 3) Klorheksidin 0,2% (Minosep[®])
- 4) Aquades
- 5) MHA (*Mueller Hinton Agar*) (HIMEDIA[®])
- 6) Larutan Mc. Farland
- 7) NaCl 0,9% (One Med[®])
- 8) Alkohol 70% (One Med[®])
- 9) Spiritus (Cap Panda[®])
- 10) *Cotton swab* (One Med[®])
- 11) *Aluminium foil* (Klin Pak[®])
- 12) *Handscoon* dan masker (One Med[®])

2.9. Prosedur penelitian

2.9.1. Sterilisasi alat

Alat-alat yang dapat disterilasi dalam autoklaf dicuci dengan detergen dan dibilas dengan aquades, kemudian alat dibungkus dengan aluminium foil dan dimasukkan ke dalam autoklaf pada tekanan 1 atm dengan temperatur 121°C enit dan alat-alat yang tidak dapat disterilasi menggunakan disterilasi dengan alkohol 70%.



edia agar

gunakan adalah *Mueller Hinton Agar*. Cara membuatnya yaitu 8 g medium dan ukur 100 ml aquades kemudian masukkan ke beaker. Setelah itu, medium diaduk dengan *magnetic stirrer* agar

homogen kemudian ditutup menggunakan *aluminium foil* lalu disterilkan pada autoklaf selama 15 menit dengan temperatur 121°C. Selanjutnya, sebanyak 5 ml media MHA steril dituangkan pada cawan petri, biarkan memadat sebagai *basic layer*.

2.9.3. Inokulasi bakteri pada media agar

Bakteri *Streptococcus mutans* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. Bakteri uji diambil dengan jarum ose steril, lalu ditanamkan pada media agar di cawan petri dengan cara menggores. Selanjutnya diinkubasi pada temperatur 37°C selama 24 jam.

2.9.4. Pembuatan suspensi bakteri uji

Bakteri uji yang telah diremajakan pada media MHA disuspensikan kedalam tabung berisi 2 ml larutan NaCl 0,9% sehingga diperoleh kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan larutan *Mc. Farland*.

2.9.5. Uji aktivitas antibakteri

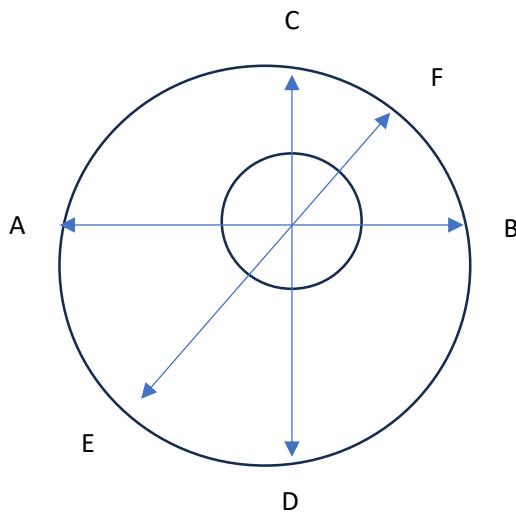
Metode yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri adalah metode difusi agar/lubang sumuran (*Kirby-Bauer*) on *double-layered Mueller Hinton Agar* (MHA) (*base layer and seed layer*). Setelah *base layer* memadat, ditempatkan lubang sumuran dengan jarak sedemikian rupa agar daerah pengamatan tidak saling bertumpuk. Selanjutnya, 5 ml suspensi bakteri dicampurkan dengan 20 ml medium pembenihan dengan perbandingan bakteri dan medium adalah 1:5, kemudian homogenkan.

Tuangkan campuran medium dan suspensi bakteri secara merata sebagai *seed layer agar* di atas *base layer agar*, biarkan memadat. Setelah memadat, lubang sumuran dilepaskan dari media agar. Di bagian bawah cawan petri diberi tanda untuk setiap lubang untuk memudahkan dalam mengidentifikasi hasil zona hambat masing-masing konsentrasi. Kemudian, dimasukkan *Eco-enzyme* dan klorheksidin menggunakan mikropipet sebanyak 0,25 ml ke masing-masing lubang sumuran yang sudah terbentuk.

2.9.6. Pengukuran zona hambat

Setelah medium pembiakan bakteri diberikan perlakuan dan diinkubasi dengan temperatur 37°C selama 1x24 jam, selanjutnya melakukan pengukuran hasil daya hambat, cara yang digunakan dengan mengukur diameter zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram dengan menggunakan jangka sorong dengan satuan milimeter. Metode pengukuran zona hambat bakteri dapat dilihat pada **Gambar 2.1**.





Gambar 2. 1. Pengukuran zona hambat.

Penghitungan zona hambat dapat dilakukan dengan rumus berikut:

$$\frac{(A-B) + (C-D) + (E-F)}{3}$$

Kekuatan daya hambat dikelompokkan berdasarkan diameternya. Kategori daya hambat antibakteri menurut Davis Stout, dapat diklasifikasikan dalam **Tabel 2.1.**

Tabel 2. 1. Klasifikasi daya hambat menurut David Stout.

Daya Hambat	Kategori Daya Hambat
≥ 20 mm	Sangat kuat
10-20 mm	Kuat
5-10 mm	Sedang
< 5 mm	Lemah

2.10. Pengolahan dan analisa data

2.10.1. Jenis data

Jenis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah jenis data primer.

2.10.2. Pengolahan data



Data dilakukan dengan perhitungan statistik menggunakan program SPSS.

ata

ata dalam penelitian ini disajikan dalam bentuk tabel.

2.10.4. Analisis data

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan uji normalitas Shapiro-Wilk untuk mengetahui distribusi data. Hasil uji statistik terdistribusi normal apabila $p > 0.05$. Kemudian dilakukan uji Levene untuk melihat homogenitas data. Selanjutnya dilakukan uji parametrik One Way Analysis of Variance (ANOVA) untuk melihat ada tidaknya perbedaan yang signifikan antar kelompok uji.

