

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit gigi dan mulut merupakan masalah kesehatan yang paling banyak dikeluhkan di dunia, khususnya Indonesia. Penyakit gigi yang umum diderita oleh masyarakat adalah karies yang dapat berlanjut menjadi penyakit pulpa dan akhirnya menjadi penyakit periapikal. Gigi dengan penyakit pulpa dan periapikal merupakan salah satu indikasi perawatan saluran akar. Tujuan perawatan saluran akar adalah mengeliminasi atau menghambat pertumbuhan bakteri di dalam saluran akar (Kartinawanti *et al*, 2021).

Perawatan saluran akar merupakan salah satu perawatan penyakit pulpa dengan cara pengambilan pulpa vital atau nekrotik dari saluran akar dan menggantinya dengan bahan pengisi. Perawatan saluran akar ini dilakukan untuk mempertahankan gigi agar dapat bertahan selama mungkin dalam rongga mulut. Prinsip perawatan saluran akar dikenal dengan istilah triad endodontic. Prinsip ini melibatkan tiga tahap utama yaitu preparasi rongga akses kavitas, pembersihan dan pembentukan (*cleaning and shaping*) saluran akar gigi, serta obturasi saluran akar yang hermetis dengan material yang sesuai atau memiliki dimensi yang stabil dan biokompatibel terhadap jaringan (Hadinata *et al*, 2017).

Salah satu faktor yang seringkali berhubungan dengan kegagalan perawatan saluran akar adalah tidak mampu mengatasi persistensi bakteri. Kondisi ini biasanya terjadi karena proses preparasi mekanik dan obturasi yang tidak dilakukan dengan cermat (Prada *et al*, 2019). Saluran akar gigi yang terinfeksi mengandung banyak spesies mikroorganisme, salah satunya yang sering ditemukan dan paling resisten terhadap agen antibakteri adalah bakteri *Enterococcus faecalis* (Djuanda *et al*, 2014)

Enterococcus faecalis adalah jenis bakteri Gram positif fakultatif anaerob yang berbentuk kokus, dan memiliki kemampuan unik untuk bertahan hidup dalam waktu lama dalam saluran akar bahkan tanpa asupan nutrisi. *Enterococcus faecalis* ditemukan sembilan kali lebih banyak pada infeksi pasca perawatan saluran akar dibandingkan infeksi primer (Ariani *et al*, 2013). *Enterococcus faecalis* mengalami peningkatan prevalensi secara signifikan di Indonesia. Pada tahun 2004, kasus infeksi saluran akar sekunder mencapai sekitar 24% dari total kasus. Sedangkan pada tahun 2011, angka ini mencapai sekitar 18% untuk infeksi saluran akar primer dan 67% untuk infeksi saluran akar sekunder (Heyder *et al*, 2013). Kecepatan penyebaran bakteri *Enterococcus faecalis* dalam saluran akar sangat dipengaruhi oleh kondisi jaringan pulpa yang mengalami nekrosis, cenderung lebih rentan terhadap infeksi saluran akar dibandingkan dengan jaringan pulpa yang masih sehat (Gijo *et al*, 2015). Virulensi bakteri ini dipengaruhi oleh kemampuannya dalam membentuk koloni pada inang dan menghasilkan perubahan patogen, baik melalui produksi toksin secara langsung atau melalui rangsangan terhadap mediator

inflamasi (Kayaoglu *et al*, 2004). Bakteri ini dapat dihambat pertumbuhannya menggunakan bahan irigasi dalam prosedur perawatan saluran akar.

Irigasi saluran akar memiliki peran penting dalam perawatan saluran akar, yang mencakup pelumas pada alat, penghilangan debris, mikroorganisme dan smear layer serta mencegah penumpukan debris di ujung akar gigi (Susila *et al*, 2019). Bahan irigasi yang ideal memiliki efek antibakteri, tidak toksik, mampu melarutkan sisa jaringan pulpa nekrotik, mencegah terbentuknya smear layer atau dapat melarutkannya saat preparasi saluran akar (Mohammadi *et al*, 2014). Bahan irigasi yang ideal juga harus aman bagi jaringan pendukung gigi (Bukhari *et al*, 2019). Namun, dari berbagai penelitian yang telah dilakukan, belum ada bahan irigasi yang memenuhi kriteria ideal (Tonini *et al*, 2022). Beberapa bahan irigasi yang umum digunakan dalam perawatan saluran akar gigi termasuk sodium hipoklorit (NaOCl), *Ethylenediaminetetraacetic acid* (EDTA) dan klorheksidin (CHX) (Wahyudi *et al*, 2019). Diantara bahan tersebut, NaOCl adalah bahan irigasi yang sering digunakan karena sediaanya sangat mudah diperoleh dan terjangkau serta mudah digunakan. Beberapa penelitian juga telah membuktikan bahwa NaOCl berfungsi baik sebagai desinfektan dan melarutkan *smear layer*. Sodium hipoklorit konsentrasi 2.5% dianggap aman bagi jaringan, namun tidak mampu menghilangkan endotoksin dalam saluran akar khususnya *Enterococcus faecalis* yang berada di tubulus dentinalis. Sodium hipoklorit konsentrasi 5.25% dianggap mampu menghilangkan *Enterococcus faecalis*, namun pada konsentrasi ini memiliki toksisitas yang tinggi terhadap jaringan, dapat menimbulkan reaksi alergi pada sebagian orang dan dapat mengkorosi alat endodontik (Li *et al*, 2018). Terdapat pula bahan klorheksidin (CHX) yang sering direkomendasikan karena kemampuannya berikatan dengan dentin dan efektivitasnya sebagai agen antibakteri (Jaiswal *et al*, 2017). Namun, penggunaan CHX berlebihan dapat menyebabkan diskolorasi pada gigi, sensasi terbakar pada mukosa, serostomia, gangguan pengecapan dan komplikasi sistemik jika tertelan (Nazemismalman *et al*, 2018).

Saat ini, terdapat banyak bahan berasal dari alam yang mengandung substansi aktif dan menunjukkan potensi digunakan dalam pembuatan obat-obatan baru (Ali *et al*, 2017). Menurut *World Health Organization* (WHO), sekitar 88% penduduk dunia menggunakan obat-obatan tradisional, dan bahkan 90% negara berkembang mengandalkan tanaman herbal untuk perawatan kesehatan (Sianipar, 2021). Oleh karena itu, pengembangan pengobatan alternatif dari alam menjadi sangat penting, terutama karena semakin meningkatnya resistensi bakteri patogen terhadap agen antimikroba (Alkhulaifi *et al*, 2020).

Buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) tergolong buah yang banyak digemari oleh masyarakat karena selain rasanya yang enak juga mengandung senyawa aktif yang sangat bermanfaat untuk kesehatan serta nilai gizi yang cukup tinggi (Saati, 2010). Meskipun buah naga merah telah populer dikonsumsi, penggunaannya masih terbatas pada daging buahnya. Bagian lain buah naga yang dapat dimanfaatkan adalah kulitnya. Bagian dari kulit buah naga adalah 30-35% dari keseluruhan total buah naga, namun tidak dimanfaatkan dengan baik dan hanya dibuang sebagai limbah (Luo *et al*, 2014). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa

ekstrak etanol kulit buah naga merah mengandung senyawa aktif, terutama senyawa fenol yang memiliki efek antibakteri. Kandungan fenol dalam ekstrak etanol kulit buah naga merah lebih tinggi daripada daging buahnya. Selain flavonoid, kulit buah naga merah juga mengandung senyawa alkaloid dan terpenoid yang memiliki efek antibakteri (Amalia *et al*, 2014). Dari beberapa penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, diperoleh hasil bahwa ekstrak etanol kulit buah naga merah memiliki efek antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan berbagai bakteri dalam rongga mulut seperti *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Klebsiella pneumoniae* dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Suhartati, 2018).

Dalam pemanfaatan bahan alami sebagai salah satu alternatif pengobatan dilakukan melalui beberapa penelitian ilmiah terbaru dan diproduksi secara modern (Tetti, 2014). Salah satu metode yang digunakan untuk penemuan obat tradisional adalah metode ekstraksi. Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi (Zhang *et al*, 2015). Maserasi adalah salah satu metode pemisahan senyawa dengan cara perendaman menggunakan pelarut organik pada temperatur tertentu (Ulfa *et al*, 2023). Beberapa penelitian mengungkapkan metode maserasi dapat menghasilkan ekstrak etanol dengan kadar fenolik tertinggi (Damayanti *et al*, 2021). Hal tersebut menunjukkan bahwa metode ini dapat menjaga efek antibakteri yang dimiliki oleh buah naga merah tidak terbuang sia-sia.

Berdasarkan uraian diatas, dapat disimpulkan bahwa kulit buah naga merah memiliki daya hambat yang baik sebagai bahan antibakteri alami. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efektivitas antibakteri ekstrak etanol kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

1. Bagaimana efektivitas antibakteri ekstrak etanol kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*?
2. Berapa konsentrasi efektif minimum ekstrak etanol kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dalam menghambat bakteri *Enterococcus faecalis*?
3. Bagaimana perbandingan efektivitas antibakteri ekstrak etanol kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dengan sodium hipoklorit (NaOCl) konsentrasi 5.25% terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan Umum

Mengetahui efektivitas antibakteri ekstrak etanol kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) terhadap *Enterococcus faecalis*.

Tujuan Khusus

1. Mengevaluasi konsentrasi minimum efektif ekstrak etanol kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dalam menghambat bakteri *Enterococcus faecalis*.
2. Mengevaluasi perbandingan efektivitas antibakteri ekstrak etanol kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dengan sodium hipoklorit (NaOCl) konsentrasi 5.25% terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Sebagai dasar penelitian terhadap ekstrak etanol kulit buah naga merah dan kandungannya sebagai antibakteri yang dapat digunakan dalam perawatan saluran akar.
2. Meningkatkan pemanfaatan bahan alami sebagai salah satu alternatif bahan irigasi perawatan saluran akar.

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental laboratoris.

2.2 Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan adalah *posttest only control group design*.

2.3 Tempat dan Waktu Penelitian

2.3.1 Tempat Penelitian

1. Pembuatan ekstrak etanol kulit buah naga merah dilakukan di Unit Laboratorium Penelitian, Publikasi dan Pengabdian Masyarakat (UP3M) Fakultas Kedokteran Universitas Muslim Indonesia.
2. Uji efektivitas antibakteri dilakukan di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Masyarakat Makassar.

2.3.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Oktober - November 2024

2.4 Subjek Penelitian

Subjek penelitian ini adalah koloni bakteri *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

2.5 Variabel Penelitian

2.5.1 Variabel Independen

Ekstrak etanol kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan sodium hipoklorit (NaOCl).

2.5.2 Variabel Dependen

Bakteri *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

2.5.3 Variabel Kendali

1. Pengeringan kulit buah naga merah dengan suhu 45°C selama 4 jam.

2. Konsentrasi ekstrak etanol kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) 6.25%, 20%, 50% dan 80%.

2.6 Defenisi Operasional Variabel

1. Ekstrak etanol kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) merupakan larutan yang diperoleh dari hasil maserasi kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) konsentrasi 6.25%, 20%, 50% dan 80%.
2. *Enterococcus faecalis* adalah bakteri *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 diambil dari stok 50 μ L yang dibiakkan dalam BHIB kemudian diencerkan hingga mencapai kepadatan 1.5×10^8 CFU/ml atau setara dengan 0.5 McFarland.
3. Efektivitas antibakteri adalah kemampuan bahan irigasi NaOCl 5.25% dan ekstrak etanol kulit buah naga merah konsentrasi 6.25%, 20%, 50% dan 80% dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis* yang ditandai dengan terbentuknya zona inhibisi.

2.7 Kriteria Sampel

2.7.1 Kriteria Inklusi

1. Bakteri *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 yang sudah dibiakkan.
2. Kulit buah naga merah yang diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan etanol.
3. Medium Agar yang telah disterilkan

2.7.2 Kriteria Eksklusi

1. Bakteri *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 ketika diencerkan tidak mencapai kepadatan 1.5×10^8 CFU/ml atau setara dengan 0.5 McFarland.
2. Kulit buah naga merah yang kering atau busuk.
3. Medium Agar yang tidak steril.

2.8 Indentifikasi Sampel Penelitian

Perhitungan besar sampel penelitian ini menggunakan rumus Federer

$$(n-1) \times (t-1) \geq 15$$

Keterangan:

n = besar sampel

t = jumlah kelompok percobaan

Cara perhitungan besar sampel

$t = 5$ kelompok perlakuan

$$\begin{aligned} (n-1)(t-1) &\geq 15 \\ (n-1)(5-1) &\geq 15 \\ 4n-4 &\geq 15 \\ 4n &\geq 19/4 \\ n &\geq 4.75 \\ n &= 5 \end{aligned}$$

Lima kelompok perlakuan penelitian:

Kelompok 1: ekstrak etanol kulit buah naga merah konsentrasi 6.25%.

Kelompok 2: ekstrak etanol kulit buah naga merah konsentrasi 20%.

Kelompok 3: ekstrak etanol kulit buah naga merah konsentrasi 50%.

Kelompok 4: ekstrak etanol kulit buah naga merah konsentrasi 80%.

Kelompok 5: larutan NaOCl 5.25% (kontrol positif).

5 sampel masing-masing kelompok perlakuan sehingga total sampel berjumlah 25 sampel.

2.9 Alat dan Bahan

2.9.1 Alat

Oven, piring, blender, mortar, ayakan 60 mesh, *rotary vacuum evaporator*, tabung reaksi, batang pengaduk, cawan petri, timbangan analitik, pinset, inkubator, *cotton swab* steril, jangka sorong dan *paper disc*.

2.9.2 Bahan

Bahan : Kulit buah naga merah, NaOCl 5.25 %, bakteri *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, Mueller Hinton Agar (MHA), dan *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB).

2.10 Prosedur Kerja

1. Sterilisasi Alat

Alat-alat yang akan digunakan dicuci dengan deterjen dan dibilas aquades, kemudian disterilkan menggunakan oven pada temperatur 160-170°C selama 2 jam. Alat-alat yang tidak tahan dengan pemanasan tinggi dibungkus kertas aluminium foil dan dimasukkan ke dalam autoklaf dengan temperatur 121°C selama 15 menit dengan tekanan 2 atm atau bisa disterilkan dengan alkohol 70%.

2. Pembuatan Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Merah

Kulit buah naga merah sebanyak 1 kg dicuci dengan air mengalir, kemudian dikeringkan di dalam oven dengan suhu 40°C selama 4-5 jam untuk menghilangkan kandungan air, sampel kemudian dihaluskan menggunakan blender dan mortar. Serbuk kulit buah naga merah yang sudah cukup halus ditapis menggunakan ayakan (sieve) 400 mesh hingga menghasilkan serbuk kulit buah naga merah yang berukuran kurang lebih 40 µm. Ekstraksi sampel dilakukan dengan cara maserasi. Sampel yang diperoleh direndam di dalam botol gelap yang berisi pelarut etanol selama 5 hari sambil diaduk sesekali dan disimpan pada tempat yang terlindung dari cahaya. Kemudian dilakukan penyaringan dan ampasnya dimaserasi kembali selama 5 hari. Pengulangan dengan cara yang sama dilakukan sebanyak tiga kali sehingga diperoleh ekstrak etanol kulit buah naga merah.

3. Kultur Bakteri

Kultur *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 diambil dari stok 50µL. Bakteri dibiakkan ke dalam 5 mL *Brain heart infusion broth* (BHIB) dan diinkubasi pada temperatur 37°C selama 24 jam, kemudian bakteri diencerkan hingga kepadatan mencapai 1.5×10^8 CFU/ml atau setara dengan 0.5 McFarland.

4. Perlakuan Data

Bakteri yang telah diencerkan dipindahkan dengan metode gores menggunakan cotton swab pada cawan petri yang telah diisi dengan MHA. Berdasarkan prinsip metode *Kirby-Bauer* (difusi), uji daya hambat menggunakan paper disk berukuran 6 mm dan juga menggunakan silinder stainless steel. Untuk metode difusi cakram, paper disc kosong direndamkan ke dalam ekstrak etanol kulit buah naga merah dengan berbagai perbandingan selama kurang lebih 15 menit, kemudian diambil menggunakan pinset steril, lalu menanam paper disc yang telah berisi ekstrak etanol kulit buah naga merah secara perlahan ke dalam media MHA dan selanjutnya di inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dalam inkubator. Setelah 24 jam, semua cawan petri dikeluarkan dari inkubator dan dilakukan pengamatan pada zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram dan diukur diameternya dengan satuan milimeter (mm) menggunakan jangka sorong. Pengujian dilakukan secara triplikate atau sebanyak 3 kali pengulangan untuk setiap sampel uji. Kemudian, untuk metode difusi silinder, cawan petri dibagi menjadi 5 gradien. Setiap gradien memuat satu silinder stainless steel yang telah ditetesi masing-masing ekstrak etanol kulit buah naga merah tiap konsentrasi dan NaOCl 5.25% sebagai kontrol positif. Cairkan MHA sebanyak 7 ml dan

tambahkan bakteri *E. faecalis* sebanyak 10 μ L kemudian menuangkannya diantara silinder *stainless steel* pada masing-masing cawan petri kemudian di inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dalam inkubator. Setelah 24 jam, semua cawan petri dikeluarkan dari inkubator dan dilakukan pengamatan pada zona bening yang terbentuk disekitar silinder *stainless steel* dan diukur diameternya dengan satuan milimeter (mm) menggunakan jangka sorong. Pengujian dilakukan secara triplikate atau sebanyak 3 kali pengulangan untuk setiap sampel uji

5. Pengolahan Data

Data yang diperoleh berupa data primer yang selanjutnya diolah menggunakan program software SPSS IBM versi 24, program analisis data uji statistik *One-Way Anova* untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan yang signifikan antara konsentrasi ekstrak etanol kulit buah naga merah dengan kontrol positif dan negatif terhadap pertumbuhan *Enterococcus faecalis*. Selanjutnya, program analisis uji *Least Significance Difference* (LSD) untuk mengetahui konsentrasi mana yang memiliki perbedaan bila hasil uji Anova yang telah dilakukan menunjukkan hasil yang signifikan. Data penelitian disajikan dalam bentuk gambar, tabel dan grafik.

2.11 Alur Penelitian

