

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI ALAMI EKSTRAK ETANOL DAUN UNGU  
(*Graptophyllum pictum L. Griff*) TERHADAP *Enterococcus faecalis*  
(STUDI IN VITRO)**



**UMMA MANGIRI PABESAK  
J011211149**

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



Optimized using  
trial version  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)

**Aktivitas Antibakteri Alami Ekstrak Etanol Daun Ungu (*Graptophyllum pictum L. Griff*) Terhadap *Enterococcus faecalis* (Studi *In Vitro*)**

**UMMA MANGIRI PABESAK  
J011211149**



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



Optimized using  
trial version  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI ALAMI EKSTRAK ETANOL DAUN UNGU  
(*Graptophyllum pictum L. Griff*) TERHADAP *Enterococcus faecalis*  
(STUDI IN VITRO)**

UMMA MANGIRI PABESAK  
J011211149

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana  
Program Studi Pendidikan Dokter Gigi



**GRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI  
DEPARTEMEN KONSERVASI  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2024**

Optimized using  
trial version  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)

**SKRIPSI**

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI ALAMI EKSTRAK ETANOL DAUN UNGU  
*(Graptophyllum pictum L. Griff)* TERHADAP *Enterococcus faecalis*  
(STUDI *IN VITRO*)**

**UMMA MANGIRI PABESAK**  
**J011211149**

Skripsi

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

Pada

Program Studi Pendidikan Kedokteran Gigi  
Departemen Konservasi  
Fakultas Kedokteran Gigi  
Universitas Hasanuddin  
Makassar

Mengesahkan:  
Pembimbing tugas akhir,



Optimized using  
trial version  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)

o. drg..  
12001

Mengetahui:  
Ketua Program Studi,



Muhammad Ikbal, drg., Ph.D.  
Sp.Pros, Subsp. PKIKG (K)  
NIP 198010212009121002

## PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul "Aktivitas Antibakteri Alami Ekstrak Etanol Daun Ungu (*Graptophyllum pictum L. Griff*) Terhadap *Enterococcus faecalis* (Studi *In Vitro*)" adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing (Dr. Juni Jekti Nugroho, drg., Sp.KG., Subsp., KE (K)). Penelitian ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun. 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, 26 Oktober 2024



Umma Mangiri Pabesak  
J011211149



## UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji dan syukur hanya bagi Tuhan Yesus Kristus, atas hikmat, berkat dan karunia-Nya yang senantiasa menyertai dan memampukan penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Aktivitas Antibakteri Alami Ekstrak Etanol Daun Ungu (*Graptophyllum pictum L. Griff*) Terhadap *Enterococcus faecalis* (Studi *In Vitro*)" dengan baik. Penulis menyadari bahwa skripsi ini dapat selesai tepat pada waktunya dengan adanya doa, dukungan dan bimbingan serta bantuan dari berbagai pihak. Oleh karen itu penulis ingin mencupakan terima kasih yang setulusnya dengan segala kerendahan hati kepada:

1. Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin, **drg. Irfan Sugianto, M.Med., Ph.D** atas bantuan selama saya menempuh pendidikan.
2. Dosen pembimbing saya, yaitu **Dr. Juni Jekti Nugroho, drg., Sp.KG., Subsp., KE (K)** yang telah meluangkan waktunya untuk membimbing dan berdiskusi serta memberikan perhatian dan ilmu kepada saya untuk menyelesaikan skripsi ini.
3. Dosen penguji saya, yaitu **Noor Hikmah, drg., M.KG., Sp.KG., Subsp.KE (K) dan Nurhayaty Natsir, drg., Ph.D., Sp.KG., Subsp KR(K)** yang telah meluangkan waktunya untuk menguji dan memberikan ilmu.
4. Seluruh **civitas akademik Fakultas Kedokteran Gigi Univerista Hasanuddin** yang telah menyediakan fasilitas dan memberikan banyak ilmu pengetahuan yang saya perlukan selama menempuh pendidikan.
5. **Mama dan Papa** yang paling saya cintai, terima kasih atas kasih sayang yang tak terbatas, untuk semua doa dan dukungan yang tulus bahakan untuk semua pengorbanan dan biaya yang kalian usahakan untuk saya selama menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin. Kalian adalah motivasi saya dalam menyelesaikan skripsi ini.
6. **Loan, Zidan, Lembang, Dewanti** saudara-saudara saya tercinta yang selalu menghibur, mendoakan dan mendukung saya di setiap waktu.
7. **Gloria Adelia, Jane Clara, Jeannete Edita, Gloria Immanuel** sahabat-sahabat saya yang paling saya sayangi yang selalu hadir di saat suka maupun duka, terima kasih untuk canda, tawa, dan bantuan serta semangat yang kalian berikan di saat saya hampir menyerah.
8. **Inda, Jeje, Vany, Trisa, Vivin** sahabat seperjuangan saya dari SMA yang selalu menghibur dan mendukung saya dalam menyelesaikan skripsi ini.
9. **Saudara Seperjuangan INKREMENTAL** yang selalu mendukung dan menyemangati saya dalam menyelesaikan skripsi ini.



## ABSTRAK

UMMA MANGIRI PABESAK. **Aktivitas Antibakteri Alami Ekstrak Etanol Daun Ungu (*Graptophyllum pictum L. Griff*) Terhadap *Enterococcus faecalis* (Studi *In Vitro*)** (dibimbing oleh Dr. Juni Jekti Nugroho, drg., Sp.KG., Subsp., KE (K))

**Latar Belakang:** Perawatan saluran akar (PSA) merupakan perawatan untuk mengangkat jaringan pulpa yang meradang dan terinfeksi, mengeliminasi bakteri penyebab infeksi yang ada dalam struktur kompleks saluran akar gigi. Bakteri *Enterococcus faecalis* sering ditemukan pada kasus kegagalan perawatan saluran akar dan berpotensi menyebabkan infeksi saluran akar sekunder. Penggunaan medikamen seperti kalsium hidroksida ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) telah banyak diterapkan karena memiliki sifat antibakteri, namun efektivitasnya menurun seiring waktu akibat faktor resistensi bakteri *Enterococcus faecalis*. Salah satu bahan alami yang bersifat antibakteri adalah daun ungu karena memiliki kandungan senyawa aktif seperti tanin, flavonoid, dan triterpenoid. **Metode:** Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan *posttest with control group design* menggunakan metode difusi. Sampel penelitian yaitu ekstrak etanol daun ungu dengan konsentrasi 12.5%, 25%, 50% dan  $\text{Ca}(\text{OH})_2 + \text{CHX}$  dengan masing-masing dilakukan 3 kali pengulangan. Aktivitas antibakteri diamati berdasarkan zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram pada media MHA. Teknik pengolahan dan analisis data dilakukan dengan uji *One-Way Anova* dan *Least Significance Difference (LSD)*. **Hasil:** Berdasarkan uji daya hambat, pada kelompok ekstrak daun ungu 12.5% rata-rata zona hambat yaitu 8.86 mm. Untuk perbandingan kontrol positif sebesar 11.2 mm. Hasil uji *One-Way Anova* dan *Least Significance Difference* menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok penelitian. **Kesimpulan:** Ekstrak etanol daun ungu (*Graptophyllum pictum L. Griff*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Enterococcus faecalis*. **Kata Kunci:** Ekstrak daun ungu, antibakteri, *Enterococcus faecalis*.



## ABSTRACT

**UMMA MANGIRI PABESAK. Natural Antibacterial Activity of Purple Leaf Ethanol Extract (*Graptophyllum pictum L. Griff*) Against *Enterococcus faecalis* (Studi In Vitro)** (supervised by Dr. Juni Jekti Nugroho, drg., Sp.KG., Subsp., KE (K))

**Background:** Root canal treatment (PSA) is a treatment to remove inflamed and infected pulp tissue, eliminating infection-causing bacteria present in the complex structure of the dental root canal. *Enterococcus faecalis* bacteria are often found in cases of root canal treatment failure and have the potential to cause secondary root canal infections. The use of medicaments such as calcium hydroxide ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) has been widely applied because it has antibacterial properties, but its effectiveness has decreased over time due to the resistance factor of *Enterococcus faecalis* bacteria. One of the natural ingredients that is antibacterial is purple leaves because they contain active compounds such as tannins, flavonoids, and triterpenoids. **Methods:** The type of research used is laboratory experimental research with *posttest with control group design* using the diffusion method. The research samples were purple leaf ethanol extract with concentrations of 12.5%, 25%, 50% and  $\text{Ca}(\text{OH})_2 + \text{CHX}$  with 3 repetitions each. Antibacterial activity was observed based on the clear zone formed around the disc paper on the MHA media. Data processing and analysis techniques were carried out by *One-Way Anova* and *Least Significance Difference (LSD)* tests. **Results:** Based on the inhibition test, in the purple leaf extract group of 12.5%, the average inhibition zone was 8.86 mm. For comparison, the positive control is 11.2 mm. The results of the *One-Way Anova* and *Least Significance Difference tests* showed that there were significant differences between the research groups. **Conclusion:** Ethanol extract of purple leaves (*Graptophyllum pictum L. Griff*) has antibacterial activity against *Enterococcus faecalis*. **Keywords:** Purple leaf extract, antibacterial, *Enterococcus faecalis*.



## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGAJUAN SKRIPSI .....	ii
HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI .....	iii
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 Tujuan Penelitian .....	2
1.3.1 Tujuan Umum.....	2
1.3.2 Tujuan Khusus.....	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	3
1.4.1 Manfaat Iptek.....	3
1.4.2 Manfaat Klinis.....	3
BAB II METODOLOGI PENELITIAN .....	4
2.1 Jenis Penelitian.....	4
2.2 Desain Penelitian.....	4
2.3 Lokasi Penelitian.....	4
2.4 Waktu Penelitian .....	4
2.5 Populasi .....	4
2.6 Sampel.....	4
2.7 Kriteria Sampel .....	4
2.7.1 Kriteria inklusi.....	4
sklusi.....	4
.....	4
akuan.....	5
litian .....	5
sebas .....	5



2.10.2 Variabel Terikat.....	5
2.10.3 Variabel Antara .....	5
2.10.4 Variabel Kendali .....	5
2.11 Definisi Operasional Variabel .....	5
2.12 Alat dan Bahan.....	6
2.12.1 Alat .....	6
2.12.2 Bahan .....	6
2.13 Prosedur Penelitian.....	6
2.13.1 Sterilisasi .....	6
2.13.2 Pembuatan Ekstrak Daun Ungu.....	6
2.13.3 Tahapan Uji Daya Hambat Bakteri .....	6
2.14 Pengolahan dan Analisis Data.....	7
2.15 Alur Penelitian.....	8
BAB III HASIL DAN PEMBAHASAN .....	9
3.1 Hasil Pemeriksaan Uji Daya Hambat.....	9
3.2 Pembahasan.....	12
BAB IV KESIMPULAN DAN SARAN.....	15
4.1 Kesimpulan .....	15
4.2 Saran .....	15
DAFTAR PUSTAKA.....	16
LAMPIRAN .....	19



## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 3.1</b> Rata-rata dan simpangan baku diameter zona hambat dari setiap kelompok setelah inkubasi 24 jam .....	10
<b>Tabel 3.2</b> Hasil uji Anova one way diameter zona hambat antar kelompok setelah inkubasi 24 jam.....	11
<b>Tabel 3.3</b> Hasil uji LSD mengenai diameter zona hambat antar kelompok daun ungu 12.5% dan control positif setelah inkubasi 24 jam .....	11



Optimized using  
trial version  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 2.1</b> Bagan alur penelitian .....	8
<b>Gambar 3.1</b> Hasil uji daya hambat bakteri <i>Enterococcus faecalis</i> .....	9
<b>Gambar 3.2</b> Diagram batang rata-rata zona hambat dari setiap kelompok uji setelah inkubasi 24 jam.....	10



Optimized using  
trial version  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Pembebasan Etik .....	19
Lampiran 2. Surat Izin Penelitian .....	21
Lampiran 3. Undangan Seminar Hasil .....	23
Lampiran 4. Kartu Kontrol Skripsi.....	24
Lampiran 5. Hasil Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Ungu ( <i>Graptophyllum pictum L. Griff</i> ) Terhadap <i>Enterococcus faecalis</i> .....	25
Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian.....	26
Lampiran 7. Hasil Analisi Data .....	28
Lampiran 8. Curriculum Vitae.....	30
Lampiran 9. Rincian Biaya Penelitian.....	31



Optimized using  
trial version  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Perawatan saluran akar (PSA) merupakan perawatan untuk mengangkat jaringan pulpa yang meradang dan terinfeksi, mengeliminasi bakteri penyebab infeksi yang ada dalam struktur kompleks saluran akar gigi dan menghentikan perkembangan patologi periapikal sehingga gigi dapat tetap berfungsi.<sup>1</sup> Tahapan ini meliputi preparasi, desinfeksi, dan obturasi saluran akar.<sup>2</sup> Beberapa faktor seperti kompleksitas saluran akar, invasi mikroorganisme ke dalam tubulus dentin dan pembentukan *smear layer* mengakibatkan bakteri masih dapat ditemukan di dalam tubulus dentin walaupun sudah dilakukan pembersihan melalui preparasi biomekanis dan irigasi. Sebagian besar merupakan bakteri golongan anaerob, salah satunya adalah *Enterococcus faecalis*.<sup>3</sup>

*Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) adalah bakteri Gram positif anaerobik fakultatif, dengan karakteristik unik yang memungkinkannya bertahan hidup pada kondisi mikroorganisme yang mematikan. Kondisi tersebut antara lain konsentrasi garam yang tinggi, temperatur dan pH yang bervariasi, kadar oksigen rendah serta ekologi yang kompleks.<sup>4</sup> Bakteri *Enterococcus faecalis* sering ditemukan pada perawatan saluran akar yang gagal dan dapat menyebabkan infeksi saluran akar sekunder.<sup>5</sup> Hampir 80-90% infeksi saluran akar disebabkan oleh bakteri *Enterococcus faecalis*. Organisme ini dapat menghasilkan perubahan patologis melalui produksi toksin atau secara tidak langsung melalui proses inflamasi.<sup>6</sup> Karena instrumentasi mekanis dan irigasi tidak dapat sepenuhnya menghilangkan mikroorganisme, penggunaan medikamen saluran akar dengan sifat antibakteri sangat membantu mengeliminasi bakteri yang masih tertinggal dan mencegah infeksi berulang pada saluran akar.

Medikamen saluran akar adalah agen antibakteri dengan biokompatibilitas baik yang ditempatkan di dalam saluran akar diantara jadwal perawatan.<sup>7,8</sup> Medikamen saluran akar yang paling umum digunakan saat ini adalah kalsium hidroksida ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ). Beberapa keuntungan kalsium hidroksida sebagai obat pilihan terutama alkalinitas yang tinggi, kemampuan disolusi jaringan, kemampuan menetralisir endotoksin, sifat antibakteri dan antiinflamasi. Jenis bahan pencampur mempengaruhi kinerja  $\text{Ca}(\text{OH})_2$



tetapi efektivitas bahan ini akan menurun seiring lama waktu aplikasi karena beberapa faktor resistensi seperti kemampuan penetrasi ke dalam dentin, dan toleransi pH yang tinggi.<sup>10</sup> Merujuk dari hal tersebut, banyak dilakukan penelitian mengenai medikamen berbahan dasar herbal yang terbukti efektif menghambat pertumbuhan bakteri dalam saluran akar.

Salah satu tanaman yang bersifat antibakteri adalah daun ungu (*Graptophyllum pictum L. Griff*).<sup>11</sup> Menurut Indriana *et al* (2017), hasil uji fitokimia ekstrak daun ungu mengandung senyawa triterpenoid dan glikosida, yang dapat merusak protein membran sel bakteri pada saluran akar gigi sehingga menghambat pertumbuhannya. Berdasarkan penelitian Fauzi (2023), daun ungu mengandung senyawa tanin dan flavonoid yang berperan penting sebagai antibakteri.<sup>12,13</sup> Berdasarkan penelitian Kanedi *et al* (2021), ekstrak etanol daun ungu mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.<sup>14</sup>

Untuk meningkatkan kerja antibakteri daun ungu, perlu dilakukan proses ekstraksi menggunakan metode maserasi. Metode maserasi ini dilakukan dengan merendam bubuk simplisia menggunakan pelarut tertentu pada temperatur ruang dan terlindungi dari cahaya. Metode maserasi dipilih karena prosedur penggeraannya sederhana dan mudah dilakukan, serta mengekstraksi senyawa aktif melalui perendaman.<sup>15</sup> Pada proses ini sampel dan pelarut tidak melalui proses pemanasan sehingga dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil seperti flavonoid.<sup>48</sup> Prinsip kerja maserasi didasarkan pada kemampuan pelarut untuk dapat menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung berbagai komponen aktif. Zat aktif akan terdistribusi atau larut dalam pelarut.<sup>16,17</sup>

Berdasarkan uraian diatas penulis ingin meneliti mengenai aktivitas antibakteri alami ekstrak etanol daun ungu (*Graptophyllum pictum L. Griff*) terhadap *Enterococcus faecalis*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut: bagaimana aktivitas antibakteri alami ekstrak etanol daun ungu (*Graptophyllum pictum L. Griff*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis* secara *in vitro*?

## 1.3 Tujuan Penelitian



### Umum

aktivitas antibakteri alami ekstrak etanol daun ungu (*Graptophyllum pictum L. Griff*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis* secara *in vitro*.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengevaluasi aktivitas antibakteri alami ekstrak etanol daun ungu (*Graptophyllum pictum L. Griff*) terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*.
2. Mengevaluasi efektivitas kombinasi kalsium hidroksida ( $\text{Ca(OH)}_2$ ) + klorheksidin sebagai medikamen saluran akar terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*.

### 1.4 Manfaat Penelitian

#### 1.4.1 Manfaat Iptek

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai aktivitas antibakteri alami ekstrak etanol daun ungu (*Graptophyllum pictum L. Griff*) terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*.

#### 1.4.2 Manfaat Klinis

Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan data dan informasi mengenai aktivitas antibakteri alami ekstrak etanol daun ungu (*Graptophyllum pictum L. Griff*) terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*.



## **BAB II**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **2.1 Jenis Penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental laboratoris.

#### **2.2 Desain Penelitian**

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *posttest with control group design*.

#### **2.3 Lokasi Penelitian**

1. Proses pembuatan ekstrak etanol dilakukan di Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
2. Uji efektivitas antibakteri dilakukan di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Masyarakat Makassar

#### **2.4 Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juni-Agustus 2024

#### **2.5 Populasi**

Populasi penelitian yaitu koloni bakteri *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

#### **2.6 Sampel**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

#### **2.7 Kriteria Sampel**

##### **2.7.1 Kriteria inklusi**

1. Bakteri *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 yang sudah dibiakkan
2. Daun ungu yang telah diekstrak dengan metode maserasi
3. Medium Agar yang telah disterilkan

##### **2.7.2 Kriteria Eksklusi**

1. Bakteri *Enterococcus faecalis* yang terkontaminasi lingkungan
2. Daun ungu yang layu
3. Medium Agar yang terkontaminasi lingkungan



#### **Impel**

Jumlah sampel yang digunakan pada penelitian ini dihitung dengan rumus Federer:

$$(n-1) \quad (t-1) \quad \geq$$

Keterangan:

t = kelompok perlakuan

n = jumlah sampel

## **2.9 Kelompok Perlakuan**

Dalam penelitian ini terdapat 4 kelompok

Kelompok 1: ekstrak etanol daun ungu 12.5%

Kelompok 2: ekstrak etanol daun ungu 25%

Kelompok 3: ekstrak etanol daun ungu 50%

Kelompok 4: kalsium hidroksida + klorheksidin (kontrol positif)

## **2.10 Variabel Penelitian**

### **2.10.1 Variabel Bebas**

Kalsium hidroksida, ekstrak etanol daun ungu (*Graptophyllum pictum L. Griff*)

### **2.10.2 Variabel Terikat**

Bakteri *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

### **2.10.3 Variabel Antara**

Mekanisme ekstrak etanol daun ungu dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*.

### **2.10.4 Variabel Kendali**

Temperatur inkubasi selama perlakuan adalah 37°C, waktu inkubasi selama 24 jam, konsentrasi ekstrak etanol daun ungu 12.5%, 25% dan 50% kepadatan bakteri *Enterococcus faecalis* adalah  $1.5 \times 10^8$  CFU/ml atau setara dengan 0.5 McFarland.

## **2.11 Definisi Operasional Variabel**

1. Ekstrak etanol daun ungu (*Graptophyllum pictum L. Griff*) adalah hasil ekstraksi daun ungu konsentrasi 12.5%, 25% dan 50% menggunakan metode maserasi.
2. *Enterococcus faecalis* adalah bakteri *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 diambil dari stok 50 µL yang dibiakkan dalam BHIB kemudian diencerkan hingga mencapai kepadatan  $1.5 \times 10^8$  CFU/ml atau setara dengan 0.5 McFarland.
3. Aktivitas antibakteri adalah pengukuran zona bening yang terbentuk pada yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dengan tertentu.



## 2.12 Alat dan Bahan

### 2.12.1 Alat

Oven, piring, *blender*, mortar, ayakan sieve 100 mesh, *magnetic stirrer*, *conical flask* (gelas Erlenmeyer 1 liter), tabung reaksi, batang pengaduk, *Whatman filter paper* no.40, cawan petri, timbangan analitik, jarum inkubasi, pinset, aluminium foil, kapas, autoklaf, *hotplate*, inkubator, *cotton swab* steril, jangka sorong.

### 2.12.2 Bahan

Daun ungu (*Graptophyllum pictum L. Griff*), etanol, aquades, bakteri *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, kalsium hidroksida, klorheksidin *Natrium Agar* (NA), *Mueller Hinton Agar* (MHA)

## 2.13 Prosedur Penelitian

### 2.13.1 Sterilisasi

Alat-alat yang akan digunakan dicuci dengan deterjen dan dibilas dengan 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%.

### 2.13.2 Pembuatan Ekstrak Daun Ungu

1. Daun ungu dicuci bersih dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada daun kemudian dikeringkan pada suhu ruangan
2. Sampel daun ungu yang sudah kering dihaluskan menggunakan blender dan diayak hingga menjadi serbuk simpliasis
3. Serbuk daun ungu kemudian dimaserasi dengan etanol 96% selama 3 hari
4. Hasil filtrat maserasi disaring menggunakan kertas saring, dan diuapkan dengan tujuan bebas dari larutan etanol menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 55°.
5. Didapatkan ekstrak etanol daun ungu semisolid (kental) 100% Selanjutnya dilakukan pengenceran dengan cara *serial dilution* sehingga didapat ekstrak etanol daun ungu konsentrasi 12.5%, 25%, 50%.



kapas dan alumininum foil lalu disterilkan menggunakan autoklaf. Selanjutnya dimasukkan ke dalam cawan petri sebanyak 15 ml.

## 2. Uji Daya Hambat Bakteri

Metode pengujian yang digunakan adalah metode *Kirby-Bauer* yaitu metode difusi menggunakan kertas cakram. Biakan bakteri *E. faecalis* digoreskan perlahan ke cawan petri yang berisi MHA secara aseptik. Selanjutnya dimasukkan kertas cakram yang telah ditetesi sampel berupa ekstrak etanol daun ungu 12.5%, 25%, 50% dan kontrol positif menggunakan pinset steril. Kemudian inkubasi media selama 24 jam pada temperatur 37°C. Setelah inkubasi selesai, zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram diamati dan diukur diameter vertikal, diameter horizontal, dan diameter diagonal dengan satuan milimeter (mm) menggunakan jangka sorong. Pengujian daya hambat ekstrak etanol daun ungu terhadap bakteri *E. faecalis* dilakukan secara triplikat atau sebanyak 3 kali pengulangan untuk setiap sampel pengujian.

## 3. Pengukuran Kekuatan Daya Hambat

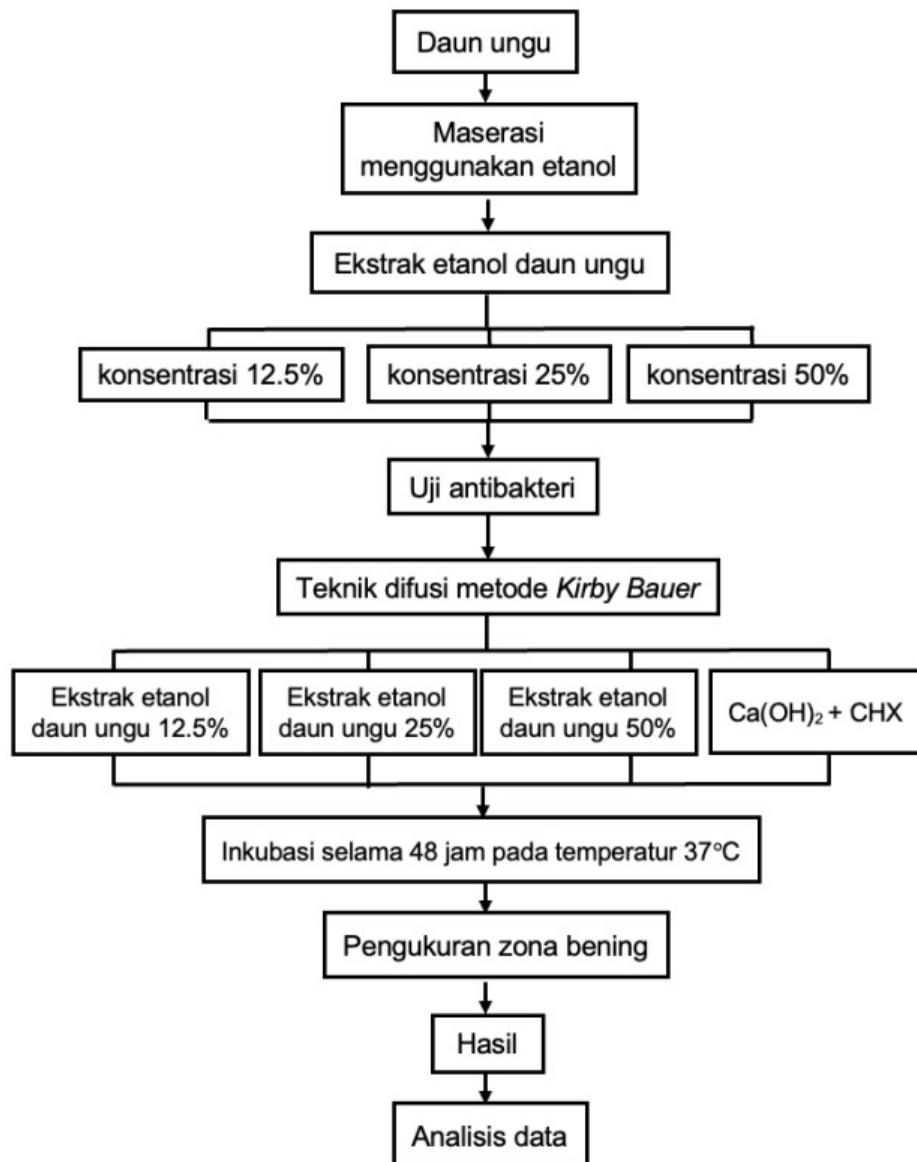
Berdasarkan kategori hambatan bakteri menurut Davis & Stout (2009) dan Rahayu *et al* (2019) apabila diameter zona hambat yang terbentuk >20 mm maka kategori sangat kuat, apabila diameter zona hambat yang terbentuk sebesar 11-20 mm termasuk kategori kuat, sedangkan jika diameter zona hambat yang terbentuk 5-10 mm dikategorikan sedang, dan jika diameter zona hambatnya <5 mm maka kategori antibakterinya adalah lemah.<sup>18</sup>

### 2.14 Pengolahan dan Analisis Data

Data yang dikumpulkan merupakan data primer yang akan diolah menggunakan perangkat lunak SPSS IBM versi 27. Analisis statistik dilakukan melalui uji *One-Way Anova* untuk menilai apakah terdapat perbedaan yang signifikan antara konsentrasi ekstrak etanol daun ungu dengan kelompok kontrol positif terkait pertumbuhan *Enterococcus faecalis*. Selain itu, uji *Least Significance Difference* (LSD) akan digunakan untuk menentukan konsentrasi mana yang menunjukkan perbedaan signifikan bila hasil uji Anova menunjukkan hasil yang signifikan. Hasil analisis akan disajikan dalam bentuk gambar, tabel dan grafik untuk memudahkan pemahaman dan interpretasi data penelitian.



## 2.15 Alur Penelitian



Gambar 2.1 Bagan alur penelitian