

PROPOSAL SKRIPSI
UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN
KASTUBA MERAH (*Euphorbia pulcherrima* Willd.)
TERHADAP BAKTERI *Streptococcus mutans* ATCC 25175



Oleh
DYAH FITRI RACHMANI
K1A018023

PROGRAM STUDI FARMASI
JURUSAN ILMU KESEHATAN
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS MATARAM
2024

PROPOSAL SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KASTUBA MERAH (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) TERHADAP BAKTERI *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Diajukan sebagai syarat meraih gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) pada
Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Mataram



Oleh
DYAH FITRI RACHMANI
K1A018023

**PROGRAM STUDI FARMASI
JURUSAN ILMU KESEHATAN
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS MATARAM
MATARAM
2024**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertandatangan di bawah ini,

Nama : Dyah Fitri Rachmani

NIM : K1A018023

Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Program Studi : Farmasi

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang saya tulis dengan judul:

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KASTUBA

MERAH (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) TERHADAP BAKTERI

***Streptococcus mutans* ATCC 25175**

Adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan benar.

Mataram, 30 Juli 2024

Dyah Fitri Rachmani

K1A018023

HALAMAN PENGESAHAN

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KASTUBA MERAH (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) TERHADAP BAKTERI *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Dipersiapkan dan disusun oleh:

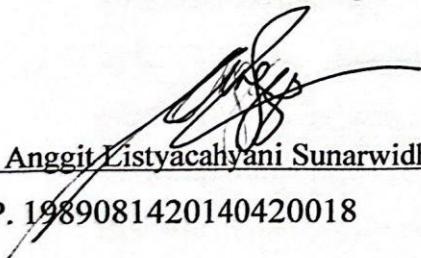
Nama Mahasiswa : Dyah Fitri Rachmani
NIM : K1A018023
Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Program Studi : Farmasi

Telah dipertahankan dihadapan Dewan Pengaji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk melakukan seminar proposal skripsi pada Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Mataram.

Disetujui oleh:

Mataram, 23 September 2024

Pembimbing I


apt. Anggit Listyacahyani Sunarwidhi, M.Sc., Ph.D.
NIP. 1989081420140420018

Mataram, 23 September 2024

Pembimbing II


apt. Neneng Rachmalia Izzatul Mukhlishah, M.Farm.
NIP. 199203172022032010

Mataram, 23 September 2024

Pengaji


Nurmi Hasbi, S.Si, M.Si.

NIP. 199202212022032009

KATA PENGANTAR

Segala puji syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa, atas rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan proposal skripsi ini dengan judul “**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KASTUBA MERAH (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) TERHADAP BAKTERI *Streptococcus mutans* ATCC 25175**

Proposal skripsi ini dapat diselesaikan berkat bimbingan dan dukungan ilmiah maupun materil dari berbagai pihak, oleh karena itu perkenankanlah penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. dr. Arfi Syamsun, SP.KF., M.Si.Med selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Mataram.
2. Dr. apt. Agriana Rosmalina Hidayati, S. Farm., M. Farm. selaku Ketua Koordinator Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Mataram.
3. apt. Nissa Isneni Hanifa, S.Farm. M.Sc. selaku Ketua Jurusan Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Mataram.
4. apt. Anggit Listyacahyani Sunarwidhi, S.Farm., M.Sc., Ph.D. Selaku dosen pembimbing I yang telah membimbing, meluangkan waktu, memberikan masukan dan dukungan serta mengarahkan penulis selama penyusunan proposal skripsi ini.
5. apt. Neneng Rachmalia Izzatul Mukhlishah, M.Farm. Selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan masukan, meluangkan waktu untuk membimbing penulis, motivasi dan memberi dukungan sehingga penulis mampu menyelesaikan proposal skripsi ini.
6. apt. Wahida Hajrin, S.Farm., M.Pharm. Sci selaku dosen pembimbing akademik yang telah memberikan arahan dan bimbingan dalam perencanaan perkuliahan selama setiap semester.

7. Ayah tercinta Sugianto dan Ibu tercinta Siti Aliyah, kedua kakak saya dan semua keluarga yang senantiasa mendoakan, memberi dukungan dan kasih sayang yang telah diberikan selama ini sehingga mampu menyelesaikan proposal skripsi ini.
8. Teman-teman dan semua pihak yang telah membantu dan memberikan dukungan dalam penyusunan proposal skripsi ini.

Mataram, 30 juli 2024

Dyah Fitri Rachmani
K1A018023

ABSTRAK

Daun Kastuba Merah (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, dan terpenoid. Adanya kandungan metabolit sekunder tersebut berpotensi sebagai agen antibakteri terhadap mikroorganisme. Daun kastuba merah (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat tradisional dalam menyembuhkan berbagai macam penyakit salah satunya yaitu sakit gigi. Penyakit karies gigi adalah penyakit gigi yang disebabkan oleh bakteri *Streptococcus mutans*. Bakteri *Streptococcus mutans* mengakibatkan turunnya pH pada permukaan gigi yang menyebabkan email gigi mengalami demineralisasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah ekstrak etanol daun kastuba merah memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Sampel daun kastuba merah diekstraksi menggunakan etanol 96% dengan metode sonikasi, kemudian dilakukan pengujian kandungan metabolit sekunder menggunakan GC-MS dan dilakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kastuba merah menggunakan difusi cakram dengan konsentrasi 2%, 3% dan 4%, menggunakan kontrol positif klorheksidin glukonat 0,2% dan kontrol negatif menggunakan DMSO 10%. Analisis data menggunakan uji statistik *Kruskall-Walls* dengan taraf kepercayaan 95%.

Kata kunci: Daun kastuba merah (*Euphorbia pulcherrima* Willd.), karies gigi, metabolit sekunder, *Streptococcus mutans*.

ABSTRACT

Red Castor Leaf (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) is known to contain secondary metabolite compounds such as flavonoids, tannins, and terpenoids. The existence of the content of secondary metabolites has the potential to be an antibacterial agent against microorganisms. Red cassava leaves (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) are widely used by the community as a traditional medicine in curing various diseases, one of which is toothache. Dental caries disease is a dental disease caused by the bacteria *Streptococcus mutans*. *Streptococcus mutans* bacteria result in a decrease in pH on the tooth surface which causes tooth enamel to demineralize. This study aims to find out whether ethanol extract of red cassava leaves has antibacterial activity against *Streptococcus mutans* bacteria. Red castor leaf samples were extracted using 96% ethanol by sonication method, then secondary metabolite content testing was carried out using GC-MS and antibacterial activity tests were carried out on red castor leaf ethanol extract using disc diffusion with concentrations of 2%, 3% and 4%, using 0.2% chlorhexidine gluconate positive control and negative control using 10% DMSO. Data analysis uses the Kruskall-Walls statistical test with a 95% confidence level.

Keywords: Red poinsettia leaves (*Euphorbia pulcherrima* Willd.), dental caries, secondary metabolites, *Streptococcus mutans*.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	ix
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Ruang lingkup	4
1.5 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Definisi Gigi.....	5
2.1.1 Struktur dan Bentuk Gigi	5
2.1.2 Karies Gigi	7
2.2 Tanaman Kastuba Merah	8
2.2.1 Klasifikasi Tanaman.....	8
2.2.2 Morfologi Kastuba	9
2.2.3 Kandungan Kimia	10
2.2.4 Deskripsi Kastuba	10
2.2.5 Manfaat Tumbuhan	11
2.3 Simplisia.....	11
2.3.1 Definisi	11
2.3.2 Tahapan Pembuatan	12
2.4 Ekstraksi.....	13

2.4.1	Metode Ekstraksi.....	15
2.5	Skrining Metabolit Sekunder	15
2.5.1	Flavonoid	15
2.5.2	Terpenoid	16
2.5.3	Tanin	17
2.6	Kromatografi Gas – Spektrometri Massa.....	17
2.7	Bakteri.....	18
2.7.1	Bakteri <i>Streptococcus Mutans</i>	18
2.8	Uji Aktivitas Antibakteri	20
2.9	Analisis Data	22
2.10	Kerangka Konsep	24
BAB III METODE PENELITIAN	25
3.1	Rancangan Penelitian	25
3.2	Alat Penelitian	25
3.3	Bahan Penelitian	25
3.4	Variabel Penelitian	25
3.4.1	Variabel Bebas	25
3.4.2	Variabel Terikat	26
3.4.3	Variabel Terkendali	26
3.5	Waktu Penelitian	26
3.6	Prosedur Kerja	26
3.6.1	Pengambilan Sampel	26
3.6.2	Pembuatan Simplisia.....	27
3.6.3	Pembuatan Ekstrak.....	27
3.6.4	Penapisan Fitokimia	28
3.6.5	Uji Aktivitas Antibakteri.....	28
3.7	Analisis Data	32
3.8	Alur Penelitian	33
DAFTAR PUSTAKA	34
LAMPIRAN	42

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kandungan Senyawa Ekstrak Etanol Daun Kastuba	10
---	----

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur Gigi	7
Gambar 2.2 Karies Gigi.....	8
Gambar 2.3 Tanaman Kastuba	9
Gambar 2.4 <i>Streptococcus mutans</i>	19
Gambar 2.5 Skema Kerangka Konsep.....	24
Gambar 3.1 Peta Wilayah.....	27
Gambar 3.2 Alur Penelitian.....	33

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kesehatan mulut adalah hal yang penting bagi manusia karena kesehatan gigi dan mulut dapat mempengaruhi kesehatan tubuh secara menyeluruh (Husna, 2019). Mulut dan gigi sering mengalami infeksi yang disebabkan oleh bakteri dan jamur, salah satu infeksi yang dialami yaitu karies gigi yang disebabkan oleh bakteri *Streptococcus mutans* (Mumpuni dan Pratiwi, 2013). Karies gigi merupakan penyakit pada jaringan gigi, seperti email, sementum, dan dentin disebabkan karena aktivitas jasad renik yang terdapat dalam suatu karbohidrat yang diragikan. Proses karies gigi ditandai terjadinya demineralisasi pada jaringan karies gigi dan diikuti dengan kerusakan bahan organiknya. Penyebab karies gigi salah satunya adalah plak gigi (Mardiah dkk, 2017). Tahun 2018 hasil dari Riset Kesehatan Dasar (Risksdas) mencatat proporsi masalah kesehatan gigi dan mulut di Indonesia sebesar 57,6%. Prevalensi karies gigi di Indonesia sebesar 88,8% dengan prevalensi karies akar 56,6%. Prevalensi karies pada semua kelompok umur cenderung tinggi diatas 70%. Prevalensi karies tertinggi pada kelompok umur 55-64 tahun adalah 96,8%, prevalensi karies akar pada kelompok umur adalah 35-44 tahun adalah 92,2% (Kementerian Kesehatan, 2019)

Penyakit karies gigi sebagian besar disebabkan oleh bakteri *Streptococcus mutans*. Bakteri *Streptococcus mutans* adalah gram positif non motil (tidak bergerak), tersusun dalam rantai dan berbentuk bulat, dan tumbuh optimal pada suhu 18°-40° C. Bakteri *Streptococcus mutans* dapat memetabolisme karbohidrat terutama sukrosa, dan membuat suasana asam pada rongga mulut sehingga menyebabkan karies gigi (Lemont, 2010). Asam yang dihasilkan oleh bakteri *Streptococcus mutans* mempercepat pematangan plak, hal ini terjadi karena adanya interaksi glukosa dengan protein permukaan *Streptococcus mutans* mengakibatkan turunnya pH pada permukaan gigi. Jika

pH menurun sampai pada angka kritis (5,2-5,5) maka email gigi akan larut (demineralisasi).

Cara mencegah terjadinya karies gigi yaitu dengan menghambat pertumbuhan bakteri yang dapat mengurangi produksi asam (Nugraha, 2010). Upaya meminimalisasi terjadinya karies gigi dengan mengurangi penumpukan plak di permukaan gigi dengan menggunakan pasta gigi dan obat kumur (*mouthwash*). Obat kumur dapat membunuh bakteri menghilangkan bau tidak sedap dan mencegah terjadinya karies gigi. Penggunaan obat kumur dalam jumlah berlebih atau dalam jangka panjang dapat menyebabkan perubahan warna gigi, dorsum lidah, menurunkan kepekaan rasa pada lidah dan meningkatkan terjadinya pembentukan karang gigi (Ariyani dkk, 2021).

Penanggulangan dari efek samping yang ditimbulkan dari penggunaan pasta gigi dan obat kumur dapat digunakan pengobatan alternatif seperti memanfaatkan bahan berkhasiat obat berbahan alami. Pemanfaatan bahan berkhasiat obat sudah sering digunakan oleh masyarakat Indonesia. Tanaman berkhasiat obat dinilai memiliki efek samping lebih kecil dibanding dengan obat yang berbahan kimia, selain itu mudah didapatkan dan harganya yang relatif lebih murah (Damayanti,2014). Menurut Oktanuli (2020) *moutwash* dengan bahan herbal dari tanaman obat telah banyak dikembangkan karena memiliki sifat antibakteri. Penggunaan moutwash herbal dengan kandungan antibakteri efektif mengurangi jumlah bakteri patogen. Selain lebih murah, lebih efesien dan mudah untuk didapat, penggunaan bahan alam dapat mendukung upaya dalam mengelola dan memberdayakan sumber daya alam.

Kastuba merah (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) merupakan salah satu spesies dari *Euphorbiaceae* yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai tumbuhan obat. Menurut Yakubu & Muhtar (2011) Kastuba telah dimanfaatkan sebagai obat patah tulang, antibakteri, dan obat luka bakar. Daun kastuba memiliki perbedaan warna, pada daun tua di bagian bawah berwarna hijau tua dan pada bagian pucuk daun berwarna merah tua. Perbedaan warna pada pertumbuhan daunnya menunjukkan adanya perbedaan kandungan pigmen yaitu pigmen klorofil dan antosianin (Markham, 1988).

Berdasarkan penelitian Sharif *et al* (2015), ekstrak metanol daun kastuba mengandung metabolit sekunder seperti terpenoid, flavonoid, alkaloid, saponin, serta steroid dan bagian daun yang berwarna merah mengandung senyawa antosianin. Daun kastuba pada bagian pucuk yang berwarna merah mengandung senyawa golongan flavonoid, terpenoid dan tanin yang lebih tinggi dibanding daun kastuba yang berwarna hijau. Daun kastuba merah (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) banyak digunakan oleh masyarakat Indonesia terutama di desa Timbanuh, Kecamatan Pringgasela, Kabupaten Lombok Timur sebagai obat sakit gigi dengan cara dikunyah, obat luka dan digunakan juga sebagai sayuran (Sopiah, 2019)

Kandungan senyawa metabolit sekunder yang ada pada daun kastuba merah seperti senyawa flavonoid, tanin dan terpenoid yang memiliki potensi sebagai antibakteri. Aktivitas senyawa flavonoid dalam menghambat pertumbuhan bakteri yaitu dengan menganggu keutuhan membran sel bakteri (Kumar *et al.*, 2013). Aktivitas senyawa terpenoid dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan merusak porin yang akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri, sehingga akan mengganggu keluar masuknya nutrisi dan senyawa lainnya dan mengakibatkan pertumbuhan bakteri terhambat atau sel bakteri akan mati (Retnowati *et al.*, 2011). Aktivitas senyawa tanin dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan mempresipitasi protein bakteri (Courtney *et al.*, 2015).

Pada penelitian Mardiana (2023) melakukan uji Formulasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan *Moutwash* Ekstrak Daun Jambu Mete (*Anacardium occidentale* L.). Berdasarkan hasil penelitiannya menyatakan bahwa ekstrak daun jambu mete daun memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans* pada konsentrasi (2%, 3%, dan 4%) dengan diameter zona hambat berturut-turut yaitu 16,2 mm, 18 mm, dan 19,94 mm. Zona hambat yang terbentuk pada bakteri *Streptococcus mutans* tergolong sangat kuat sebagai antibakteri. Konsentrasi larutan uji yang semakin besar maka akan menghasilkan zona hambat yang semakin besar juga karena kadar

senyawa yang terkandung didalamnya juga semakin tinggi sehingga lebih kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri (Sholichah et al., 2017)

Berdasarkan uraian di atas, maka akan dilakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kastuba merah (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) dalam menghambat bakteri *Streptococcus mutans*.

1.2 Rumusan Masalah

- 1.2.1 Apakah ekstrak etanol daun kastuba merah (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) memiliki efek antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*?
- 1.2.2 Berapakah konsentrasi ekstrak etanol daun kastuba merah (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*?
- 1.2.3 Bagaimana kandungan metabolit sekunder ekstrak etanol daun kastuba merah (*Euphorbia pulcherrima* Willd.)?

1.3 Tujuan Penelitian

- 1.3.1 Mengetahui apakah ekstrak etanol daun kastuba merah (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) memiliki efek antibakteri terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*.
- 1.3.2 Mengetahui konsentrasi ekstrak etanol daun kastuba merah (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) yang efektif dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*.
- 1.3.3 Mengetahui kandungan metabolit sekunder ekstrak etanol daun kastuba merah (*Euphorbia pulcherrima* Willd.)

1.4 Ruang Lingkup

Ruang lingkup penelitian ini dilakukan dengan metode penelitian eksperimental laboratories dengan sampel bakteri *Streptococcus mutans*.

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Bagi Peneliti

Menambah ilmu pengetahuan terkait aktivitas antibakteri ekstrak daun kastuba merah (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) pada

Streptococcus mutans dan meningkatkan kemampuan laboratorium terutama dalam bidang obat tradisional.

1.5.2 Bagi Masyarakat

Sebagai alternatif baru pengobatan antibakteri dengan memanfaatkan khasiat dari daun kastuba merah (*Euphorbia pulcherrima* Willd.)

1.5.3 Bagi Institusi Pendidikan

Meningkatkan pengembangan hasil penelitian terkait ilmu pengetahuan dan dapat dijadikan sebagai acuan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Gigi

Gigi adalah salah satu organ pengunyah yang terdiri dari rahang bawah dan rahang atas. Gigi terdiri dari beberapa bagian yaitu mahkota gigi, leher gigi dan akar gigi. Gigi susu akan mulai tumbuh pada balita berumur 6 bulan, dan setelah balita mulai berumur 2 tahun maka seluruh 20 buah gigi sudah tumbuh sempurna (Ramadhan, 2010). Setelah anak berumur sekitar 6-7 tahun, gigi susu akan tanggal secara bertahap dan digantikan dengan gigi tetap. Gigi tetap apabila tanggal tidak akan bisa digantikan dengan gigi baru atau gigi baru. Tanpa adanya gigi, maka manusia akan sulit untuk memakan makanan, sehingga dapat dilihat bahwa gigi dari fungsinya termasuk ke dalam sistem pencernaan. Gigi tumbuh di dalam lesung pada rahang serta memiliki jaringan seperti pada tulang, tetapi gigi bukan bagian dari kerangka. Menurut perkembangannya bahwa gigi lebih banyak memiliki persamaan dengan kulit dibanding dengan tulang (Hidayat, 2016).

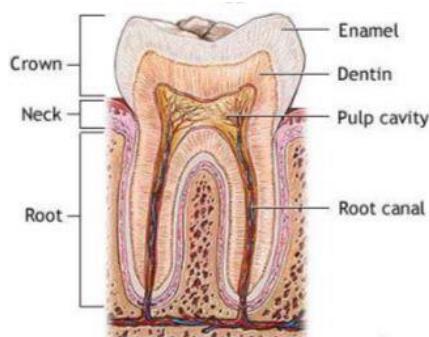
Gigi tetap pada umumnya pertama kali muncul yaitu gigi seri pada rahang bawah. Kemudian terjadi pergantian gigi seri secara bertahap pada rahang atas dan bawah atau dapat juga terjadi pergantian dua gigi seri sekaligus. Pergantian gigi taring dan gigi geraham kecil secara bergantian terjadi pada umur 10-12 tahun. Pada gigi geraham ke-1 tumbuh sekitar pada umur \pm 6 tahun, pada geraham ke-2 tumbuh sekitar pada usia 10 tahun ke atas, dan pada gigi tetap yang paling akhir tumbuh pada geraham ke-3 sekitar pada usia lebih dari 19 tahun. Jumlah dari gigi tetap seluruhnya sebanyak 32 buah (Hidayat, 2016).

2.1.1 Struktur dan Bentuk Gigi

Struktur gigi dibagi menjadi beberapa bagian yaitu mahkota gigi, leher dan akar gigi. Mahkota gigi (*korona, crown*) yaitu bagian gigi yang dilapisi oleh email/ dan normalnya terletak di bagian luar jaringan gingival. Leher gigi yaitu Line/ garis cervical merupakan batas antara bagian sementum dan email yang merupakan pertemuan

antara korona dan akar gigi. Akar (radix,root) yaitu Bagian gigi yang dilapisi sementum (semen) dan didukung oleh tulang alveolar maksila dan mandibula (Deynilisa, saluna, 2016). Mahkota gigi menjulang di atas gusi, lehernya dikelilingi gusi, dan akarnya berada dibawah. Setiap gigi memiliki bagian-bagian dari luar kearah dalam terdiri dari lapisan email, dentin, sentrum, dan pulpa. Lapisan email adalah lapisan terluar dari gigi, kemudian di dalam lapisan email terdapat dentin. Di bagian dalam dari dentin terdapat lubang yang berisi pembuluh darah dan jaringan saraf yang dinamakan pulpa. Terdapatnya jaringan saraf menyebabkan gigi yang bersifat peka terhadap berbagai rangsang, seperti pada panas dan dinginnya minuman atau makanan (Susanto, 2018).

Berdasarkan bentuk dan fungsinya gigi dapat dibagi menjadi beberapa jenis yaitu seri, taring, geraham besar dan geraham kecil. Gigi seri adalah gigi yang letaknya di bagian depan yang berjumlah empat buah di tulang rahang bawah dan atas, dan berfungsi untuk memotong atau mengerat makanan yang masuk. Gigi taring adalah gigi yang letaknya di samping gigi seri. Terdapat dua buah gigi taring di tulang rahang atas dan bawah. Mahkotanya berbentuk runcing dan berfungsi untuk merobek makanan. Gigi geraham besar adalah yang letaknya berada di bagian belakang gigi geraham kecil. Terdapat enam buah geraham besar di tulang rahang bawah dan atas dan berfungsi untuk menghaluskan makanan (Erwana). Gigi geraham kecil letaknya berada di belakang gigi taring. Terdapat empat buah geraham kecil di tulang rahang bawah dan atas dan berfungsi untuk membantu geraham besar menghaluskan makanan.



Gambar 2.1 Struktur gigi (Tarigan, 2013)

2.1.2 Karies Gigi

2.1.2.1 Definisi Karies Gigi

Karies gigi adalah penyakit pada jaringan keras gigi, meliputi email, dentin dan sementum yang disebabkan oleh aktivitas suatu jasad renik dalam suatu karbohidrat yang dapat diragikan. Karies gigi ditandai dengan terjadinya demineralisasi pada jaringan keras gigi yang selanjutnya diikuti oleh kerusakan bahan organiknya. Mengakibatkan terjadi invasi bakteri dan kematian pulpa serta penyebaran infeksinya ke jaringan periapeks yang dapat menyebabkan nyeri. Penyakit ini bersifat progresif dan kumulatif, apabila dibiarkan tanpa disertai perawatan dalam kurun waktu tertentu kemungkinan akan bertambah parah. Walaupun demikian, mengingat mungkin remineralisasi terjadi pada stadium yang sangat dini penyakit ini dapat dihentikan (Kidd E, 2013).

2.1.2.2 Etiologi Karies

Penyakit karies gigi dapat disebabkan oleh dua faktor yaitu penyebab dalam individu dan penyebab luar individu. Faktor yang menyebabkan karies gigi yaitu faktor di dalam mulut yang berhubungan langsung dengan proses terjadinya karies gigi antara lain host, mikroorganisme, substrat, dan waktu. Sedangkan untuk faktor luar individu

yaitu status ekonomi, keluarga, pekerjaan, fasilitas kesehatan gigi dan pendidikan kesehatan gigi yang pernah diterima. Untuk faktor mikroorganisme yang berperan dalam pembentukan karies gigi yaitu bakteri *Streptococcus mutans* (Rahmawati I, 2011).

Adapun faktor-faktor lain selain yang ada di dalam mulut yang langsung berhubungan dengan karies, yaitu faktor-faktor yang tidak langsung yang disebut faktor resiko luar, faktor ini merupakan faktor predisposisi dan faktor penghambat terjadinya karies. Faktor luar antara lain adalah usia, jenis kelamin, tingkat pendidikan, tingkat ekonomi, lingkungan, sikap dan perilaku yang berhubungan dengan kesehatan gigi. Bentuk karies gigi secara umum dapat dilihat pada gambar 2.1



Gambar 2.2 Karies gigi (Fian, 2010)

2.2 Tanaman Kastuba Merah (*Euphorbia pulcherrima* Willd.)

2.2.1 Klasifikasi Tanaman Kastuba Merah (*Euphorbia pulcherrima* Willd.)

Kastuba merupakan tanaman herba yang banyak tumbuh di wilayah tropis dan subtropis. Kastuba merupakan tanaman yang pertama kali dibudidayakan oleh bangsa Indian dari suku Aztec di Mexico dengan nama *cuetlaxochitl*. Menurut Lingga (2006), kastuba dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Devisi : Tracheobionta

Sub divisi : Spermatophyta
 Kelas : Dicotyledoneae
 Ordo : Euphorbiaceae
 Famili : Euphorbiales
 Genus : Euphorbia
 Spesies : *Euphorbia pulcherrima* Wild. Ex. Klotzsch

2.2.2 Morfologi Kastuba

Kastuba (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) merupakan tanaman dengan tinggi sekitar 3 meter dan memiliki bentuk tajuk dengan diameter luas sekitar 2 meter. Dengan daun tunggal berbentuk *elips* hingga bulat telur, daun menyirip dan ujung daun lancip serta adanya 2-4 lekukan ditemukan pada tangkai dan ujung daun kastuba. Bunga dari kastuba majemuk dengan susunan khusus yang disebut dengan *cyathium*, di setiap *cyathium* terdapat daun pelindung (*bract*) berwarna putih, merah, kuning atau warna lain sesuai varietasnya yang berbentuk seperti daun sejati. Daun pelindung adalah ciri khusus dari kastuba (Lingga,2006) pada daun kastuba menunjukkan perubahan warna, dimana perubahan tersebut menunjukkan adanya perbedaan pigmen daun termasuk pigmen klorofil dan antosianin (Maulid, 2015).



(a) Daun kastuba

(b) Helaian daun

Gambar 2.3 Tanaman Kastuba (Dokumentasi Pribadi)

Desa Timbanuh, Kecamatan Pringgasela, Kabupaten

Lombok Timur

2.2.3 Kandungan Kimia

Kastuba (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) mengandung senyawa metabolit sekunder terdiri dari terpenoid, flavonoid, alkaloid, saponin, serta steroid dan bagian daun yang berwarna merah dari kastuba mengandung senyawa antosianin (Sharif et al., 2015). Menurut penelitian Sopiah, et al (2019) Kastuba (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder. Hasil uji kualitatif pada daun kastuba menggunakan KLT mengandung flavonoid, tanin, dan terpenoid (Sopiah, et al., 2019). Senyawa antosianin ditemukan pada daun kastuba merah. Antosianin termasuk golongan senyawa flavonoid dan merupakan pigmen alami yang larut dalam air dan dapat memberikan warna merah, ungu, dan biru pada tanaman (Salisbury et al., 1995)

Tabel 2.1 Hasil Uji Kualitatif Kandungan Senyawa Ekstrak Etanol Daun Kastuba (Shopiah, et al., 2019).

Golongan Senyawa	Ekstrak Etanol Daun Kastuba	
	Daun Merah	Daun Hijau
Flavonoid	++	+
Tanin	++	+
Terpenoid	++	+
Keterangan (+)	: ada (lebih sedikit)	
(++)	: ada (lebih banyak)	

2.2.4 Deskripsi Tanaman Kastuba (*Euphorbia pulcherrima*)

Tanaman kastuba (*Euphorbia pulcherrima*) adalah tanaman herba yang hidup di daerah yang beriklim tropis sedang dengan kelembaban udara dan temperatur tidak terlalu panas. Selain dikenal dengan tanaman hias, bangsa Meksiko sejak dahulu menggunakan kastuba (*Euphorbia pulcherrima*) sebagai ramuan obat tradisional, yaitu untuk mengobati sakit perut, dan penyembuhan luka. Kastuba secara umum sebagian besar tanaman Euphorbiaceae memiliki batang

yang besar, sangat sukulen, dan mudah dikenali karena adanya duri di sepanjang bagian tubuh kastuba, sehingga menyerupai kaktus (Lingga, 2006).

Bunga kastuba majemuk berbentuk cawan dengan susunan khusus yang dapat disebut dengan *cyathium*, setiap *cyathium* terdapat daun pelindung (*bract*) yang terbentuk daun sejati berwarna merah, kuning, putih atau warna lain sesuai dengan varietasnya. Bunga betina berada di antara bunga jantan yang tidak memiliki mahkota, tetapi disekitarnya memiliki bunga semu (*cyathium*) (Lingga, 2006).

2.2.5 Manfaat Tumbuhan

Kastuba (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) berasal dari Mexico dan dimanfaatkan sebagai obat kulit serta mengatasi gigitan binatang berbisa. Kastuba memiliki sifat organoleptis yaitu pahit, sepat, bersifat sejuk. farmakologi berkhasiat untuk menghentikan pendarahan (*hemostasis*), melancarkan ASI (*galactagogue*), menghilangkan bengkak dan sebagai pencahar (*purgatorium*) (Lingga, 2006).

Pada penelitian Sharif (2015) menyatakan bahwa sifat obat dari kastuba dapat kontraindikasi dalam pengobatan lokal infeksi saluran pernafasan, malaria ekstrim, asma serta penyembuhan luka. Pada tanaman kastuba senyawa antioksidan yang ditemukan adalah flavonoid, alkaloid, terpenoid, dan saponin. Menurut Lingga (2006) yaitu mengatakan bahwa daun kastuba memiliki kandungan alkaloid, saponin, lemak, dan amylodextrin, yang berfungsi sebagai penyembuhan luka.

(a) Simplisia

2.3.1 Definisi

Menurut Departemen Kesehatan RI, simplisia merupakan bahan alamiah yang diperuntukkan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun kecuali dinyatakan lain sebagai bahan yang telah dikeringkan.

Ada beberapa simplisia yaitu berupa simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan atau mineral. Pemilihan tanaman sebagai simplisia nabati adalah salah satu faktor yang berpengaruh terhadap mutu simplisia, yaitu pemilihan bibit (untuk tumbuhan yang hasil budidaya) dan pengolahan maupun jenis tanah tempat tanaman obat tumbuh (Laksana, 2010).

2.3.2 Tahap Pembuatan

Tahapan pembuatan simplisia antara lain yaitu pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, perajangan, sortasi kering, pengepakan dan penyimpanan (Depkes RI, 1985).

a. Pengumpulan bahan baku

Kadar senyawa aktif dalam suatu simplisia berbeda-beda, tergantung dari bagian tanaman yang digunakan, bagian tanaman pada saat panen atau umur tanaman, waktu panen dan lingkungan tempat tumbuh.

b. Sortasi basah

Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya dari bahan simplisia. Misalnya seperti tanah, kerikil, rumput dan bagian tanaman yang tidak digunakan atau rusak.

c. Pencucian

Pencucian dilakukan untuk menghilangkan tanah dan pengotor lainnya yang menempel pada simplisia. Proses pencucian dilakukan dengan air bersih, seperti air dari mata air, air sumur dan PDAM.

d. Perajangan

Proses perajangan dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan dan pengepakan. Perajangan dapat menggunakan pisau atau alat mesin perajang khusus sehingga didapatkan irisan tipis atau potongan dengan ukuran yang dikehendaki.

e. Pengeringan

Pengeringan dilakukan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lama. Pengeringan simplisia dilakukan dengan menggunakan sinar matahari langsung atau dengan menggunakan alat pengering seperti oven. Adapun hal-hal yang perlu diperhatikan selama proses pengeringan antara lain suhu pengeringan, kelembaban udara, aliran udara, waktu pengeringan dan luas permukaan bahan.

f. Sortasi kering

Sortasi kering bertujuan untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotor-pengotor lain yang masih tertinggal pada simplisia kering.

g. Pengepakan atau penyimpanan

Cara pengemasan simplisia tergantung dari jenis simplisia dan tujuan penggunaan pengemasan. Wadah harus bersifat tidak beracun dan tidak bereaksi (*inert*) dengan isinya sehingga tidak menyebabkan terjadinya reaksi dan penyimpangan warna, bau, rasa pada simplisia. Wadah juga harus dapat melindungi simplisia dari cemaran mikroba, kotoran atau serangga.

h. % Rendemen

Rendemen merupakan perbandingan berat ekstrak yang diperoleh dengan berat simplisia sebagai bahan baku. Semakin tinggi nilai rendemen maka menunjukkan ekstrak yang dihasilkan semakin besar.

Rumus perhitungan rendemen

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{berat ekstrak kental yang diperoleh}}{\text{berat sampel yang digunakan}} \times 100\%$$

(b) Ekstraksi

Ekstraksi adalah salah satu teknik pemisahan kimia untuk menarik atau memisahkan satu atau lebih komponen atau senyawa-senyawa (analit) dari

suatu sampel dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Leba, 2017). Secara umum ekstraksi dibagi menjadi tiga, yaitu ekstraksi dingin, panas, dan dipercepat. Metode ekstraksi dingin yaitu, maserasi dan perkolasi, metode ekstraksi panas yaitu, refluks, soxhletasi, digesti, infusa, dan dekokta, dan metode ekstraksi dipercepat yaitu, ekstraksi sonikasi (United Nation Industrial Development Organization, 2008),

2.4.1 Cara dingin

- 2.4.1.1 Maserasi adalah proses ekstraksi simplisia dengan pelarut (polar/non polar) dan didiamkan selama kurang lebih 18-36 jam dengan sesekali dilakukan pengadukan.
- 2.4.1.2 Perkolasi adalah proses ekstraksi simplisia dengan menggunakan pelarut yang selalu baru sampai terjadinya penyaringan sempurna dan umumnya dilakukan pada temperatur kamar.

2.4.2 Cara panas

- 2.4.2.1 Refluks adalah proses ekstraksi simplisia pada temperatur titik didih menggunakan alat dengan pendingin balik dalam waktu tertentu.
- 2.4.2.2 Soxhletasi adalah proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut yang selalu baru dan digunakan dengan alat khusus (soxhlet).
- 2.4.2.3 Digesti adalah proses ekstraksi simplisia dengan pengadukan kontinu pada temperatur 40-50°C.
- 2.4.2.4 Infusa adalah proses ekstraksi simplisia yang menggunakan pelarut air pada temperatur 96-98°C.
- 2.4.2.5 Dekoktasi adalah ekstraksi dengan menggunakan pelarut air pada temperatur 90°C.
- 2.4.2.6 Sonikasi adalah proses ekstraksi menggunakan gelombang ultrasonic pada frekuensi 20 KHz – 10 KHz.

2.4.3 Metode Ekstraksi Terpilih

Sonikasi adalah metode pemberian perlakuan ultrasonik suatu bahan pada kondisi tertentu, sehingga bahan dapat menyebabkan mengalami reaksi kimia sebagai perlakuan yang diberikan. Kelebihan metode ekstraksi sonikasi yaitu efisien dan mempersingkat waktu ekstraksi, meningkatkan jumlah rendemen dan aman (Zou dkk, 2014). Proses ekstraksi sonikasi menggunakan gelombang ultrasonik pada frekuensi 20 KHz – 10 KHz atau disebut dengan istilah ultrasonikasi (Ashley, 2001; Kuildiloke, 2002). Prinsip dari sonikasi yaitu untuk meningkatkan transfer massa yang disebabkan oleh gelombang akustik ultrasonik. Saat gelombang akustik merambat dalam suatu cairan berisi bahan yang akan diekstrak, getaran ultrasonik dengan kecepatan tinggi dapat menyebabkan medium yang dilewati bergetar. Getaran tersebut akan memberikan perpindahan massa terhadap pelarut serta sampel yang akan mempengaruhi ekstraksi dan proses getaran tersebut dapat menghasilkan gelombang uap pada dinding sel tanaman. Metode sonikasi memiliki kelebihan yaitu aman, efisien, mempersingkat waktu, dan meningkatkan jumlah rendemen (Zou dkk., 2014)

2.4.4 Skrining Metabolit Sekunder Daun Kastuba Merah

Skrining fitokimia dilakukan pada simplisia kering dan ekstrak yang diperoleh. Skrining fitokimia bertujuan untuk mengetahui secara kualitatif kandungan metabolit sekunder yang terkandung dalam sampel. Uji kualitatif bertujuan untuk mengidentifikasi kandungan metabolit fitokimia, yaitu flavonoid, tanin, dan terpenoid.

2.4.4.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenolik terbesar di alam. Flavonoid memiliki kerangka dasar karbon terdiri dari 15 atom karbon yang membentuk susunan C6-C3-C6, yaitu dua cincin aromatis yang dihubungkan oleh satuan tiga karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga. Lebih dari 2000 flavonoid yang berasal dari tumbuhan yang sudah diidentifikasi diantaranya yaitu senyawa antosianin,

flavonol dan flavon (Julianto, 2019). Flavonoid adalah metabolit kimia yang biasanya terdapat pada bagian tanaman seperti pada buah, biji, sayuran, anggur, teh dan madu. Senyawa flavonoid dapat menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom dan lisosom sebagai hasil interaksi dari flavonoid dengan DNA bakteri, flavonoid juga memiliki sifat lipofilik sehingga memungkinkan dapat merusak membran sel bakteri (Hamdiyati, 2008).

2.4.4.2 Terpenoid

Terpen atau terpenoid bersifat aktif melawan bakteri, fungi, virus dan protozoa dengan mekanisme antimikroba dan perusakan membran sel oleh senyawa lipofilik (Hamdiyati, 2008). Terpenoid merupakan kelompok senyawa organic hidrokarbon yang sangat melimpah yang dihasilkan oleh berbagai tumbuhan. Terpenoid pada umumnya yang tidak berwarna merupakan cairan yang memiliki bau, berat jenis terpenoid lebih ringan daripada air, mudah menguap dengan adanya uap air panas. Senyawa terpenoid tidak dapat larut dalam pelarut organik dan biasanya tidak dapat larut dalam air. Struktur senyawa terpenoid merupakan alil siklik, beberapa diantaranya merupakan senyawa tak jenuh dengan satu atau lebih ikatan rangkap. Terpenoid cepat mengalami reaksi polimerisasi dan dehidrogenasi serta mudah teroksidasi oleh agen pengoksidasi. Pada pemanasan kebanyakan terpenoid dapat menghasilkan isoprene sebagai salah satu produknya (Julianto, 2019).

2.4.4.3 Tanin

Tanin merupakan senyawa fenolik yang mempunyai rasa pahit dan sepat/kelat, dapat bereaksi dan menggumpalkan protein atau senyawa organic lain yang mengandung asam

amino dan alkaloid. Memiliki berat molekul antara 500 sampai 3000 (ester asam, galat) dan lebih besar dari 20.000 (proantosianidin) (Julianto, 2019). Mekanisme kerja dari tanin sebagai antibakteri yaitu untuk menghambat enzim reverse transcriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Nuria dkk, 2019). Tanin mempunyai aktivitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktifkan adhesi sel mikroba, menginaktifkan enzim dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel (Cowan 1999). Selain itu tanin juga memiliki target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Hal ini yang menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotic maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati (Sari, 2011).

(c) Kromatografi Gas – Spektrometri Massa

Kromatografi gas biasanya digunakan untuk memisahkan komponen-komponen yang dapat menguap dan hasil pemisahan dapat dilihat berupa kromatogram. Spektroskopi massa merupakan metode analisis yang dimana sampel dianalisis akan diubah menjadi ion-ion gasnya dan massa dari ion-ion dapat diukur berdasarkan hasil deteksi berupa spektrum massa (Sudjadi, 2007).

Pemisahan senyawa dalam kromatografi gas terjadi di dalam kolom dengan melibatkan dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam adalah zat yang berada di dalam kolom sedangkan fase gerak adalah sebagai gas pembawa (helium dan hidrogen). Teknik pemisahan kromatografi gas yaitu solut-solut yang mudah menguap dan stabil terhadap pemanasan akan bermigrasi melalui kolom yang merupakan fase diam dengan kecepatan yang tergantung rasio distribusinya. Biasanya solut akan terelusi berdasarkan pada peningkatan titik didihnya (kecuali jika terjadi interaksi khusus antara solute dengan fase diam). Fase gerak yang berupa gas akan

mengelusi solute dari ujung kolom yang akan dihantarkan kepada detector. Penggunaan suhu yang meningkat bertujuan agar menjamin bahwa solute akan menguap dan akan cepat terelusin, suhu yang digunakan biasa berkisar antara 50 -350°C (Sudjadi, 2007).

(d) Bakteri

2.6.1 Bakteri *Streptococcus mutans*

2.6.1.1 Morfologi dan Klasifikasi

Streptococcus mutans merupakan bakteri gram positif berbentuk bulat yang khas membentuk pasangan atau antai selama masa pertumbuhannya. *Streptococcus mutans* merupakan salah satu golongan bakteri yang heterogen. Beberapa diantaranya merupakan anggota flora normal pada manusia. *Streptococcus mutans* merupakan bakteri gram positif (+), bersifat non motil (tidak bergerak), ber diameter 1-2 µm, bakteri anaerob fakultatif. Memiliki bentuk bulat atau bulat telur, tersusun seperti rantai dan tidak membentuk spora (Juvensius et al, 2014). *Streptococcus mutans* biasanya terdapat pada rongga gigi manusia yang luka dan menjadi bakteri yang dapat menyebabkan infeksi serta dapat mengakibatkan karies gigi (Aqrabi et al., 2021; Mariyam & Alfiyanti, 2016). Bakteri *Streptococcus mutans* dapat mendemineralisasi struktur gigi karena mempunyai kemampuan untuk memecah gula untuk dimanfaatkan sebagai energy dan menyebabkan lingkungan menjadi asam. Sehingga bakteri ini termasuk bakteri kariogenik (Lemos et al., 2019).

Klasifikasi *Streptococcus mutans* menurut (Zelnicek, 2014) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Monera
Divisio	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Order	: Lactobacillales
Family	: Streptococcaceae
Genus	: Streptococcus
Spesies	: <i>Streptococcus mutans</i>



Gambar 2.4 *Streptococcus mutans* (Zelnicek, 2014)

2.6.1.2 Patogenesis Karies Gigi oleh *Streptococcus mutans*

Penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Streptococcus mutans* salah satu adalah karies gigi. Karies gigi dapat bertambah parah apabila mengkonsumsi makanan yang mengandung gula. Jika mengkonsumsi yang mengandung gula, terutama yaitu sukrosa, bahkan setelah beberapa menit penyikatan gigi, glikoprotein yang lengket (kombinasi molekul protein karbohidrat) bertahan pada gigi untuk mulai pembentukan plak pada gigi. Kemudian saat waktu bersamaan berjuta-juta bakteri *Streptococcus mutans* bertahan pada glikoprotein. Sehingga menyebabkan rongga atau lubang pada gigi (Mahon & Lehman, 2016).

Selanjutnya bakteri menggunakan fruktosa dalam suatu metabolisme glikolisis untuk mendapatkan energi. Hasil akhir dari glikolisis dibawah kondisi anaerob adalah asam laktat. Asam laktat menciptakan kadar keasaman yang

ekstra untuk menurunkan pH hingga batas tertentu sehingga dapat menghancurkan zat kapur fosfat pada email gigi mendorong kearah pembentukan rongga atau lubang. *Streptococcus mutans* memiliki enzim yaitu *glucosyl transferase* di atas permukaannya dapat menyebabkan polimerase glukosa pada sukrosa dengan pelepasan dari fruktosa, sehingga dapat mensintesis molekul glukosa yang memiliki berat molekul yang tinggi yang terdiri dari ikatan glukosa alfa (1-6) alfa (1- 3). Pembentukan alfa (1-3) ini sangat lengket, sehingga tidak larut dalam air. Hal ini dimanfaatkan oleh bakteri *Streptococcus mutans* untuk berkembang dan membentuk plak gigi. Enzim yang sama melanjutkan untuk menambahkan banyak molekul glukosa ke satu sama lain untuk membentuk dekstran yang memiliki struktur sangat mirip dengan amilase. Dextran dan bakteri melekat dengan erat pada email gigi dan memicu pembentukan plak gigi. Hal tersebut mengakibatkan akan terjadinya pembentukan rongga atau lubang pada gigi yang disebut dengan karies gigi (Boddapati & Gummadi, 2021; Ophardt, 2020).

(e) Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan difusi (Balouiri et al., 2016).

2.7.1 Metode dilusi

Metode dilusi secara umum dibagi menjadi dilusi cair (*broth dilution test*) dan metode dilusi padat (*solid dilution*) (Pratiwi, 2008). Untuk metode cair dapat menentukan kadar hambat minimum (KHM) dan kadar bunuh minimum (KBM). Dilakukan dengan cara membuat suatu seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang digunakan dengan penambahan mikroba uji pada medium tersebut. Larutan uji agen antimikroba pada kadar terkecil yang

terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang jernih setelah diinkubasi ditetapkan sebagai kadar (KBM). Metode dilusi padat dan cair hampir sama namun menggunakan media padat (solid). Metode ini memiliki keuntungan yaitu satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba (Kemenkes RI, 2017), selain itu metode ini juga memberikan data kuantitatif, mudah digunakan untuk mengukur aktivitas antimikroba pada bakteri yang pertumbuhannya lambat dan memerlukan 21 perlakuan khusus (Jiang, 2011; Luc, 2015), sedangkan kekurangan metode ini adalah cukup memakan waktu dan memerlukan keahlian khusus dalam pelaksanaannya (Kumar et al., 2010).

2.7.2 Metode Difusi

Metode difusi merupakan metode yang digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri. Metode ini dapat dilakukan dengan metode *disc diffusion* (tes Kirby and Bauer) dan *hole/cup-plate technique*. Pada metode difusi cakram, kertas cakram yang mengandung senyawa antibakteri diletakkan di atas media yang telah mengandung mikroba kemudian diinkubasi dan dibaca hasilnya berdasarkan kemampuan penghambatan mikroba di sekitar kertas cakram. Metode difusi sumuran dilakukan dengan membuat sumuran dengan diameter tertentu pada media agar yang sudah ditanami bakteri. Senyawa antibakteri diinokulasikan ke dalam sumuran tersebut dan diinkubasikan. Zona jernih yang terbentuk di sekitar cakram atau sumuran merupakan indikator penghambatan senyawa antibakteri terhadap pertumbuhan mikroba (Kemenkes RI, 2017). Zona bening menandakan kepekaan bakteri terhadap bahan antibakteri atau sampel yang digunakan sebagai bahan uji, hal ini

dinyatakan sebagai diameter zona hambat. Penilaian zona hambat dikategorikan menjadi lemah (kurang dari atau sama dengan 5 mm), sedang (6 hingga 10 mm), kuat (11 hingga 20 mm) dan sangat kuat (lebih dari atau sama dengan 21 mm) (S. T. Pratiwi, 2008).

Kelebihan dari metode difusi yaitu mudah, cepat, dan tidak terlalu memerlukan keahlian khusus dalam pengujian (Kumar et al., 2010). Sedangkan kekurangan dari metode ini, yaitu digunakan untuk mengukur aktivitas antimikroba pada bakteri yang pertumbuhannya lambat (Jiang, 2011).

2.2 Analisis Data

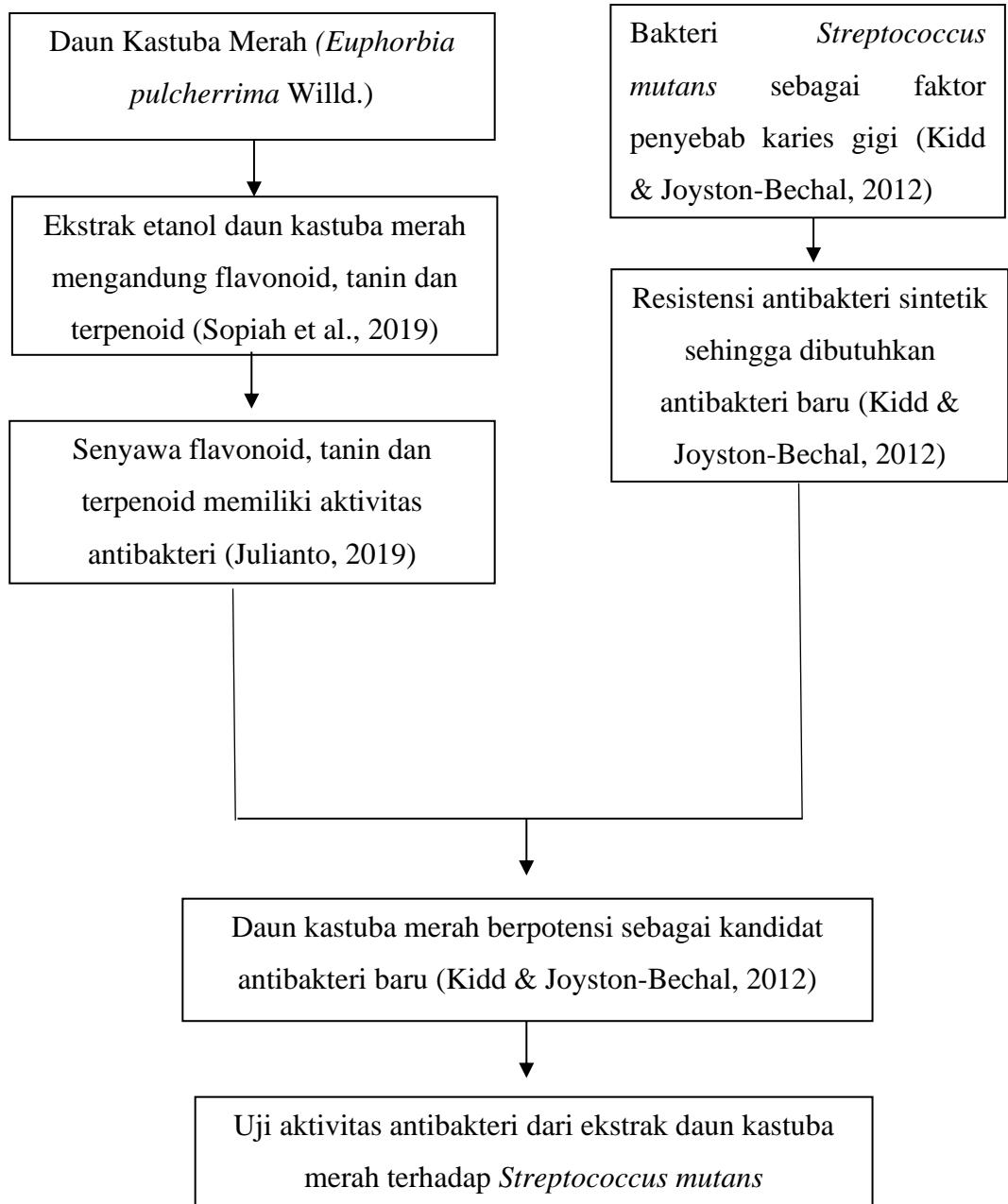
Pada penelitian ini untuk menentukan uji hipotesis yang sesuai secara teoritis perlu dilakukan pengujian data-data. Uji hipotesis yang sesuai akan membantu dalam pengambilan kesimpulan yang sah yang dapat digunakan dengan menggunakan aplikasi SPSS (*Statistical Product and Service Solution*) (Amiarsih, 2015). SPSS merupakan salah satu software statistika yang mampu memproses data statistik secara cepat dan akurat. Analisis dengan *One Way ANOVA* adalah salah satu metode analisis statistika yang dapat digunakan untuk menguji hipotesis yang bertujuan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan rata-rata antara dua atau lebih kelompok sampel. Menggunakan uji *One Way ANOVA* harus terlebih dahulu dilakukan uji asumsi meliputi uji normalitas dan uji homogenitas (Hulu & Sinaga, 2019).

Uji normalitas adalah suatu uji yang dilakukan dengan tujuan untuk menilai sebaran data pada sebuah kelompok data atau variabel terdistribusi normal atau tidak. Uji normalitas berfungsi untuk menentukan data yang telah dikumpulkan terdistribusi normal atau diambil dari populasi normal. Terdapat dua jenis uji normalitas yaitu Kolmogorov-Smirnov dan Shapiro-Wilk. Kolmogorov-Smirnov digunakan pada sampel yang besar atau lebih dari 50 (>50), sedangkan Shapiro-Wilk untuk sampel berukuran kecil atau kurang dari 50 (<50). Berdasarkan hasil dari program SPPS, data dapat dikatakan terdistribusi normal apabila nilai signifikansi lebih dari 0,05 (Sig.

>0,05) baik pada Kolmogorov-Smirnov maupun Shapiro- Wilk (Faradiba, 2020).

Uji homogenitas adalah syarat dalam uji parametrik. Uji ini hanya perlu digunakan pada uji parametrik yang menguji perbedaan antara kedua kelompok atau beberapa kelompok yang berbeda. Uji homogenitas terpenuhi jika hasil uji melebihi taraf signifikansi (>0,05). Apabila data yang didapat dari uji normalitas dan uji homogenitas terpenuhi maka dilanjutkan dengan uji *One Way* Anova, tetapi apabila data tidak homogen atau tidak terdistribusi normal maka dilanjutkan menggunakan Kruskall-Wallis (Faradiba, 2020).

2.3 Kerangka Konsep



Gambar 2.5 Skema Kerangka Konsep

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *eksperimental* dengan menggunakan rancangan penelitian *post test only with control group design* yaitu dengan memberikan perlakuan selanjutnya melakukan pengukuran terhadap variabel dan dibandingkan dengan kelompok kontrol (Notoatmodjo, 2010).

3.2 Alat penelitian

Alat yang digunakan adalah autoklaf (Tomy SX-500), GC-MS (*Gass Chromatography-Mass Spectrometry*) (Shimadzu QP2010 ULTRA, Eropa), batang pengaduk (Iwaki Pyrex), gelas ukur (Iwaky Pyrex) jarum ose (Rofa), *rotary evaporator* (Heidolph), timbangan analitik, blender (Sharp), masker, aluminium foil, cawan porselen (Iwaky Pyrex), gelas kimia (Iwaki Pyrex), spatula, tissue (Paseo), cawan petri (Iwaky Pyrex), corong kaca (Iwaki Pyrex), pipet tetes (One Med), rak tabung reaksi, wadah simplisia, erlenmeyer (Iwaki Pyrex), gunting, spatula, *hot plate* (Labnet), inkubator, labu ukur (Iwaki Pyrex)

3.3 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan adalah kertas cakram, daun kastuba merah, etanol 96% teknis (Brataco Chemika, Indonesia), akuades (Brataco®), NaCl 0,9% (Otsuka®), *Streptococcus mutans* ATCC 25175, DMSO 10% (Merck®), BaCl₂ 1% (Pudak Scientific®), medium Mueller Hinton Agar (MHA), larutan Mc Farland.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas (Variabel Independen)

Variabel bebas merupakan variabel yang menjadi sebab timbulnya variabel terikat (Riwidikdo,2012). Variabel bebas dalam penelitian ini yaitu ekstrak etanol daun kastuba merah (*Euphorbia pulcherrima* Willd.)

3.4.2 Variabel Terikat (Variabel dependen)

Variabel terikat adalah variabel yang menjadi akibat atau dipengaruhi karena adanya variabel bebas (variabel independen) (Sugiono, 2011). Variabel terikat dalam penelitian ini yaitu kandungan senyawa flavonoid, tanin dan terpenoid pada ekstrak etanol daun kastuba merah (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*.

3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali dari penelitian ini yaitu metode pengumpulan sampel, metode pengeringan, metode ekstraksi, waktu inkubasi, suhu inkubasi, volume media, dan volume suspensi bakteri yang diinokulasi pada media agar pertumbuhan bakteri

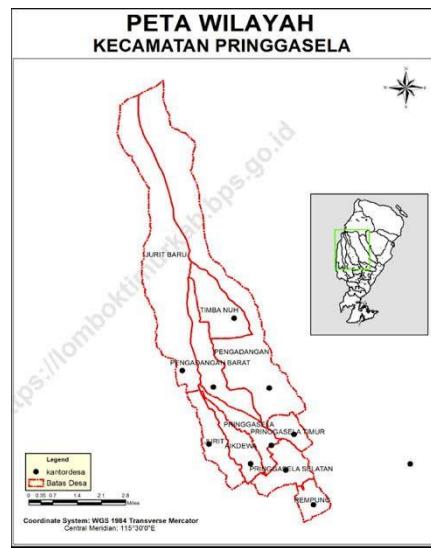
3.5 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan September 2024. Lokasi penelitian ini yaitudi Laboratorium Biologi Farmasi dan Penelitian Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Mataram, Indonesia.

3.6 Prosedur Kerja

3.6.1 Pengambilan Sampel Uji dan Determinasi Tanaman

Sampel tanaman liar dari daun kastuba merah diambil di Desa Timbanuh, Kecamatan Pringgasela, Kabupaten Lombok Timur. Kriteria daun yang diambil adalah bagian pucuk yang berwarna merah. Determinasi daun kastuba merah dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Mataram untuk mengetahui kebenaran sampel daun kastuba merah yang akan digunakan dalam penelitian.



Gambar 3.1 Peta Wilayah Kec. Pringgasela Lombok Timur
(Sumber: BPS, 2019)

3.6.2 Pembuatan Simplisia

Sebanyak 5 kg daun kastuba merah (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) dikumpulkan, selanjutnya dilakukan sortasi basah untuk memisahkan bagian daun kastuba merah dengan kotoran-kotoran yang menempel dengan air mengalir, kemudian dilakukan perajangan. Sebelum dikeringkan dilakukan penimbangan untuk mengetahui berat basahnya, sampel selanjutnya dikeringkan dengan diangin-anginkan. Kemudian dilakukan sortasi kering untuk memisahkan sisa kotoran yang masih tertinggal pada sampel. Sampel yang telah kering kemudian diserbukkan dengan menggunakan blender. Simplisia dari daun kastuba merah yang telah halus dimasukkan ke dalam wadah yang sesuai (Ibrahim et al., 2019).

$$\text{Rendemen simplisia (\%)} = \frac{\text{Jumlah berat kering (g)}}{\text{Jumlah berat basah (g)}} \times 100\%$$

3.6.3 Pembuatan Ekstrak

Simplisia daun kastuba merah diekstraksi dengan menggunakan metode sonikasi. Proses sonikasi dilakukan dengan cara memasukkan sampel dan pelarut dengan perbandingan (1:4) menggunakan pelarut

etanol 96%. Proses sonikasi dilakukan selama 30 menit pada suhu ruang. Kemudian hasil sonikasi difiltrasi dan proses sonikasi diulang sebanyak 3 kali pengulangan agar mendapatkan hasil yang optimal (Susanty, 2016). Setelah proses ekstraksi selesai, hasil ekstraksi disaring, filtrat yang dihasilkan diuapkan menggunakan rotary evaporator dengan suhu 40°C-50°C. Perhitungan rendemen ekstrak dapat dihitung dengan menggunakan persamaan (Widyaningrum, 2012):

$$\text{Rendemen Ekstrak (\%)} = \frac{\text{bobot ekstrak kental (g)}}{\text{bobot serbuk simplisia (g)}} \times 100\%$$

3.6.4 Identifikasi metabolit sekunder

Ekstrak etanol daun kastuba merah dianalisis menggunakan *Gass Cromatography-Mass Spectroscopy* (GC-MS) Shimadzu QP2010 ULTRA oleh pihak Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Mataram. Sampel ekstrak etanol daun kastuba merah diinjeksi ke dalam alat GC pada suhu 100°C, suhu awal kolom adalah 150°C selama 10 menit dan dinaikkan menjadi 5°C setiap menit sampai mencapai suhu 165° serta dipanaskan menjadi 270°C selama 2 menit. Kondisi alat MS meliputi suhu transfer 260°C dan *ion source* 200°C, deteksi sampel digunakan helium sebagai gas pembawa dengan kecepatan air 3 mL/menit, kolom yang digunakan Rtx-5MS, dengan panjang kolom 30 meter, ketebalan 0,25 mm dan diameter kolom 0,25 mm. diperoleh data berupa kromatogram dengan puncak (*peak*), luas puncak dan waktu retensi (Darmapatni *et al.*, 2016)

3.6.5 Uji Aktivitas Antibakteri

3.6.5.1 Sterilisasi Alat

Alat-alat dan media yang digunakan sterilisasi bertujuan agar alat dan bahan terbebas dari mikroorganisme sehingga harus dipastikan tidak ada bakteri pada bahan dan alat dalam proses pengujian (Kumalasari et, al., 2020).

Alat-alat gelas seperti cawan petri, tabung reaksi, dan media uji disterilisasi dengan teknik sterilisasi basah yaitu menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Sedangkan sterilisasi jarum ose dan pinset dilakukan dengan pemijaran diatas api bunsen. Mikroorganisme pada suhu tersebut, baik vegetatif maupun spora dapat dimusnahkan dalam waktu 15-20 menit (Arista et al., 2013; Lestari et al., 2018).

3.6.5.2 Pembuatan Media Mueller Hinton Agar (MHA)

a. Agar cawan

Untuk pembuatan media MHA disiapkan sebanyak 3,8 g MHA dan kemudian dilarutkan dalam 100 mL akuades di dalam Erlenmeyer. Dipanaskan media larutan MHA menggunakan *hot plate* sambil diaduk dengan menggunakan batang pengaduk sampai semua terlarut sempurna. Kemudian media disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Selanjutnya dimasukkan kedalam cawan petri dan didiamkan sampai memadat (Handayani et al., 2016). MHA digunakan karena memiliki kandungan nutrisi yang baik untuk kultur kebanyakan bakteri. Selain itu MHA juga bersifat netral, sehingga tidak menimbulkan pengaruh terhadap prosedur uji antibakteri (Budi, 2018).

b. Agar Miring

Untuk pembuatan agar miring sebagai tempat peremajaan bakteri dilakukan dengan menyiapkan media MHA steril sebanyak 5 mL kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Lalu tabung didiamkan di dalam LAF sampai MHA memadat pada posisi miring membentuk sudut 30-40°.

3.6.5.3 Pembuatan Larutan Kontrol

a. Kontrol positif

Kontrol positif adalah kelompok perlakuan yang dapat memberikan efek sebagai antibakteri, dengan tujuan untuk mengetahui apakah eksperimen yang dilakukan sudah benar dan tepat. Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini adalah klorheksidin glukonat 0,2%. Alasan digunakannya klorheksidin sebagai kontrol positif karena klorheksidin telah diteliti sebagai bahan yang paling potensial dalam menghambat *S. mutans* dan sering digunakan untuk penilaian potensi antikariogenik bahan lainnya (Puspita, 2014).

b. Kontrol negatif

Kontrol negatif adalah kelompok kontrol yang tidak memberikan efek, dengan tujuan untuk mengetahui apakah pelarut yang digunakan dalam penelitian memiliki efek antibakteri. Kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 10%. Alasan digunakan sebagai kontrol negatif karena merupakan pelarut sampel uji antibakteri yang tidak berpengaruh terhadap aktivitas antibakteri (Wirasisya et al., 2018)

3.6.5.4 Peremajaan Bakteri *Streptococcus mutans*

Peremajaan dilakukan dengan mengambil satu sampai tiga ose biakan murni dan digoreskan secara aseptis pada permukaan media MHA miring dalam tabung reaksi. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Peremajaan bakteri *Streptococcus mutans* bertujuan agar bakteri dapat memulai metabolisme kembali dan perbaikan sel bakteri, menjaga ketersediaan nutrisi dan untuk menghindari adanya perubahan karakteristik dari kultur murni yang ditanam (Wijayati et al., 2014).

3.6.5.5 Pembuatan Larutan Standar 0,5 McFarland

Larutan BaCl₂ 1% sebanyak 0,05 mL di dalam tabung reaksi. Larutan H₂SO₄ 1% sejumlah 9,95 mL dicampur ke dalam tabung reaksi yang sudah berisi larutan BaCl₂ 1%. Campuran larutan dikocok menggunakan vortex hingga tercampur sempurna (Rosmania, 2020).

3.6.5.6 Pembuatan Suspensi Bakteri Streptococcus mutans

Bakteri yang telah diambil dari hasil peremajaan biakan murni bakteri menggunakan jarum ose, kemudian disuspensikan ke dalam pelarut NaCl 0,9% sebanyak 10 mL dan dikocok hingga homogen. Kemudian dibandingkan kekeruhan suspense bakteri dengan standar *Mc.Farland* (Handayani, 2016). Selanjutnya dilakukan pengenceran hingga konsentrasi bakteri menjadi 10⁶ CFU/mL

3.6.5.7 Pembuatan Larutan uji

Ekstrak daun kastuba merah yang digunakan pada penelitian ini dibuat dalam konsentrasi 2%, 3% dan 4%. Konsentrasi masing masing ditimbang 0,02 g, 0,03 g dan 0,04 g ekstrak etanol daun kastuba merah, kemudian dilarutkan dengan 1 mL DMSO 10%. Kontrol positif yang digunakan yaitu obat kumur yang mengandung *Chlorhexidine gluconate* 2% dan untuk kontrol negatif digunakan DMSO 10%.

3.6.5.8 Uji Aktivitas Antibakteri dengan metode Difusi cakram

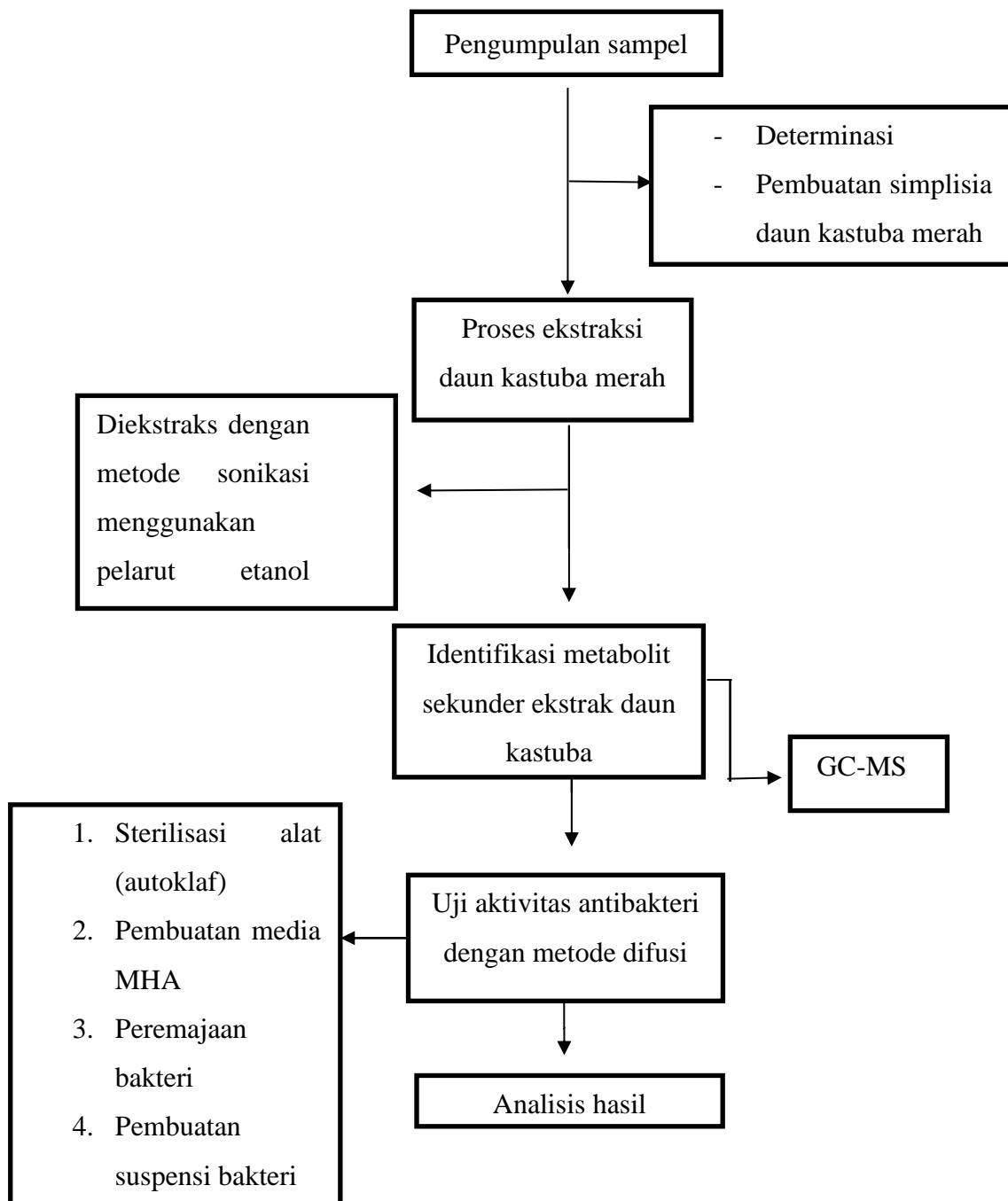
Uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi cakram bertujuan untuk mengetahui potensi antibakteri dari sampel yang digunakan. *Chlorhexidine gluconate* 2% digunakan sebagai kontrol positif dan DMSO 10% sebagai kontrol negatif. Cakram diteteskan dengan larutan uji sebanyak sampai merata ke seluruh permukaan cakram dengan berbagai konsentrasi yang telah disiapkan. Cakram

kemudian diletakkan di atas media uji yang telah ditambahkan bakteri. Selanjutnya dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Aktivitas antibakteri dilihat dari terbentuknya zona bening pada cawan petri (Amalia et al., 2016; Mulyadi et al., 2017).

3.7 Analisis Data

Data hasil penelitian pada uji aktivitas antibakteri yaitu diambil dari hasil pengamatan dan pengukuran diameter zona hambat dari variasi konsentrasi ekstrak etanol daun kastuba merah (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) terhadap kontrol positif klorheksidin glukonat 2% dan kontrol negatif DMSO 10% yang dianalisis dengan aplikasi SPSS menggunakan uji statistik *One Way ANOVA* dengan taraf kepercayaan 95% untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh yang signifikan setelah pemberian variabel uji terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*. Apabila data homogen dan terdistribusi secara normal maka akan dilanjutkan dengan uji *One Way ANOVA*. Namun apabila data tidak homogen dan/atau tidak terdistribusi secara normal maka akan dilanjutkan dengan uji *Kruskal-Wallis*. Hipotesis nol ditolak jika $p < 0,05$ dan berlaku sebaliknya (Dahlan, 2001).

3.8 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Alur Penelitian

DAFTAR PUSTAKA

- Amalia, A., Sari, I., & Nursanty, R. (2017). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Sembung (*Blumea Balsamifera* (L.) Dc.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus Aureus* (Mrsa). *Jurnal Uin Ar-Raniry*, 5(1), 387–391.
- Amiarsi, D. (2015). Analisis Parametrik Dan Non Parametrik Pengaruh Konsentrasi Sukrosa Dan Amonium Sulfat Terhadap Mutu Nata De Melon. *Informatika Pertanian*, 24(1), 101. <Https://Doi.Org/10.21082/Ip.V24n1.2015.P101-108>.
- Aqawi, M., Sionov, R. V., Gallily, R., Friedman, M., & Steinberg, D. (2021). Antibacterial properties of cannabigerol toward *Streptococcus mutans*. *Frontiers in Microbiology*, 12(1), 1–15.
- Ariyani, B., Armalina, D., dan Purbaningrum, D. A. (2021). Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Kulit Buah Naga Merah terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans* pada Sediaan Obat Kumur (Uji Invitro). e-GiGi. 9 (2): 289-297.
- Arista, Y., Kumesan, N., Yamlean, P. V. Y., & Supriati, H. S. (2013). Formulasi dan uji aktivitas gel antijerawat ekstrak umbi bakung (*Crinum asiaticum* L.) terhadap bakteri *staphylococcus aureus* secara in vitro. *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2(02), 2302–2493.
- Ashley, K., R.N. Andreas, L. Cavazosa, M. Demage. 2001. Ultrasonic Extraction As A Sample Preparation Technique For Elemental Analysis By Atomic Spectrometry. *Journal of Analysis Atomatic Spectrometry*. 16, 1447-1153.
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S. K. 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity : a review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71– 79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>.
- Boddapati, S., & Gummadi, S. N. (2021). A comprehensive review on mutan (a mixed linkage of α -1-3 and α -1-6 glucans) from bacterial sources. *Biotechnol Genet Eng Rev*, 2(37), 208–237.

- Budi. SR., Mita. F., Warih. PL., & Sri. M. (2018) Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa C-4Metoksifenilkaliks[4]Resorsinarena Termodifikasi Hexadecyltrimethylammonium-Bromide terhadap Bakteri *Streptococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia*. Vol 3(3). Hal 201-209.
- Courtney, R., Sirdaarta, J., Matthews, B., & Cock, I. E. (2015). Tannin Components And Inhibitory Activity Of Kakadu Plum Leaf Extracts Against Microbial Triggers Of Autoimmune Inflammatory Diseases. *Pharmacognosy Journal*, 7(1), 18–31. <https://doi.org/10.5530/pj.2015.7.2>.
- Cowan, M.M. 1999. Plants Product as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Riviews*. 12: 564-582.
- Dahlan, M. S. (2001). *Statistik Untuk Kedokteran Dan Kesehatan: Deskriptif, Bivariat, Dan Multivariat, Dilengkapi Aplikasi Dengan Menggunakan SPSS Edisi 5*. Salemba Medika.
- Damayanti, M. (2014). *Uji efektivitas larutan bawang putih (Allium sativum) terhadap pertumbuhan bakteri Propionibacterium acnes secara in vitro*. Disertasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. UIN Jakarta.
- Darmapatni, K. A. G., Basori, A., & Suaniti, N. M. (2016). Pengembangan Metode GC-MS Untuk Penetapan Kadar Acetaminophen Pada Spesimen Rambut Manusia. *Jurnal Biosains Pascasarjana*, 18(3), 64–71.
- Depkes RI. (1985). *Cara Pembuatan Simplisia*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Deynilisa, Saluna. 2016. *Ilmu Konservasi Gigi*. Jakarta: EGC.
- Faradiba. 2020. *Penggunaan Aplikasi Spss Untuk Analisis Statistika*. Universitas Kristen Indonesia. Jakarta.
- Fian, M. 2010. Gambar Karies. <http://kariesgigidanpencegahan.com> diakses pada 15 Januari 2018.
- Hamdiyati, Y., Kusnandi & Rahandia, I., 2008, *Aktivitas Antibakteri Daun Patikan Kebo (Euphorbia hirta L) terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus epidermidis*. FMIPA Biologi UPI; Bandung.

- Handayani, R., & Qamariah, N. (2022). Peel-Off Mask Formulation From Stem Of Sempeng (Nepenthes Gracilis) As Anti Acne Against Propionibacterium Acnes Bacteria. *Pharmacognosy Journal*, 14(3), 565–570. <Https://Doi.Org/10.5530/Pj.2022.14.72>
- Hidayat, R., & Tandiari, A. (2016). *Kesehatan Gigi Dan Mulut*. Yogyakarta: Penerbit Andi.
- Hulu, Victor Trismanjaya dan Taruli Rohana Sinaga. 2019. *Analisis Data Statistik Parametrik Aplikasi SPSS dan Statcal*. Medan: Yayasan Kita Menulis.
- Husna, Nilul., & Prasko. (2019). Efektivitas penyuluhan Kesehatan Gigi dengan menggunakan Media Busy Book terhadap Tingkat Pengetahuan Kesehatan Gigi dan Mulut. *Jurnal Kesehatan Gigi*. Vol 6. 51-55
- Ibrahim, A. T., Sukenti, K., & Wirasisya, D. G. (2019). Uji Potensi Antimikroba Ekstrak Metanol Daun Kastuba (Euphorbia pulcherrima Willd.). *Natural B*,5(1),13–18.
https://www.researchgate.net/profile/Kurniasih_Sukenti/publication/335909576_Uji_Potensi_Antimikroba_Ekstrak_Metanol_Daun_Kastuba_Euphorbia_pulcherrima_Willd/links/5d83157b299bf1996f7766b3/Uji-Potensi-Antimikroba-Ekstrak-Metanol-Daun-Kastuba-Euphorbia-pul.
- Jannah, N., Chairul, S., & Djihan, R. P. (2020). *Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol dan Fraksi-Fraksi Daun Alamanda (Allamanda Cathartica L.)*. Prosiding Seminar Nasional Kimia Berwawasan Lingkungan, 81-85.
- Jiang, L. (2011). *Comparison of disk diffusion, agar dilution, and broth microdilution for antimicrobial susceptibility testing of five chitosans*. Fujian Agricultural and Forestry University.
- Julianto, T. S. (2019). *Fitokimia: Tinjauan Metabolit Sekunder Dan Skrining Fitokimia*. Yogyakarta: UII Press.
- Juvensius, A., Paulina, G., dan Aurelia., 2014. Uji Efek Antibakteri Ekstrak Bunga Cengkeh terhadap Bakteri Streptococcus mutans secara In Vitro. *J eG*, 2(2): 1-5.
- Kemenkes RI. (2017). *Mikrobiologi dan Parasitologi*. Jakarta: Badan Pengembangan dan Pemberdayaan Sumber Daya Manusia Kesehatan.

- Kementerian Kesehatan. (2019). *Infodatin kesehatan gigi nasional*. Jakarta: Kementerian Kesehatan. Diambil dari <https://pusdatin.kemk>
- Kidd, E. A. M., & Joyston-Bechal, S. (2012). *Dasar-Dasar Karies Penyakit dan Penanggulangannya*. Jakarta: EGC
- Kumalasari, E., Agustina, D., & Ariani, N. (2020). Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* Merr.) terhadap Escherichia coli. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 3(1), 75–84.
- Kumar, R., Shrivastava, S. K., & Chakraborti, A. (2010). Comparison of Broth Dilution and Disc Diffusion Method for the Antifungal Susceptibility Testing of Aspergillus flavus Comparison of Broth Dilution and Disc Diffusion Method for the Antifungal Susceptibility Testing of Aspergillus flavus. *American Journal of Biomedical Sciences*, 2(3). <https://doi.org/10.5099/aj100300202>.
- Kusmiyati, & Agustini, N. W. S. (2007). Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga *Porphyridium cruentum* Antibacterial activity assay from *Porphyridium cruentum* microalgae. *Biodiversitas*, 8(1), 48–53.
- Laksana, Toga, .2010. *Pembuatan Simplisia dan Standarisasi Simplisia*, UGM: Yogyakarta.
- Leba, M. A. U. 2017. *Buku Ajar: Ekstraksi dan Real Kromatografi*. Deepublish.
- Lemont, R.J. (2010). *Oral Microbiology at Glance*. Welley-Blackwell. p 25-39.
- Lemos, J. A., Palmer, S. R., Zeng, L., Wen, Z. T., Kajfasz, J. K., Freires, I. A., Brady, L. J. (2019). *The biology of streptococcus mutans*. PMC, 7(1), 435–448.
- Lestari, A. R. A., Syahfitri, S. A., Cahyo, S. T., Wardaniati, I., & Herli, M. A. (2018). Aktivitas antibakteri seduhan biji pepaya (Carica papaya L) terhadap Escherichia coli, Salmonella thypi dan Staphlycocus aureus. *JOPS*, 1(2), 39-45.
- Lingga, L. (2006). Kastuba: *Tanaman Penyemarak Hari Raya*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Mahon, C., & Lehman, D. (2016). *Text Book Of Diagnostic Microbiology 6th edition*. Philadelphia: Saunders.

- Mardiah, A., Reca, Triwiyatin, & Nugraheni, H. (2017). The Effect of Administering Casein Phosphopeptide Amorphous Calcium Phosphate (CPP-ACP) on ph Salivary and Children's Risk Caries Score. *Journal of Medical Science and Clinical Research*, 30080-30085.
- Markham. (1988). *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung: ITB Press.
- Maulid, R.R. dan A.N. Laily. 2015. *Kadar Total Pigmen Klorofil dan Senyawa Antosianin Ekstrak Kastuba (Euphorbia pulcherrima) Berdasarkan Umur Daun*. Prosiding Seminar Nasional Konservasi dan Pemanfaatan Sumber Daya Alam: 225-230
- Muhammad, H. (2022). *Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Ekstrak Daun Kastuba Merah (Euphorbia pulcherrima Willd.) terhadap Bakteri Staphylococcus aureus*. S1 thesis, Universitas Mataram.
- Mulyadi, M., Wuryanti, W., & Sarjono, P. R. (2017). Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Kadar Sampel Alang-Alang (*Imperata cylindrica*) dalam Etanol Melalui Metode Difusi Cakram. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 20(3), 130–135. <https://doi.org/10.14710/jksa.20.3.13> 0-135
- Mumpuni, Y., & Pratiwi, E. (2013). *45 Masalah & Solusi Penyakit Gigi & Mulut*. Yogyakarta: Rapha Publishing.
- Nana, M. (2023). *Formulasi dan Uji Efektivitas Antibakteri Sediaan Mouthwash Ekstrak daun Jambu Mete (Anacardium occidentale L.)*. S1 thesis, Universitas Mataram.
- Notoatmodjo, S. (2010). Metodologi Penelitian Edisi Revisi. Rineka Pustaka.
- Nufus, N. H. (2020). Analisis Fitokimia dan Uji Potensi Ekstrak Buah Renggak (*Amomum Dealatum*) Sebagai Pestisida Nabati Terhadap Jamur *Pyricularia* 40 *Oryzae* dan Bakteri *Xanthomonas oryzae*. *Jurnal Ilmiah Biologi*, 8(1), 115– 125.
- Nugraha, A.W. (2010). *Streptococcus mutans Si Plak Dimana- mana*. Yogyakarta. Fakultas Farmasi USD. p 1-3.
- Nuria, M.C., A. Faizatun., dan Sumantri. 2009. Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas L*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus*

- aureus ATCC 25923, Escherichia coli ATCC 25922, dan Salmonella typhi ATCC 1408. *Jurnal Ilmu-ilmu Pertanian*. 5: 26-37.
- Oktanuli, P., Taher, P. & Aulia, DM. (2020). The Effect of Herbal Mouthwash (Betel Leaf) Against Halitosis in Elderly. *Jurnal Ilmiah dan Teknologi Kedokteran gigi*. Vol 16(1): 25-29.
- Ophardt, C. (2020). Sugar and Teeth. Diambil dari [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Biological_Chemistry/SupplementalModules\(Biological_Chemistry\)/Carbohydrates/CaseStudies/Sugar_andTeeth](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Biological_Chemistry/SupplementalModules(Biological_Chemistry)/Carbohydrates/CaseStudies/Sugar_andTeeth)
- Pratiwi, S. T. (2008). *Mikrobiologi Farmasi*. Erlangga.
- Puspita, K. Y. 2014. "Pengaruh Chlorhexidine Gluconate 0,12% terhadap Keberhasilan Perawatan Periimplantitis Mucositis". Tidak Diterbitkan. Skripsi. Denpasar: Fakultas Kedokteran gigi Universitas Mahasaraswati Denpasar.
- Rahmawati, I. 2011. Perilaku Kesehatan Gigi dan Mulut pada Anak Sekolah Dasar. *Berita Kedokteran Masyarakat*, 27(4), pp. 180–186.
- Ramadhan G.A. 2010. *Serba Serbi Kesehatan Gigi & Mulut*. Jakarta: Bukune.
- Retnowati, Y., Bialangi, N., & Posagi, N. W. (2011). Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus Pada Media Yang Diekspos Dengan Infus Daun Sambiloto (Andrographis paniculata). *Saintek*, 6(2), 397–405.
- Riset Kesehatan Dasar (Risikesdas) (2018). *Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian RI tahun 2018*. http://www.depkes.go.id/resources/download/infoterkini/materi_rakorpop_2018/Hasil%20Risikesdas%202018.pdf – Diakses Agustus 2018.
- Riwidikdo, Handoko. (2012). *Statistik kesehatan*. Yogyakarta: Nuha Medika.
- Rosmania. (2020). Perhitungan Jumlah Bakteri di Laboratorium Mikrobiologi Menggunakan Pengembangan Metode Spektrofotometri. *Jurnal Penelitian Sains*, 22(2), 76–86
- Salisbury, B. F., & Ross, C. W. (1995). *Fisiologi tumbuhan Jilid 2*. ITB Press.

- Sari, F.P. Dan S.M. Sari. 2011. *Ekstraksi Zat Aktif Antimikroba dari Tanaman Yodium (Jatropha multifida Linn) Sebagai Bahan Baku Alternatif Antibiotik Alami*. Fakultas Teknik Universitas Diponegoro Semarang. Series: *Materials Science and Engineering*; 259; 012008.
- Sharif, H. B., Mukhtar, M. D., Mustapha, Y., & Lawal, A. O. (2015). Preliminary Investigation of Bioactive Compounds and Bioautographic Studies of Whole Plant Extract of Euphorbia pulcherrima on Escherichia coli , Staphylococcus aureus , Salmonella typhi , and Pseudomonas aeruginosa . *Advances in Pharmaceutics*, 2015, 1–14. <https://doi.org/10.1155/2015/485469>
- Sopiah, B., Muliasari, H., & Yuanita, E. (2019). Skrining Fitokimia Dan Potensi Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Hijau Dan Daun Merah Kastuba (Phytochemical Screening and Potential Antioxidant Activity of Ethanolic Extract of Green Leaves and Red Leaves Kastuba). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 17(1), 27–33.
- Sudjadi. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta.
- Sugiarti, L., Adriyani, D. M., Pratitis, M. P., & Setyani, R. (2020). Aktivitas Antibakteri Fraksi N-Heksan, Etil Asetat Dan Air Ekstrak Etanol Daun Parijoto (Medinilla speciosa Blume) Terhadap Propionibacterium acnes dan Staphylococcus epidermidis. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 4(2), 120–130.
- Sugiyono. (2011). *Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif dan R&D*. Bandung: Alfabeta.
- Susanty, Susanty And Fairus Bachmid. 2016. “Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi Dan Refluks Terhadap Kadar Fenolik Dari Ekstrak Tongkol Jagung (Zea Mays L.).” *Jurnal Konversi* 5(2):87.
- Susanto, A. (2018). *Kesehatan Gigi Dan Mulut*. Jakarta: Sunda Kelapa Pustaka.
- Tarigan, Rasinta. 2013. Karies Gigi. Ed 2. Jakarta: EGC
- Thompson, L. H., & Doraiswamy, L. K. 1999. Sonochemistry: science and engineering. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 38(4), 1215–1249.

- United Nations Industrial Development Organization, Handa, S. S., Khanuja, S. P. S., Longo, G., & Rakesh, D. D. (2008). Extraction technologies for medicinal and aromatic plants. Earth, *Environmental and Marine Sciences and Technologies*.
- Warsi & Sholichah, A. R. (2017). Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of Ethanolic Extract and Ethyl Acetate Fraction from Basil Leaf (*Ocimum basilicum* L.) by DPPH Radical Scavenging Method. International Proceeding. *IPCUAD2017, IOP Publishing, IOP Conf.*
- Widyaningrum, N. (2012). Pengaruh konsentrasi ekstrak etanolik Daun Teh Hijau (*Camellia Sinesis* L.) dalam sediaan krim terhadap sifat fisik dan aktivitas antibakteri. *Sains Medika Journal of Health and Medicine*, 4(2), 147–156.
- Wijayati, N., Astutiningsih, C., Mulyati, S., & Artikel, I. (2014). Transformasi α -Pinena dengan bakteri *pseudomonas aeruginosa* ATCC 25923 transformation α -pinena by bacteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25923, 6(1), 24–28.
- Wirasisya, D. G., Juliantoni, Y., & Hajrin, W. (2018). Pengaruh Dua Metode Pengeringan Pada Aktivitas Antibakteri Ashitaba (*Angelica keiskei*) Terhadap *Streptococcus mutans*. Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal), 4(1), 18–25. <https://doi.org/10.22487/j24428744.2018.v4.i1.9629>
- Yakubu, A. I., & Mukhtar, M. D. (2011). In vitro antimicrobial activity of some phytochemical fractions of *Euphorbia pulcherima* L. (Poinsettia). *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(12), 2470–2475.
- Yusmaniar, Wardiyah, & Nida, K. 2017. *Mikrobiologi dan Parasitologi*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Zelnicek, Tailor (2014). *Streptococcus mutans-Tooth Decay*. Microbiology in Arezzo. Univ. Of Oklahoma. Italy. Diakses pada tanggal 15 Oktober 2014; <http://microbewiki.kenyon.edu>)
- Zou, T.B., Jia, Q., Li, H.W., Wang, C.X., dan Wu, H.F. 2014. Response Surface Methodology for Ultrasonic-Assisted Extraction Of Astaxanthin from *Haematococcus Pluvialis*. 11(3), 1644-1655.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan Rendemen

- a. Rendemen Simplisia : $\frac{\text{Jumlah berat kering (gram)}}{\text{Jumlah berat basah (gram)}} \times 100\%$
- b. Rendemen Ekstrak : $\frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat serbuk simplisia}} \times 100\%$

Lampiran 2. Uji Aktivitas Antibakteri

- a. Pembuatan Larutan Ekstrak Etanol Daun Kastuba Merah untuk Uji Aktivitas Antibakteri
 - Larutan Uji Ekstrak Etanol Daun Kastuba Merah 2,5%
 - Larutan Uji Ekstrak Etanol Daun Kastuba Merah 3%
 - Larutan Uji Ekstrak Etanol Daun Kastuba Merah 3,5%
 - Larutan Uji Ekstrak Etanol Daun Kastuba Merah 4%
- $2\% = \frac{2 \text{ gram}}{100 \text{ ml}} = \frac{0,2 \text{ gram}}{10 \text{ ml}}$
- $3\% = \frac{3 \text{ gram}}{100 \text{ ml}} = \frac{0,3 \text{ gram}}{10 \text{ ml}}$
- $4\% = \frac{4 \text{ gram}}{100 \text{ ml}} = \frac{0,4 \text{ gram}}{10 \text{ ml}}$