



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**KUANTITAS BAKTERI *Actinomyces* DI SALIVA ANAK DENGAN *BLACK STAIN* PADA PERMUKAAN EMAIL GIGI**

**TESIS**

**Yuke Rustan**

**0906600781**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI**

**PESERTA PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS**

**DEPARTEMEN ILMU KEDOKTERAN GIGI ANAK**

**JAKARTA**

**2012**



UNIVERSITAS INDONESIA

KUANTITAS BAKTERI *Actinomyces* DI SALIVA ANAK DENGAN  
*BLACK STAIN* PADA PERMUKAAN EMAIL GIGI

**TESIS**

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh sebutan profesi  
spesialis dalam bidang Ilmu Kedokteran Gigi Anak

**Yuke Rustan**

**0906600781**

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

PESERTA PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS

DEPARTEMEN ILMU KEDOKTERAN GIGI ANAK

JAKARTA

JUNI 2012

## **HALAMAN PERNYATAAN ORISINILITAS**

**Tesis ini adalah hasil karya saya sendiri  
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk  
telah saya nyatakan dengan benar**

**Nama : Yuke Rustan**

**NPM : 0906600781**

**Tanda tangan :**



**Tanggal :**

**12 JUNI 2012**

## LEMBAR PERSETUJUAN

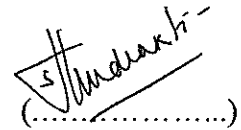
Tesis ini diajukan oleh

Nama : Yuke Rustan  
NPM : 0906.600781  
Program Studi : Ilmu Kedokteran Gigi Anak  
Judul Tesis : Kuantitas bakteri *Actinomyces* di saliva anak dengan *black stain* pada permukaan email gigi

**Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan untuk memperoleh gelar Spesialis pada Program Studi Ilmu Kedokteran Gigi Anak Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Indonesia.**

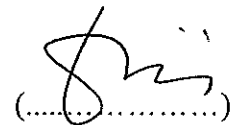
### DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : drg. Ike Siti Indiarti, PhD, SpKGA (K)



(.....)

Pembimbing II : DR. drg. Sarworini B Budiardjo, SpKGA (K)



(.....)

Penguji I : Prof. Heriandi Sutadi, drg, SpKGA (K), PhD.



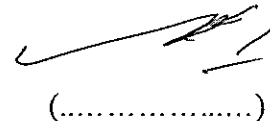
(.....)

Penguji II : drg. Hendrarlin Soenawan, SpKGA (K)



(.....)

Penguji III : DR. M. Fahlevi Rizal, drg, SpKGA (K)



(.....)

Disetujui di : Jakarta

Tanggal : 12 Juni 2012

## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur saya naikkan kepada Tuhan Yesus Kristus atas segala berkat dan rahmat yang diberikan sehingga saya dapat menyelesaikan penelitian ini yang merupakan salah satu syarat untuk mencapai kelulusan Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis dalam bidang Ilmu Kedokteran Gigi Anak di Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Indonesia.

Selama menempuh pendidikan, melakukan penelitian dan penulisan laporan penelitian ini, saya mendapat banyak sekali bimbingan, bantuan, arahan, koreksi, nasehat dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini, penulis haturkan terima kasih yang tidak terhingga serta penghargaan sebesar-besarnya kepada :

1. drg. Ike Siti Indiarti, PhD, Sp.KGA(K), sebagai Pembimbing Pertama yang sekaligus Ketua Departemen IKGA yang telah meluangkan waktu dan tenaga untuk membantu pembuatan penelitian dan penulisan ini.
2. Dr. drg. Sarworini B. Budiardjo, Sp.KGA(K) selaku Pembimbing Kedua yang penuh dengan kesabaran dan pengertian; memberikan waktu, tenaga, ide pemikiran sehingga penelitian ini dapat terlaksana dan juga telah menyumbangkan ilmunya selama masa pendidikan.
3. Prof. Heriandi Sutadi, drg, Sp.KGA(K), PhD sebagai penguji pertama yang telah memberikan ide-ide dan dukungan serta humor yang selalu menyegarkan hati dan pikiran.
4. drg. Hendrarlin Soenawan, Sp.KGA(K) sebagai penguji kedua dan Koordinator Pendidikan Spesialis IKGA yang dengan sabar dan tekun selalu memberikan motivasi dan dorongan kepada penulis untuk tetap berjuang dan tidak cepat menyerah.
5. Dr. Mochamad Fahlevi Rizal, drg, SpKGA (K) sebagai penguji ketiga yang telah banyak memberikan inspirasi hingga terselesaikannya penelitian ini.
6. Prof. Dr. Retno Hayati, drg, SKM, Sp.KGA(K); Prof. Dr. Margaretha Suharsini, drg, MS, Sp.KGA (K); drg. Syahril Noerdin, Sp.KGA(K); drg. Eva

Fauziah, Sp.KGA dan drg. Nieka Andhara, Sp.KGA yang telah membagikan ilmu yang tidak ternilai kepada penulis dan terima kasih atas setiap arahan, perhatian dan dukungan moril yang diberikan.

7. Kepala sekolah dan guru-guru IPEKA International Christian School yang telah memberikan izin dan membantu selama pelaksanaan penelitian. Juga terutama terima kasih kepada seluruh orang tua murid yang telah memberikan izin serta anak-anak yang bersedia menjadi subyek penelitian dan sangat kooperatif selama proses pengambilan sampel.
8. Dra. Conny, Ibu Linda, Ibu Yatmi, Pak Yono dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran UI yang telah membantu dan memberi masukan yang sangat berguna bagi penulis dalam pelaksanaan penelitian ini.
9. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi (DIKTI) dan Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat (DRPM) Universitas Indonesia yang telah memberikan Hibah Riset Tahun Anggaran 2012.
10. Ibu Tuti, Pak Ade, Pak Sule yang selalu sigap membantu di klinik; staf perpustakaan UI : Pak Yanto, Pak Asep, Pak Enoh, Pak Drajat, yang selalu siap sedia membantu penulis mencari jurnal dan buku-buku; tim Satpam UI, Pak Dani, Pak Emod, para supir-supir yang sangat ringan tangan membantu penitipan kendaraan; serta tim kurir Pak Ivan yang senantiasa berusaha membawa sampel sampai di laboratorium dengan selamat dan cepat.
11. Sahabat-sahabat yang membantu selama penelitian berlangsung Ningrum, Sella, Nana, Gina, Pepeb, Tissa, mbak Andria, Mita, Henny OD, mbak Lina. Terima kasih karena tak bosan-bosannya memberikan semangat dan mendengar segala keluhan saya dalam menyelesaikan tesis ini. Tak terlupakan, drg Yosshy yang membantu menggantikan saya dalam masa cuti studi serta menolong dalam pengambilan sampel di Ipeka.
12. Untuk para teman sejawat dan sahabat yang selalu menghibur di klinik tercinta dari pagi hingga malam hari, drg. Marzella Mega Lestari, MDS, SpBM; drg. Sanny; drg. Monica Dewi R; drg. Johan Edward M; drg. Ni Made Galuh; drg. William Wijaya; drg. Jenny G, SpBM; drg. Sarah

Kurniawan; drg. Rosalina, dan drg. Fajar Nasution, PhD, SpOrt yang selalu memberikan semangat dan canda tawa di tengah hiruk pikuk penulis dalam menyelesaikan pendidikan ini. Juga untuk tim perawat klinik SmileWorks Dental Care yang selalu ringan tangan memberikan segala macam bantuan dan hiburan kepada saya.

13. Rekan-rekan PPDGS IKGA angkatan 2008, 2010, dan 2011 yang telah membantu selama proses pendidikan.
14. Kepada keluarga tercinta papi Aswal Rustan, mami Liny Kabo, my sister Liesye Rustan, Dipl.Ing dan Hendra Sungkono, Dipl.Ing serta Dave dan Owen Sungkono yang selalu memberikan kekuatan dan dukungan kepada penulis.
15. Kepada papi dan mami mertua, oma mertua, kakak ipar dan adik ipar yang juga telah memberikan dukungan dalam penelitian ini.
16. Suamiku tercinta, Yoseph Adi Surjadi, BSc dan anak-anakku tersayang Jeremy AS dan Joel AS, terima kasih yang paling dalam atas pengertian, cinta, kesabaran, dukungan, bantuan baik moril, maupun materiil serta doa yang tidak pernah berkesudahan yang selalu menyertai penulis selama ini.
17. Terakhir adalah semua pihak yang telah membantu, para sahabat yang dianugerahkan Tuhan untuk berada dalam hidup penulis sehingga penulis memiliki kekuatan untuk bertahan sampai hari ini.

Akhir kata, penulis memohon maaf sebesar-besarnya atas segala kesalahan baik dalam bersikap maupun berkata-kata, mohon maaf untuk segala kekurangan pada penulisan tesis ini dan sangat mengharapkan asupan serta saran dari berbagai pihak. Semoga tulisan ini dapat bermanfaat baik di dunia kedokteran gigi anak maupun di masyarakat luas.

Jakarta, 12 Juni 2012

Penulis

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS  
AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai civitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Yuke Rustan  
NPM : 0906600781  
Program Studi : Spesialis  
Departemen : Ilmu Kedokteran Gigi Anak  
Fakultas : Kedokteran Gigi  
Jenis Karya : Tesis

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (Non-exclusive Royalty-Free Right)** atas karya ilmiah saya yang berjudul : Kuantitas bakteri *Actinomyces* di saliva anak dengan *black stain* pada permukaan email gigi.

Berdasarkan persetujuan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini, Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalih bentuk, mengalih mediakan mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, serta mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis dan juga sebagai pemilik hak cipta. Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya secara sadar tanpa paksaan dari pihak manapun.

Dibuat di : Jakarta

Pada tanggal : 12 Juni 2012

Yang membuat pernyataan



(Yuke Rustan)



## DAFTAR ISI

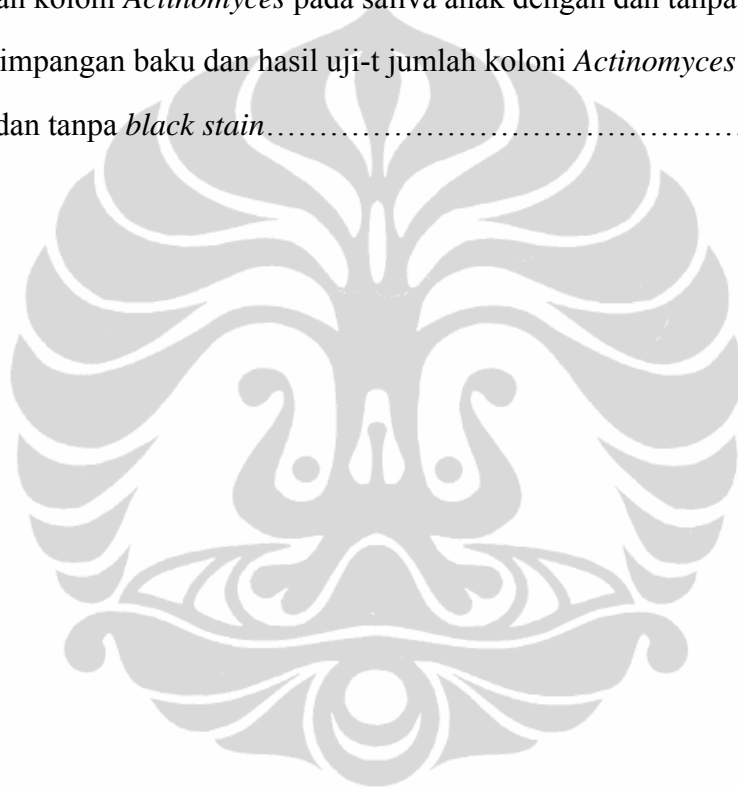
HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINILITAS .....	ii
LEMBAR PERSETUJUAN .....	iii
KATA PENGANTAR .....	iv
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH .....	vii
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR TABEL .....	x
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xii
ABSTRAK .....	xiii
ABSTRACT .....	xiv
<b>1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Pertanyaan Penelitian .....	2
1.3 Tujuan Penelitian .....	2
1.4 Manfaat Penelitian .....	2
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>3</b>
2.1 Black Stain .....	5
2.2 Actinomyces .....	8
2.3 Permukaan email gigi .....	10
2.4 Saliva .....	12
2.5 Kerangka Teori .....	15
<b>3. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>16</b>
3.1 Kerangka konsep .....	16
3.2 Hipotesis .....	16
3.3 Variabel Penelitian .....	16
3.4 Definisi Operasional .....	16
3.5 Desain Penelitian .....	16
3.6 Sampel Penelitian .....	17
3.7 Kriteria subyek .....	17
3.8 Lokasi dan Waktu .....	17
3.9 Besar sampel .....	17
3.10 Alur dan tata laksana penelitian .....	18
3.11 Alat dan Bahan .....	19
3.12 Cara Penelitian .....	20
3.13 Analisa Data .....	21
<b>4. HASIL .....</b>	<b>22</b>
<b>5. PEMBAHASAN .....</b>	<b>24</b>

<b>6. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>29</b>
6.1 Kesimpulan.....	29
6.2 Saran .....	29
<b>DAFTAR REFERENSI .....</b>	<b>30</b>
<b>LAMPIRAN</b>	



## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Gambaran mikroorganisme yang didapat dari 11 sampel <i>black stain</i> .....	7
Tabel 2.2. Perbandingan kandungan komposisi gigi sulung, gigi tetap muda dan gigi tetap Matur.....	12
Tabel 2.3. Komposisi media CFAT selektif untuk <i>A. viscosus</i> dan <i>A. naeslundii</i> .....	15
Tabel 5.1. Sebaran jumlah koloni <i>Actinomyces</i> pada saliva anak dengan dan tanpa <i>black stain</i> ..	22
Tabel 5.2. Nilai rerata, simpangan baku dan hasil uji-t jumlah koloni <i>Actinomyces</i> pada saliva anak dengan dan tanpa <i>black stain</i> .....	23



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1; 2.2 Gambaran klinis <i>black stain</i> yang terdapat pada 1/3 servikal permukaan email gigi.....	5
Gambar 2.3. Skema tahapan analisis mikrobiologi dari mikroflora rongga mulut.....	14
Gambar 5.1. Gambaran klinis <i>black stain</i> pada anak usia 4 tahun.....	22



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Keterangan Lolos Etik

Lampiran 2. Surat keterangan informasi pengambilan sampel

Lampiran 3. Gambar klinis *black stain* pada gigi sulung

Lampiran 4. Gambar klinis *black stain* pada gigi permanen

Lampiran 5. Gambar peralatan dan bahan



## ABSTRAK

Nama : Yuke Rustan  
Program Studi : Spesialis  
Judul : Kuantitas bakteri *Actinomyces* di saliva anak dengan *black stain* pada permukaan email gigi

Penelitian mengenai *black stain* pada permukaan email gigi masih jarang dilakukan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membedakan kuantitas *Actinomyces* di saliva anak dengan dan tanpa *black stain* pada permukaan email gigi. Subyek dipilih dari anak usia 4-11 tahun dengan dan tanpa *black stain*. Sampel saliva diambil dengan menginstruksi kepada subyek untuk meludah ke dalam *container* steril dan dimasukkan ke dalam plastik steril yang mengandung *Oxoid Anaerob Gas pack* untuk menjaga kondisi anaerob. Di laboratorium dilakukan pengenceran berseri dan dimasukkan ke dalam cawan petri yang telah mengandung *Actinomyces Isolate Agar*. Cawan petri dimasukkan ke dalam *anaerob jar* dan diinkubasi. Hasil biakan di cawan petri, dilakukan lagi pemeriksaan pewarnaan gram, lalu dihitung dengan metode *colony forming unit*. Hasil penghitungan dilakukan analisa dengan uji-t dua kelompok tidak berpasangan dengan batas kemaknaan  $p \leq 0.05$  dan disimpulkan bahwa kuantitas *Actinomyces* di saliva anak dengan dan tanpa *black stain* di permukaan email gigi berbeda tidak bermakna.

**Kata kunci :** *Actinomyces*, *black stain*, saliva

## ABSTRACT

Name : Yuke Rustan  
Programme : Master  
Title : Quantity of *Actinomyces* on saliva children with black stain at the surface of tooth enamel

Studies about black stain at the surface of tooth enamel is infrequently did. The aim of this study is to differentiate the quantity of *Actinomyces* on saliva of children with and without black stain at the surface of tooth enamel. Subject is chosen from children aged 4-11 years old with and without black stain. Saliva taken by instructing subject to expectorate into a steryl container and inserted into a steryl plastic with Oxoid anaerob Gas pack to keep the anaerob condition when transported to laboratorium. In Laboratory, serial dilution was done and sample was inserted into a plate which contains Difco *Actinomyces* Isolate agar. Put the plate into an anareob jar and incubated in incubator. From the plate, subculture identification was did to identify the morphology of *Actinomyces*. The colony of *Actinomyces* on the plate was count with colony counter using the colony forming unit method. The result was analyzed with t-test two group unpaired with  $p \leq 0.05$  and concluded that the quantity of *Actinomyces* on children's saliva with and without black stain of the enamel surface is differ unmeaningful

**Keywords :** *Actinomyces*, black stain, saliva

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang Masalah

Salah satu diskolorisasi gigi yaitu *staining* merupakan deposit pigmentasi yang terdapat pada permukaan gigi yang dapat menyebabkan perubahan warna pada gigi.<sup>1,2,3</sup> Perubahan warna pada gigi disebabkan oleh faktor ekstrinsik dan faktor intrinsik cukup sering ditemui berkaitan dengan keadaan geligi secara klinis yang melibatkan masalah estetik.<sup>4,5</sup> Perubahan warna dihasilkan dari pigmentasi *acquired pellicle* oleh bakteri kromogenik, makanan ataupun bahan-bahan kimiawi lainnya.<sup>2,5,6</sup> *Stain* akan memberikan warna yang berbeda-beda, berdasarkan pada etiologi, gambaran klinis, komposisi, lokasi, tingkat keparahan serta tingkat perlekatannya terhadap permukaan geligi.<sup>4,7</sup> *Stain* juga bervariasi dalam hal warnanya pada permukaan gigi.<sup>5</sup>

*Stain* yang sering dijumpai pada anak dan bukan perokok berasal dari plak gigi yang berwarna karena aktifitas dari bakteri kromogen. Permukaan email yang kasar seringkali menyebabkan timbulnya *stain* secara cepat kecuali bila dilakukan pemolesan sampai didapati permukaan email yang halus.<sup>8</sup> *Stain* seperti ini biasanya dikategorikan sebagai *black stain* yang faktor penyebabnya adalah bakteri kromogen gram positif seperti *Actinomyces* dan *Bacteroides melanogenicus*.<sup>9</sup>

*Black stain* secara klinis dapat didiagnosis sebagai titik-titik yang mengandung pigmen, membentuk garis dengan perpaduan yang tidak sempurna atau membentuk garis yang putus-putus yang berada di 1/3 servikal dan sekeliling mahkota gigi tanpa melibatkan daerah proksimal.<sup>10</sup>

Penelitian yang dilakukan pada suatu sekolah di India, ditemui bahwa *black stain* merupakan suatu bentuk lain dari plak gigi dan dari pemeriksaan *stain* tersebut, menunjukkan adanya bentuk ferum sulfat yang tidak larut dalam air. Ferum sulfat ini akan meningkatkan interaksi antara hidrogen sulfat yang dihasilkan oleh bakteri dan zat besi yang ada pada saliva.<sup>4</sup>



Dilakukan penelitian pada anak usia 7 sampai 15 tahun di Switzerland, anak dengan *black stain* mencapai tingkat prevalensi sebanyak 19,9%. Penelitian di Brazil, prevalensi *black stain* pada anak usia 6 sampai 13 tahun mencapai 9,3% dan 2,5% pada anak usia 3 sampai 5 tahun.<sup>7</sup> Penelitian di *State University of Iowa* terhadap 355 anak-anak, prevalensi *black stain* ditemui pada 11-14% dari seluruh sampel.<sup>11</sup> Penelitian di India terhadap 1472 anak-anak dengan usia rerata 9,3 tahun, menemukan 18% dari sampel menderita *black stain* dan didapatkan hubungan adanya *black stain* dengan tingkat keparahan karies gigi.<sup>12</sup>

Penelitian-penelitian sebelumnya telah membahas mengenai besarnya prevalensi dan faktor-faktor etiologi timbulnya *black stain*. Salah satu etiologi timbulnya *black stain* adalah bakteri *Actinomyces*, namun belum banyak literatur yang membahas mengenai bakteri tersebut. Oleh karenanya peneliti tertarik untuk meneliti mengenai kuantitas bakteri *Actinomyces* di saliva anak dengan *black stain* pada permukaan email gigi.

## 1.2 Pertanyaan Penelitian

Apakah terdapat perbedaan kuantitas bakteri *Actinomyces* pada saliva anak dengan dan tanpa *black stain* pada permukaan email gigi?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Membedakan kuantitas bakteri *Actinomyces* di saliva anak dengan dan tanpa *black stain*.

## 1.4 Manfaat Penelitian

- 1.4.1 Sebagai penelitian pendahuluan mengenai kuantitas bakteri *Actinomyces* pada saliva anak dengan dan tanpa *black stain*.
- 1.4.2 Sebagai acuan penelitian lebih lanjut mengenai pencegahan *black stain* pada anak-anak.

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

Diskolorisasi gigi salah satunya yaitu *stain*, sudah diklasifikasikan berdasarkan lokasi tempat terjadinya, yaitu *stain* ekstrinsik dan *stain* intrinsik. *Stain* intrinsik merupakan penggabungan dari *stain* ekstrinsik dan komposisi dari perkembangan gigi. *Stain* ekstrinsik merupakan *stain* yang bertempat di permukaan luar dari gigi dan disebabkan oleh macam-macam agen yang berasal dari luar tubuh.<sup>13</sup>

*Stain* intrinsik biasanya diikuti dengan perubahan pada komposisi struktur gigi atau ketebalan jaringan keras gigi. Warna normal dari gigi dipengaruhi oleh warna biru, hijau dan merah muda dari email, dan diperkuat oleh warna kuning kecoklatan dari dentin. Penyakit metabolisme dan faktor sistemik juga akan mempengaruhi perkembangan gigi geligi dan menyebabkan diskolorisasi. Faktor lokal seperti trauma juga dapat menyebabkan *stain* intrinsik.<sup>13</sup>

Pembentukan diskolorisasi gigi secara intrinsik terjadi selama proses perkembangan geligi dan sebagai hasil dari gangguan pada struktur gigi. Beberapa penyakit metabolisme dan faktor sistemik yang dapat menyebabkan *stain* intrinsik contohnya alkaptonuria, hiperbilirubinemia kongenital, amelogenesis imperfekta, dentinogenesis imperfekta, pewarnaan tetrasiklin, fluorosis, hipoplasia email, resorpsi akar, penuaan.<sup>13</sup>

Sistem klasifikasi Nathoo mengklasifikasikan *stain* ekstrinsik menjadi 3 kategori yaitu Nathoo tipe 1 (N1), bahan kromogen mengikat ke permukaan gigi; Nathoo tipe 2 (N2), bahan kromogen berubah warna setelah mengikat ke permukaan gigi; serta Nathoo tipe 3 (N3), bahan yang tidak berwarna dan bergabung dengan reaksi kimia sehingga menyebabkan timbulnya warna tertentu. Bahan-bahan Nathoo tipe 1 seperti teh, kopi, minuman anggur, bakteri kromogen dan logam. Bahan-bahan Nathoo tipe 2 merupakan bahan-bahan Nathoo tipe 1 yang menjadi semakin berwarna gelap seiring dengan berjalannya waktu. Bahan Nathoo tipe 3 yaitu bahan makanan yang mengandung karbohidrat tingkat tinggi seperti apel, kentang; *stannous fluoride* dan obat kumur *chlorhexidine*.<sup>14</sup>

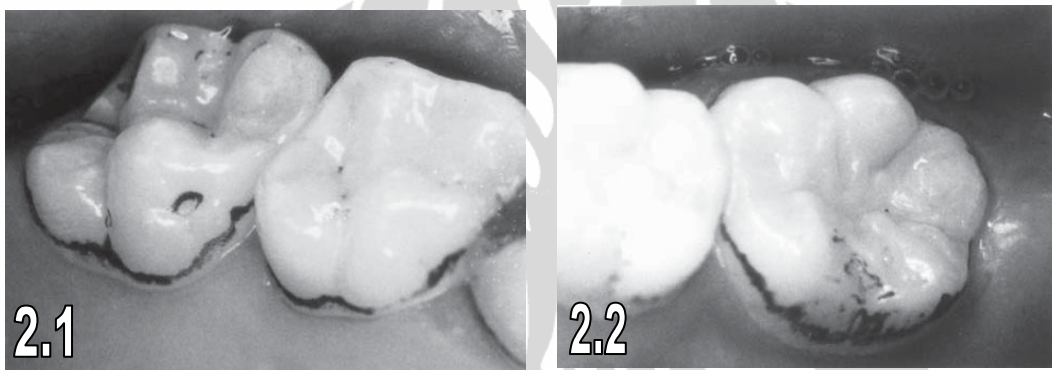
Faktor-faktor predisposisi terjadinya *stain* ekstrinsik pada anak-anak dan orang dewasa termasuk adanya defek email, disfungsi saliva dan kesehatan intra oral yang buruk. Defek email dalam hal ini meliputi bentuk *pit* dan *fissure* yang dalam yang rentan terhadap akumulasi dari makanan dan dapat menghasilkan *stain* ekstrinsik. Saliva juga berperan penting secara fisik dalam hal pembuangan sisa-sisa makanan dan plak gigi dari permukaan luar dan permukaan interproksimal. Kurangnya produksi saliva akan mempercepat terjadinya *stain* ekstrinsik dan dapat disebabkan oleh penyakit lokal (sumbatan dan infeksi pada kelenjar saliva) serta penyakit sistemik (*Sjorgen syndrome*), radiasi kemoterapi karena kanker pada daerah kepala dan leher serta penggunaan obat-obatan tertentu dalam jangka panjang (anti kolinergik, anti hipertensi, anti histamin).<sup>14</sup>

*Stain* ekstrinsik dapat mengenai baik pada gigi sulung maupun gigi permanen. Penyebarannya bisa menyeluruh ke seluruh permukaan gigi atau beberapa permukaan geligi. *Stain* ekstrinsik pada satu gigi sangat jarang ditemui. *Stain* ekstrinsik biasanya ditemui pada permukaan yang sulit dijangkau pada saat penyikatan gigi (daerah servikal) dan diantara geligi (interproksimal).<sup>14</sup>

*Stain* ekstrinsik terjadi di permukaan luar dari gigi atau diatas *acquired pellicle*. Penyebab *stain* ekstrinsik dapat dikelompokkan menjadi 2 kategori yaitu bahan campuran yang menyatukan antara *pellicle* dan *stain* yang dihasilkan dan bahan campuran yang menghasilkan warna karena reaksi kimia di permukaan gigi. *Stain* yang langsung terjadi memiliki banyak faktor penyebab seperti rokok, mengunyah tembakau, kopi, teh. Warna yang terlihat di permukaan gigi merupakan turunan dari bahan campuran yang merupakan bahan campuran pewarna makanan. *Stain* yang tidak langsung terjadi berhubungan dengan bahan antiseptik dan garam logam. Bahan-bahan ini biasanya tidak berwarna atau berbeda warna dengan *stain* yang dihasilkan pada permukaan gigi.<sup>13</sup>

### 2.1. *Black stain*

*Black stain*, merupakan garis hitam tipis pada permukaan email gigi bagian labial dan lingual dekat *gingival margin* dan tersebar hingga permukaan proksimal. *Stain* ini melekat dengan kuat, memiliki tingkat rekurensi yang tinggi, lebih sering terjadi pada wanita dan terjadi pada penderita dengan keadaan intra oral yang baik.<sup>5,15</sup> *Black stain* terlihat seperti garis yang mengikuti kontur gingiva, dan lebih sering terlihat pada mahkota permukaan email yang kasar. *Stain* tipe ini sangat sulit untuk dihilangkan, terutama yang melekat di bagian ceruk yang dalam.<sup>5</sup>



Gambar 2.1 dan 2.2. Gambaran klinis *black stain* yang terdapat di 1/3 servikal permukaan email gigi.<sup>7</sup>

Penelitian yang dilakukan di India, ditemui prevalensi *black stain* sebesar 20% dari 780 anak sekolah yang diperiksa. *Black stain* secara klinis didiagnosis sebagai suatu pigmen yang berbentuk seperti titik, garis atau garis yang bersambungan yang berada di 1/3 servikal dan sekitar mahkota gigi, tetapi tidak mencapai daerah insisal. Kandungan *black stain* merupakan campuran dari sisa makanan dan plak gigi yang mengandung kalsium, magnesium dan ferum. Sebanyak 5 sampel yang diteliti, didapatkan nilai rata-rata kadar Ferum sebesar 2,56%, kadar Kalsium sebesar 17,15% dan kadar Magnesium sebesar 0,72%. Hasil analisa air menunjukkan kadar Ferum yang terdapat pada air minum di India sebesar 1.2mg/lit, hasil ini jauh lebih tinggi daripada batas yang dapat ditoleransi sebagai air minum di India yang dinyatakan oleh *Indian Standard Drinking Water* yaitu sebesar 0,3mg/lit.<sup>4</sup>

Penelitian yang difokuskan pada *black stain* belum banyak dilakukan. Penelitian mengenai komposisi *black stain* menyatakan ini sebagai suatu bentuk khusus dari plak gigi, sesuai dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa pigmen yang ditemui di *black stain* merupakan kumpulan *black insoluble ferric*, kemungkinan ferum sulfat. Kumpulan ion *iron* biasanya menyebabkan gigi mengalami *black stain*. Penemuan ini mengindikasikan bahwa *ferric sulfide* yang terbentuk melalui reaksi antara *hydrogen sulfide* yang dihasilkan oleh bakteri dan ferum yang ada di saliva, dapat menyebabkan *black stain*.<sup>10</sup> Hasil analisa air, ditemukan adanya hubungan antara kandungan kimiawi air dengan hasil analisa *black stain* pada gigi dan dapat ditarik kesimpulan bahwa peningkatan konsentrasi ion *iron* dapat menjadi salah satu faktor predisposisi timbulnya *black stain* pada gigi.<sup>4</sup>

Hasil penelitian di Denmark terhadap 11 anak usia 3-5 tahun yang memiliki *black stain* sedikitnya pada 10 gigi, terdapat perbedaan mikroflora yang signifikan pada plak dari plak gigi normal terhadap plak gigi disertai *black stain*. Pada plak gigi dengan *black stain*, bakteri batang gram positif terdapat pada 90% dari organisme di *acquired pellicle*, dimana secara mengejutkan merupakan persentase yang sangat tinggi jika dibandingkan dengan jumlah bakteri batang gram positif pada plak gigi normal dimana bakteri batang gram positif terdapat hanya 35-42% dari organisme di *acquired pellicle*.<sup>9</sup>

Tabel 2.1 Gambaran mikroorganisme yang didapat dari 11 sampel *black stain*.<sup>9</sup>

Organisme	Jumlah bakteri yang diisolasi	Jumlah sampel
Gram positif, anaerob fakultatif dan batang anaerob	716	11
• Cabang, katalase negatif	541	11
• Cabang, katalase positif	112	11
• Tidak bercabang, katalase positif	63	5
Gram positif, kokkus anaerob fakultatif	45	7
• <i>Streptococcus sp</i>	36	7
• <i>Micrococcus sp</i>	9	4
Gram positif, kokkus anaerob	2	1
Gram negatif, batang anaerob		
• <i>Bacteroides melaninogenicus</i>	2	1
Gram negatif, kokkus anaerob fakultatif	31	2

Bakteri batang gram positif merupakan kelompok yang paling banyak ditemui dan ditemui pada seluruh sampel. Sebagian besar mikroorganisme hasil isolasi bersifat fakultatif anaerob, mikroaerofilik, bercabang, katalase negatif yang merupakan ciri khas dari *Actinomyces* dan *Arachnia*. Secara acak dilakukan isolasi dari sampel untuk dapat dilakukan klasifikasi lebih lanjut dengan menggunakan hidrolisa tepung dan bahan asam yang diproduksi dari *glucose*, *xylose* dan *salicin*; dan didapati bakteri masuk dalam kelompok species *Actinomyces israelii*, *Actinomyces naeslundii* dan *Arachnia propionica*. Pemeriksaan biokimiawi menunjukkan bahwa organisme-organisme ini merupakan kelompok yang sangat heterogen.<sup>9</sup>

Tahun 2006 dilakukan penelitian terhadap 100 sampel plak anak dengan *black stain* dan 100 sampel plak anak tanpa *black stain*. Pemeriksaan *Polymerase Chain Reaction* didapati bahwa bakteri *Porphyromonas gingivalis* dan *Prevotella melaninogenica* tidak berperan dalam menyebabkan *black stain*, melainkan *Actinomyces* dinilai berperan dalam proses pigmentasi.<sup>16</sup>

Keunggulan dari keberadaan *Actinomyces* pada *black stain* adalah frekuensi karies yang rendah. Berhubungan dengan potensi karies dari *Actinomyces*, hanya

sedikit kejadian yang dapat dibuktikan. *Actinomyces* sudah diisolasi dalam persentase yang tinggi dari lesi karies yang aktif dan macam-macam spesies *Actinomyces* dapat menyebabkan beberapa tipe karies pada model binatang. *Actinomyces* juga merupakan koloni utama pada mikroorganisme dari kalkulus dan sudah terbukti sejak lama bahwa *Actinomyces* juga berperan dalam pembentukan kalkulus. *Actinomyces* yang diisolasi dapat menghasilkan pigmen hitam dan terjadi kalsifikasi.<sup>9</sup> Penelitian *in vitro* lainnya menunjukkan pembentukan pigmen hitam di dentin yang disebabkan oleh *Actinomyces*<sup>5</sup>. *Black stain* yang memiliki koloni utama *Actinomyces*, memiliki kecenderungan mengalami kalsifikasi. Lingkungan kalkulus memiliki karakteristik yang sama dengan *black stain*, yaitu frekuensi karies yang rendah. Frekuensi karies yang rendah tidak bisa dijelaskan dari data yang didapat untuk menggambarkan signifikansi dari *Actinomyces* pada *black stain*. *Actinomyces* berperan terhadap frekuensi karies yang rendah. *Actinomyces* dan *black stain* juga merupakan faktor penghambat sekunder karies pada gigi. Jumlah *Streptococcus* yang sedikit terlihat sejalan dengan rendahnya aktivitas karies pada penderita *black stain*.<sup>9</sup>

## 2.2. *Actinomyces*

*Actinomyces* merupakan suatu jenis bakteri yang berbentuk panjang atau batang, filamen-filamen yang bercabang, terlihat sekilas seperti *fungus hyphae*. Dua genus penting dari kelompok ini adalah *Actinomyces* dan *Nocardia*. Struktur kimia dari dinding sel ini serupa dengan *Corynebacterium* dan *Mycobacterium*. Spesies *Actinomyces* bersifat mikroaerofilik atau anaerobik.<sup>17</sup>

*Actinomyces* merupakan organisme-organisme yang subur, potensi patogen dari spesies ini hidup bersama di dalam mulut pada manusia dan binatang. *Actinomyces* merupakan komponen utama dari plak gigi, terutama pada bagian aproksimal dari gigi dan diketahui meningkat pada beberapa jenis gingivitis. Hubungan antara karies pada permukaan akar dan *Actinomyces* sudah sering dijelaskan. Beberapa spesies dari *Actinomyces* yang sering diisolasi dari rongga mulut adalah *A. israeli*, *A. gerencseriae*, *A. odontolyticus*, *A. naeslundii*.<sup>17,18</sup>

Pembentukan plak gigi diawali dengan mekanisme kolonisasi awal pada permukaan email gigi yang dalam waktu 24 jam akan didominasi oleh mikroorganisme fakultatif anaerob gram positif, seperti *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus mutans*, *Actinomyces viscosus* dan *Actinomyces naeslundii*. Pengkoloni awal akan melekat ke pelikel dengan bantuan *adhesion*, yaitu: molekul spesifik yang berada pada permukaan bakteri. Seiring perkembangannya, terjadi perubahan ekologi pada *biofilm*, yaitu peralihan dari lingkungan awal yang bersifat aerob dengan spesies bakteri fakultatif anaerob gram-positif menjadi lingkungan yang sangat miskin oksigen dengan adanya spesies bakteri anaerob gram-negatif setelah 24 jam.<sup>31</sup> Literatur lain mengatakan bahwa dalam waktu 2 hari tanpa dilakukan pembersihan, permukaan email gigi akan didominasi oleh bakteri batang gram positif fakultatif anaerob seperti *Actinomyces*.<sup>32</sup>

*Actinomyces* memiliki karakteristik gram positif berbentuk kecil, tipis, lurus, *filamentous branching rods, non motile, non sporing, non acid fast*.<sup>17,19</sup> *Actinomyces* juga memiliki gambaran umum tidak tahan asam, hidup dalam lingkungan anaerob, pada jaringan dapat bercabang lalu berubah menjadi bentuk batang.<sup>20,19</sup> Kumpulan dari organisme ini akan terlihat seperti *yellowish sulphur granules*. *Actinomyces* tumbuh dalam keadaan anaerob pada darah atau agar serum glukosa pada suhu 35°C - 37°C.<sup>19</sup> Selama satu minggu akan terlihat bentuk kecil berwarna putih, berkoloni pada agar darah. Karena pertumbuhannya yang relatif lambat, mengisolasi organisme ini dari spesimen cukup sulit karena organisme yang lain berkembang dengan cepat dan cenderung akan mengkaburkan spesies *Actinomyces* yang bertumbuh dengan lambat. Kumpulan lesi *sulphur granules* merupakan petunjuk gambaran dari organisme ini.<sup>17</sup> Pada beberapa situasi dan kondisi, *granules* ini dapat dihancurkan, dilakukan pewarnaan gram, diamati untuk gram positif *branching filament* dan dilakukan kultur pada media yang dipilih.<sup>17,20</sup>

Membedakan tiap spesies dari genus *Actinomyces* merupakan suatu hal yang sulit karena variasi dari berbagai reaksi terhadap perlakuan tertentu dan karena beberapa spesies akan lebih baik dibedakan dengan cara elektroforesis.<sup>19</sup> Sebagai contoh, untuk membedakan *A. naeslundii* genospecies 1 dan genospecies 2 diperlukan



pemeriksaan dalam tahap genetik dengan menggunakan *antisera recognizing cell wall antigens*.<sup>18</sup>

Infeksi *actinomycotic* merupakan infeksi kronis, *granulomatous, endogenous infections* pada rongga mulut.<sup>17</sup> *Actinomyces* yang merupakan salah satu flora normal rongga mulut banyak ditemui di membran mukosa dari golongan makhluk bertulang belakang, sering menyebabkan infeksi piogenik bila bereaksi bersamaan dengan beberapa bakteri.<sup>19</sup> Mayoritas *Actinomyces* berwarna keputihan, yang akan berubah menjadi warna kekuningan setelah masa inkubasi yang lama, berdiameter 1-4 mm, kuat bertahan dan menimbulkan permukaan yang kusut.<sup>9</sup>

### 2.3. Permukaan email gigi

Email gigi merupakan satu-satunya jaringan di tubuh manusia yang mengalami mineralisasi dari jaringan epitel. Unsur dasar dari email adalah prisma-prisma email dimana setiap prisma merupakan produk dari ameloblas. Pembentukan email gigi dibagi dalam tiga tahap yaitu tahap deposisi, tahap mineralisasi matriks yang terjadi secara bersamaan dan tahap maturasi yang disertai dengan penyaluran unsur-unsur organik yang tidak akan dimulai sampai dicapai ketebalan maksimal dari email gigi tersebut. Amelogenin merupakan protein matriks email yang utama dan akan menurun dengan cepat dan hilang.<sup>21</sup>

Email gigi merupakan salah satu bagian yang mengalami mineralisasi sangat tinggi. Email gigi dengan komposisi kimiawi yang tidak biasa dan struktur yang mengalami mineralisasi merupakan material yang memiliki kepadatan yang tinggi pada sistem vertebrata. Email yang sudah mengalami maturasi berbentuk aselular dan hampir tidak memiliki unsur organik. Secara berlawanan, permukaan email gigi merupakan suatu sistem kimia yang aktif yang berperan dalam beberapa reaksi seperti pengangkutan ion dari saliva ke dentin, pertukaran ion dengan saliva dan proses demineralisasi-remineralisasi. Pembahasan lebih jauh mengenai banyaknya reaksi yang terjadi antara email terhadap komponen organik dan bakteri dari saliva memperkuat konsep bahwa email merupakan komponen di dalam mulut yang selalu berubah-ubah.<sup>22</sup>

Susunan mineral di email mengikuti susunan tingkatan dari makroskopik hingga mikroskopik. Unsur yang paling banyak ditemukan adalah prisma-prisma email. Email disusun secara padat dan saling berikatan antar prisma yang meluas dari *enamel-dentino junction* hingga permukaan luar. Kristal-kristal email yang sudah mengalami maturasi akan disatukan menjadi struktur yang lebih besar yang selanjutnya akan menjadi prisma-prisma email. Setiap prisma email merupakan kumpulan dari jutaan kristal email yang berikatan pada bagian ujungnya dan disatukan menjadi satu ikatan kristal yang tebal.<sup>22</sup>

Kalsium dan fosfat yang terkandung di email biasanya lebih rendah daripada yang ditemukan pada kalsium fosfat apatit. Email memiliki jumlah karbonat yang cukup tinggi. Komposisi mineral pada permukaan email merupakan komponen yang penting dan terus berubah. Air juga merupakan komponen penting pada email, tetapi sedikit diketahui tentang molekul-molekul air di dalamnya.<sup>22</sup>

Permukaan luar dari email menunjukkan sedikit keadaan tidak rata yang bervariasi dalam beberapa tingkat. Keadaan yang tidak sama ini terlihat lebih sering terjadi pada permukaan email gigi sulung dibandingkan pada permukaan email gigi tetap.<sup>23</sup>

Perubahan komposisi dari permukaan email banyak dikaitkan dengan umur seperti peningkatan konsentrasi fluor, penurunan kandungan karbonat, air dan *strontium*. Penelitian mengenai tingkat ultrastruktur, melaporkan bahwa email gigi sulung memiliki tingkat permeabilitas dan tingkat porositas yang lebih tinggi daripada gigi permanen, ketebalan email gigi sulung lebih tipis dibandingkan gigi permanen. Pada penelitian LeGeros tahun 1983, dilaporkan hasil analisa dengan menggunakan *Scanning Electron Microscopic* (SEM) bahwa dimensi prisma-prisma email gigi sulung sedikit lebih kecil dibandingkan dengan email gigi permanen. Penghitungan komposisi kimiawi didapati bahwa kandungan karbonat pada gigi sulung sedikit lebih tinggi daripada gigi permanen, begitu juga dengan kandungan magnesium.<sup>24</sup>

Tabel 2.2. Perbandingan kandungan komposisi gigi sulung (s/d 9 tahun), gigi tetap muda (11-15 tahun), gigi tetap matur (41-60 tahun).<sup>24</sup>

KANDUNGAN	GIGI SULUNG	GIGI TETAP MUDA	GIGI TETAP MATUR
Dimensi prisma (SEM) $\mu\text{m}$	850-1300	1000-1400	1600-2500
Komposisi kalsium	34,71	35,6	37,2
Komposisi magnesium	0,31	0,29	0,20
Komposisi fosfor	16,33	16,82	17,40

#### 2.4. Saliva

Komposisi kimiawi saliva terdiri dari beberapa ion seperti sodium, potasium, kalsium, klorida, bikarbonat dan fosfat dengan konsentrasi yang berbeda-beda. Saliva juga mengandung bermacam-macam protein dan enzim seperti *amylase* dalam jumlah besar, dan juga *lysozyme* dan *hyaluronidase*.<sup>25</sup> Beberapa tahun ini telah banyak percobaan dilakukan untuk menghubungkan antara komposisi saliva dengan keadaan diet dan insidensi karies. Tetapi sudah dibuktikan, bahwa terdapat cukup banyak faktor yang mempengaruhi komposisi saliva, kecuali sampel yang diambil saliva-nya berada dalam keadaan yang sangat terkontrol oleh peneliti.<sup>25</sup>

Penelitian pada tahun 1931 menyatakan bahwa flora mulut bayi setelah lahir masih berada dalam keadaan steril. Selama 6-10 jam setelah lahir, flora mulut bayi akan terkontaminasi oleh bakteri *Staphylococcus* dan beberapa bakteri lainnya. Jumlah bakteri dalam mulut akan meningkat dengan cepat pada hari kedua. Setelah 12 hari, *Streptococcus salivarius* ditemukan sebagai spesies tunggal dan ditandai dengan pengurangan mikroorganisme.<sup>26</sup>

Keadaan flora mulut orang dewasa biasanya kurang lebih sama pada anak-anak yang telah memiliki geligi, tetapi memiliki lebih banyak variasi bakteri sehubungan dengan keadaan mulut dan kondisi geligi. Pada saat seseorang kehilangan seluruh gigi, keadaan flora mulut akan kembali seperti saat baru lahir.<sup>26</sup>

Pada penelitian di Alabama dinyatakan bahwa keseimbangan flora rongga mulut dapat dilihat dari perkembangan bakteri di rongga mulut. Keadaan ini merupakan sesuatu yang tetap dan khas pada setiap individu, tetapi berbeda terhadap

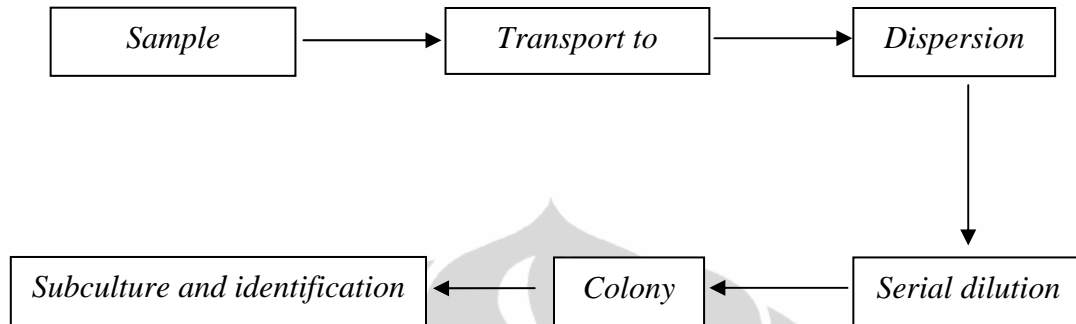
individu lainnya. Keseimbangan biologis akan menjaga reaksi antibakteri dalam rongga mulut. Zat antibakteri dari saliva merupakan produk metabolik dari *Streptococcus viridians* dan *Lactobacillus*<sup>26</sup>. Seiring dengan perkembangan plak gigi, keadaan flora mulut ikut berubah, dimana mikro organisme yang mendominasinya adalah bakteri batang gram positif dan organisme berfilamen seperti *Corynebacteria* dan *Actinomyces*.<sup>27</sup> Penelitian tentang mekanisme perlindungan rongga mulut dari bakteri *endogenous* dan pergerakan organisme ekstrinsik di dalam rongga mulut; menyimpulkan bahwa daerah bibir dan gusi merupakan tempat perkembangbiakan infeksi rongga mulut dan tidak memiliki daya *auto-sterilization*. Bibir merupakan sumber dari infeksi akut dalam rongga mulut, sedangkan gusi merupakan area perkembang biakan infeksi pada jaringan lunak lidah dan pipi.<sup>26</sup>

Plak gigi merupakan suatu ekosistem mikroflora kompleks yang didominasi oleh bakteri-bakteri fakultatif anaerob seperti *Streptococcus* dan *Actinomyces*, diikuti oleh *Veillonella* dan beberapa macam bakteri batang gram negatif. Saliva diketahui memiliki beberapa fungsi di dalam mulut, salah satunya sebagai agen pelindung bagi gigi dan jaringan lunak. Mikroorganisme pada plak gigi hidup berhubungan secara konstan dengan mikroorganisme di saliva dan beberapa penelitian telah membuktikan bahwa saliva memiliki peranan terhadap perlekatan bakteri atau antibakteri ke permukaan email gigi.<sup>28</sup>

Penelitian yang menghubungkan perkembangan mikroflora rongga mulut dan kaitannya terhadap peran saliva sebagai substrat mengindikasikan bahwa ketersediaan nutrisi yang berkelanjutan akan merangsang pertumbuhan mikroflora rongga mulut. Beberapa sumber nutrisi bagi bakteri seperti diet, saliva, cairan krevikular. Sehubungan dengan komposisi kimiawi dan produksi yang berkelanjutan, saliva merupakan salah satu sumber nutrisi. Hal ini sudah diteliti secara *in vitro* bahwa bakteri rongga mulut dapat tumbuh dengan baik di berbagai saliva atau pada media agar dari saliva yang dipanaskan.<sup>28</sup>

Sampel saliva dapat diambil dengan cara meminta subyek penelitian untuk meludah ke dalam *container* steril. Sampel saliva dapat diambil dalam keadaan tidak terstimulasi maupun dalam keadaan terstimulasi oleh bahan kimia atau dengan

permen karet. Meskipun jumlah saliva yang dikumpulkan dalam keadaan terstimulasi dapat lebih banyak, tetapi pada sampel ini dapat juga ditemui lebih banyak organisme yang harusnya berada diluar rongga mulut.<sup>18</sup>



Gambar 2.3. Skema tahapan analisis mikrobiologi dari mikroflora rongga mulut.<sup>18</sup>

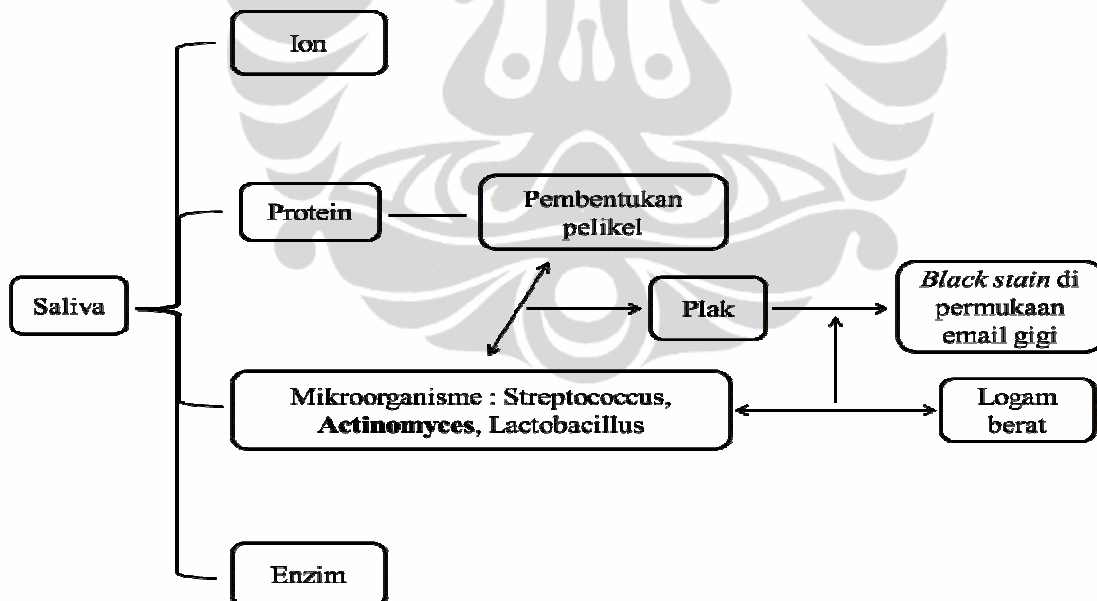
Penelitian tahun 2008 di Spanyol dalam menghitung *Actinomyces* dalam saliva, sampel saliva diambil dari 33 anak sekolah. Sampel diambil dari saliva yang tidak distimulasi yang dikumpulkan di botol yang sudah disterilkan di laboratorium selama 2 jam. Sampel *dispersed* di *Vortex stirrer* dalam waktu 1 menit, diletakkan di cawan patri yang sudah mengandung Agar Brucella dengan tambahan hemin, vitamin K dan 5% darah. Sampel diinkubasi pada suhu 37°C dalam suasana anaerob selama 7 hari untuk mendapatkan pertumbuhan mikroorganisme yang maksimal.<sup>29</sup> Jumlah bakteri pada sampel dikalkulasi dengan perhitungan dari *colony forming unit* (CFU) dalam mili liter larutan sampel.<sup>29</sup>

Penelitian pada tahun 1982, media CFAT ( *Cadmium, Fluoride, Acryflavine, Tellurite* ) memberikan peningkatan yang signifikan dari beberapa media yang pernah digunakan untuk pembiakan selektif *A. viscosus* dan *A. naeslundii* pada penelitian klinis meskipun pada beberapa spesies tidak terlihat perbedaannya.<sup>30</sup>

Tabel 2.3. Komposisi media CFAT selektif untuk *A. viscosus* dan *A. naeslundii*.<sup>30</sup>

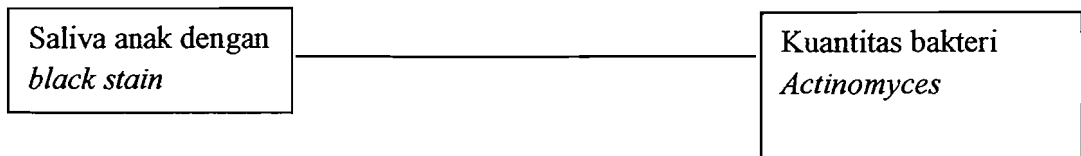
KOMPOSISI	SATUAN PER LITER
<i>Trypticase Soy Broth</i>	30 g
<i>Glucose</i>	5 g
<i>Agar</i>	15 g
<i>Cadmium sulfate</i>	13 mg
<i>Sodium Fluoride</i>	80 mg
<i>Neutral acriflavin</i>	1,20 mg
<i>Pottasium tellurite</i>	2,50 mg
<i>Basic fuchsin</i>	0,25 mg
<i>Defibrinated sheep blood</i>	50 l

## 2.5 Kerangka Teori



## BAB 3 METODE PENELITIAN

### 3.1 Kerangka konsep



### 3.2 Hipotesis

Terdapat perbedaan kuantitas bakteri *Actinomyces* di saliva anak dengan dan tanpa *black stain* pada permukaan email gigi

### 3.3 Variabel Penelitian

1. Saliva anak usia 4-11 tahun dengan *black stain* lebih dari 8 permukaan email gigi
2. Saliva anak usia 4-11 tahun tanpa *black stain* pada permukaan email gigi
3. Kuantitas bakteri *Actinomyces*

### 3.4 Definisi Operasional

1. Saliva adalah cairan rongga mulut yang merupakan hasil sekresi kelenjar parotid, submandibula dan sublingual. Cara pengambilan sampel saliva adalah dengan instruksi meludah setiap 1 menit selama 3 menit tanpa diberikan stimulan. Skala nominal.
2. Kuantitas bakteri *Actinomyces* merupakan jumlah koloni bakteri batang gram positif, fakultatif anaerob, mikroaerofilik, bercabang, katalase negatif yang telah dikonfirmasi dengan pemeriksaan pewarnaan gram dan mikroskop sebagai koloni *Actinomyces*. Dihitung per mili liter saliva dengan menggunakan metode *Colony Forming Unit* dan alat *Colony Counter*. Data berskala nominal.

### 3.5 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian studi observasional laboratorik

### 3.6 Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah anak usia 4-11 tahun, dipilih sesuai dengan kriteria subyek

### 3.7 Kriteria Subyek

Kriteria subyek pada penelitian ini adalah :

1. Anak usia 4-11 tahun dengan *black stain* lebih dari 8 permukaan email gigi dan berada dalam kategori kejadian karies rendah (def-t = 0-5)
2. Anak usia 4-11 tahun tanpa *black stain* di permukaan email gigi dan berada dalam kategori kejadian karies rendah (def-t = 0-5)
3. Anak mendapat izin dari orang tua sebagai obyek penelitian
4. Anak tanpa penyakit sistemik dan tidak mengkonsumsi obat-obatan

### 3.8 Lokasi dan Waktu

Lokasi penelitian dilakukan di Health Centre, Ipeka International Christian School, Meruya dan Laboratorium Mikrobiologi, FK UI; Jakarta.

Waktu penelitian : Bulan September – Desember 2011.

### 3.9 Besar Sampel

Besar sampel didapatkan dengan menggunakan rumus :

$$n_1 = n_2 = 2 \left[ \frac{(Z_\alpha + Z_\beta)S}{(X_1 - X_2)} \right]^2$$

Kesalahan tipe I : 5%; maka  $Z_\alpha = 1,96$

Kesalahan tipe II : 10%; maka  $Z_\beta = 1,64$

Selisih rerata minimal yang dianggap bermakna  $(X_1 - X_2) = 1$

Simpangan baku gabungan (S) dihitung dengan menggunakan rumus :



$$S = \sqrt{\frac{S_1^2(n_1 - 1) + S_2^2(n_2 - 1)}{n_1 + n_2 - 2}}$$

S = simpangan baku gabungan

S<sub>1</sub> = simpangan baku kelompok 1 pada penelitian sebelumnya

S<sub>2</sub> = simpangan baku kelompok 2 pada penelitian sebelumnya

n<sub>1</sub> = besar sampel kelompok 1 pada penelitian sebelumnya

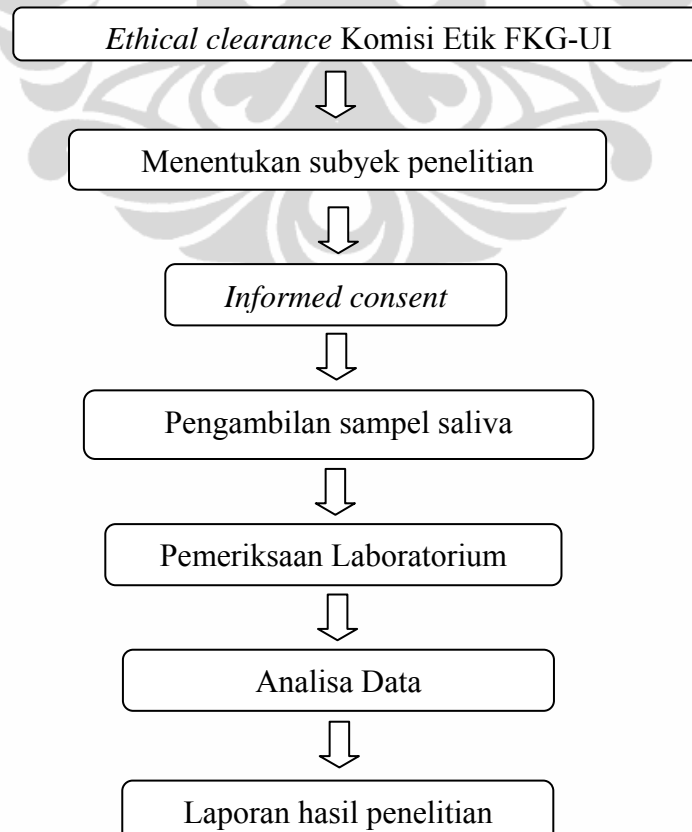
n<sub>2</sub> = besar sampel kelompok 2 pada penelitian sebelumnya

$$n_1 = n_2 = 2 \left[ \frac{(Z_\alpha + Z_\beta)S}{(X_1 - X_2)} \right]^2$$

$$n_1 = n_2 = 2 \left[ \frac{(1,96 + 1,64) 0,75}{1} \right]^2$$

$$n_1 = n_2 = 15$$

### 3.10 Alur dan tata laksana penelitian



### 3.11 Alat dan bahan

#### 3.11.1. Alat :

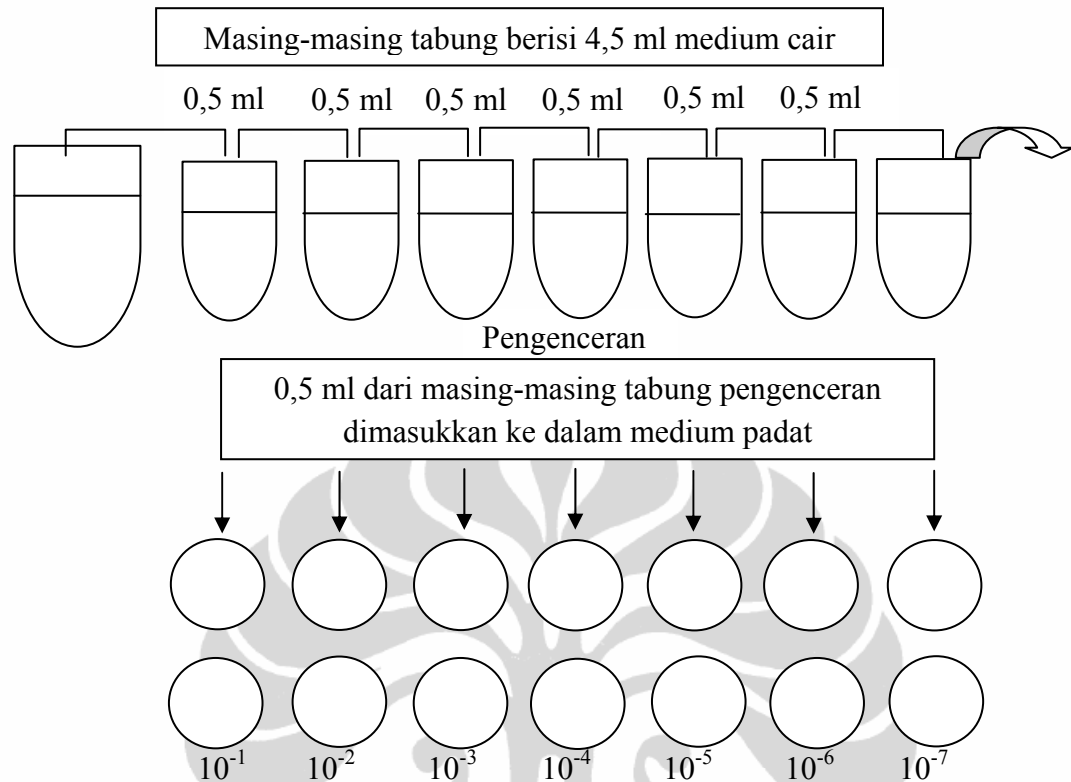
- a. Sarung tangan
- b. Masker
- c. Kaca mulut
- d. Sonde
- e. *Cheek retractor*
- f. *Container* steril
- g. *Vortex stirrer*
- h. Tabung reaksi
- i. Mikro pipet
- j. Tips steril
- k. Cawan petri steril
- l. Inkubator
- m. *Colony counter*
- n. Mikroskop
- o. Plastik dan segel kedap udara
- p. *Anaerob Jar*
- q. *Anaerob Gas Pack*

#### 3.11.2. Bahan :

- a. Saliva anak dengan *black stain*
- b. Saliva anak tanpa *black stain*
- c. Medium cair : Kaldu *Brain Heart Infusion*
- d. Medium padat : *Actinomyces* agar
- e. Pewarnaan gram
- f. Minyak emersi

### 3.12 Cara penelitian

1. Sebelum memulai penelitian, peneliti memberikan informasi mengenai penelitian yang akan dilakukan dan dijelaskan kepada pihak sekolah seperti Kepala Sekolah serta para guru
2. Seleksi subyek dilakukan di Health Centre Ipeka International Christian School dengan cara pemeriksaan keadaan intra oral meliputi ada tidaknya *black stain* serta kategori tingkat karies
3. Memberikan *informed consent* serta informasi penelitian kepada orang tua dari subyek yang terpilih
4. Pengambilan saliva dilakukan pada subyek penelitian yang sesuai dengan kriteria inklusi dengan cara anak diminta meludah dan dimasukkan ke dalam *container* steril yang sudah disiapkan. Meludah dilaksanakan setiap 1 menit selama 3 menit.
5. Sampel di *container* steril dimasukkan ke dalam plastik, diberikan Oxoid *Anaerob Gas Pack* lalu plastik disegel dan dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi FK UI
6. Sampel di-*dispersed* di *Vortex stirrer* selama 1 menit.
7. Sampel dilakukan pengenceran berseri dalam sejumlah tabung yang mengandung 4,5 ml medium cair *Brain Heart Infusion*. 0,5 ml sampel dimasukkan ke dalam tabung pengenceran pertama, kemudian diambil 0,5 ml dari tabung tersebut untuk dimasukkan ke dalam tabung pengenceran kedua. Begitu seterusnya hingga pada tabung pengenceran terakhir dibuang 0,5 ml, sehingga diperoleh pengenceran  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ , dstnya. Ke dalam *plate* yang sudah mengandung agar *Actinomyces*, dimasukkan 0,5 ml dari masing-masing tabung pengenceran secara *duplo* dan diratakan dengan gelas kaca.



8. *Plate* dimasukkan ke dalam *Anaerob Jar* dan diinkubasi di inkubator pada suhu 37.3°C selama 7 hari. Observasi dilakukan hingga 14 hari.
9. Pemeriksaan koloni dengan menggunakan pewarnaan gram di bawah mikroskop dilakukan terlebih dahulu untuk mengkonfirmasi dan mengidentifikasi koloni *Actinomyces*
10. Penghitungan jumlah koloni dengan menggunakan alat *colony counter* hanya dilakukan pada *plate* dengan jumlah 30 sampai 300 koloni. Jumlah ini menggambarkan jumlah koloni tiap ml sampel. Penghitungannya dengan mengkalikan jumlah koloni pada *plate* agar dengan faktor pengenceran yang sesuai. Penghitungan dilakukan dengan metode *Colony Forming Unit* (CFU) dalam mili liter saliva.

### 3.13 Analisa data

Data dianalisa dengan uji - t tidak berpasangan dengan batas kemaknaan  $p < 0,05$ .

## BAB 4 HASIL

Penelitian dilaksanakan di Sekolah *Ipeka International Christian School*, Meruya dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia pada tanggal 5 Oktober 2011 – 23 Desember 2011. Berdasarkan metode konsekutif, dari populasi penelitian yang berjumlah 615 anak, didapati subyek yang memenuhi kriteria inklusi sebanyak 30 anak.



Gambar 4.1. Gambaran klinis *black stain* pada anak usia 4 tahun

Berikut adalah hasil perhitungan jumlah koloni *Actinomyces* pada saliva anak dengan *black stain* dan anak tanpa *black stain*

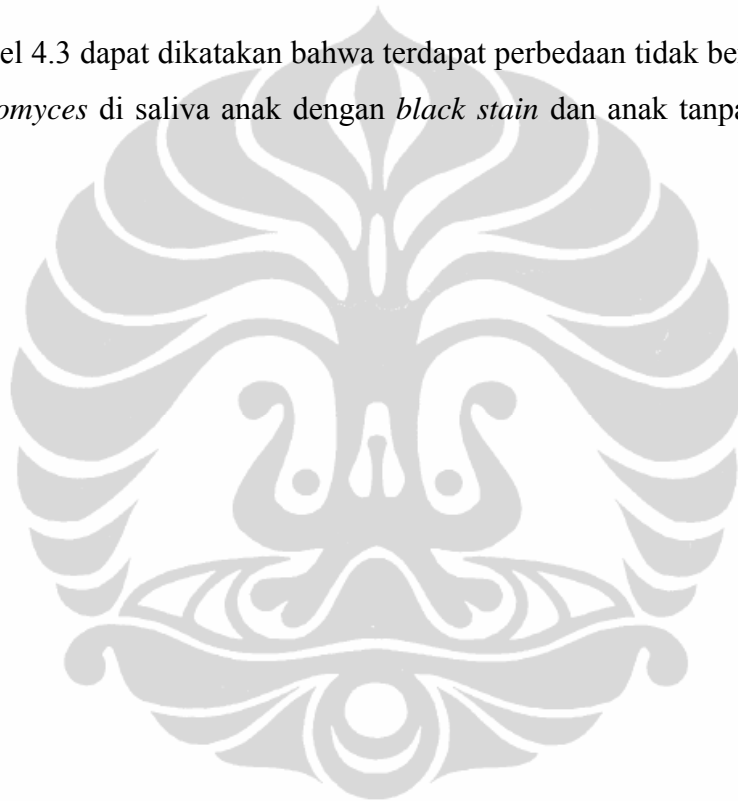
Tabel 4.2. Sebaran jumlah koloni *Actinomyces* pada saliva anak dengan dan tanpa *black stain*

<b>BLACK STAIN</b>		<b>TANPA BLACK STAIN</b>	
<b>Subyek</b>	<b>CFU (x 10<sup>7</sup> kol/ml)</b>	<b>Subyek</b>	<b>CFU (x 10<sup>7</sup> kol/ml)</b>
1.1	<b>48.20</b>	2.1	<b>44.60</b>
1.2	<b>48.30</b>	2.2	<b>22.40</b>
1.3	<b>35.50</b>	2.3	<b>14.80</b>
1.4	<b>10.90</b>	2.4	<b>51.60</b>
1.5	<b>18.50</b>	2.5	<b>10.10</b>
1.6	<b>15.10</b>	2.6	<b>49.80</b>
1.7	<b>60.30</b>	2.7	<b>8.50</b>
1.8	<b>20.80</b>	2.8	<b>11.50</b>
1.9	<b>38.85</b>	2.9	<b>25.60</b>
1.10	<b>10.15</b>	2.10	<b>31.80</b>
1.11	<b>40.50</b>	2.11	<b>15.60</b>
1.12	<b>21.70</b>	2.12	<b>25.30</b>
1.13	<b>21.50</b>	2.13	<b>30.50</b>
1.14	<b>30.60</b>	2.14	<b>25.50</b>
1.15	<b>42.10</b>	2.15	<b>24.20</b>

Tabel 4.3. Nilai rerata, simpang baku dan hasil uji - t jumlah koloni *Actinomyces* pada saliva anak dengan dan tanpa *black stain*.

<b>Kategori responden</b>	<b>n</b>	<b>X ± SB (x 10<sup>7</sup> kol/ml)</b>	<b>T</b>	<b>p</b>
<b><i>Black Stain</i></b>	15	30.87 ± 13.30	0.89	0.36
<b>Tanpa <i>Black Stain</i></b>	15	26.12 ± 10.73		

Dari tabel 4.3 dapat dikatakan bahwa terdapat perbedaan tidak bermakna pada kuantitas *Actinomyces* di saliva anak dengan *black stain* dan anak tanpa *black stain* ( $p > 0.05$ ).



## BAB 5 PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan studi tentang perbedaan kuantitas *Actinomyces* di saliva anak dengan *black stain* dan anak tanpa *black stain* di permukaan email gigi yang merupakan suatu penelitian awal dalam mengidentifikasi kuantitas *Actinomyces* di saliva serta mencari etiologi dari terjadinya *black stain* pada permukaan email gigi anak. Penelitian di Denmark terhadap 11 anak usia 3-5 tahun yang memiliki *black stain*, terdapat perbedaan mikroflora yang signifikan pada plak dari gigi tanpa *black stain* terhadap plak gigi disertai *black stain*. Pada plak gigi dengan *black stain*, bakteri batang gram positif pada 90% dari organisme di *acquired pellicle*, ini merupakan persentase yang sangat tinggi jika dibandingkan dengan jumlah bakteri batang gram positif pada plak gigi normal yaitu sebesar 35-42% dari organisme di *acquired pellicle*. Bakteri batang gram positif merupakan kelompok yang paling banyak ditemui dan ditemui pada seluruh sampel. Sebagian besar mikroorganisme hasil isolasi bersifat fakultatif anaerob, mikroaerofilik, bercabang, katalase negatif yang merupakan ciri khas dari *Actinomyces* dan *Arachnia*.<sup>9</sup> Penelitian ini akan meneliti mengenai kuantitas *Actinomyces* di saliva anak dengan *black stain*.

Penelitian ini merupakan jenis penelitian observasional laboratorik, dengan cara pengambilan sampel menggunakan metode konsekutif, semua subyek yang ada dan memenuhi kriteria subyek dimasukkan dalam penelitian sampai jumlah subyek yang diperlukan dapat terpenuhi. Berdasarkan metode konsekutif, dari 619 anak yang diperiksa, didapat 30 subyek yang terdiri dari 15 anak dengan *black stain* lebih dari 8 permukaan email gigi dan 15 anak tanpa *black stain*. Seiring dengan penelitian di *State University of Iowa* terhadap 355 anak-anak, prevalensi *black stain* ditemui pada 11-14% dari seluruh sampel<sup>11</sup>. Penelitian di India terhadap 1472 anak-anak dengan usia rerata 9,3 tahun, menemukan 18% dari sampel menderita *black stain*.<sup>12</sup> Homogenitas subyek dilakukan dengan memilih subyek dari suatu kalangan tertentu.

*Black stain* lebih sering dijumpai pada anak usia sekolah yang sedang berada dalam periode gigi sulung maupun tahapan gigi bercampur. Sesuai dengan sifat

permukaan email gigi sulung yang memiliki tingkat permeabilitas dan tingkat porositas yang lebih tinggi daripada gigi permanen serta ketebalan email gigi sulung yang lebih tipis dibandingkan gigi permanen. Hasil analisa permukaan email gigi dengan menggunakan SEM didapati bahwa dimensi prisma-prisma email gigi sulung sedikit lebih kecil dibandingkan pada email gigi permanen<sup>24</sup>.

Penelitian ini menggunakan sampel saliva karena sudah pernah ada penelitian sebelumnya yang membuktikan bahwa kuantitas *Actinomyces* pada plak gigi anak dengan *black stain* sangat signifikan jumlahnya dibandingkan pada plak gigi anak tanpa *black stain*. Sedangkan belum ada penelitian yang mengkonsentrasikan penilaian kuantitas *Actinomyces* pada saliva anak dengan *black stain*. Karena itu, peneliti tertarik untuk meneliti dan mengidentifikasi kuantitas *Actinomyces* pada saliva anak dengan *black stain*. Pada beberapa penelitian telah membuktikan bahwa mikroorganisme pada plak gigi hidup berhubungan secara konstan dengan mikroorganisme di saliva dan saliva memiliki peranan terhadap perlekatan bakteri atau antibakteri ke permukaan email gigi<sup>28</sup>; sehingga diharapkan kuantitas *Actinomyces* di saliva anak dengan *black stain* juga dapat menggambarkan kuantitas *Actinomyces* di plak anak dengan *black stain*.

*Actinomyces* merupakan organisme-organisme yang subur dan berpotensi patogen di dalam mulut manusia dan binatang. *Actinomyces* merupakan komponen utama dari plak gigi, terutama pada bagian aproksimal dari gigi dan diketahui meningkat pada beberapa jenis gingivitis.<sup>17,18</sup> Pada penelitian ini tidak digunakan sampel dari plak gigi karena diketahui berdasarkan dari literatur bahwa *Actinomyces* akan mendominasi mikroorganisme pada pembentukan plak tahap kolonisasi awal, yaitu dalam waktu 24 jam setelah pembersihan dan tidak dilakukan pembersihan lagi<sup>31</sup>. Literatur lain mengatakan plak akan didominasi oleh bakteri batang gram positif fakultatif anaerob dalam waktu 2 hari tanpa pembersihan<sup>32</sup>. Seiring dengan perkembangan plak gigi, keadaan flora mulut ikut berubah, dengan mikroorganisme yang mendominasinya adalah bakteri batang gram positif dan organisme berfilamen seperti *Corynebacteria* dan *Actinomyces*<sup>27</sup>. Karena satu dan lain hal, maka sangatlah



sulit dalam melakukan homogenitas seluruh subyek untuk tidak melakukan pembersihan rongga mulut dalam waktu 24 – 48 jam.

Pengambilan saliva dilakukan dengan meminta subyek untuk meludah ke dalam *container* steril yang telah disiapkan. Meludah dilaksanakan tanpa menggunakan stimulan dan dilakukan setiap 1 menit selama 3 menit. Hal ini sesuai dengan penelitian pada tahun 2008 di Spanyol dalam menghitung *Actinomyces* di saliva, sampel juga diambil dari saliva yang tidak distimulasi.<sup>29</sup> Dan juga seperti tercantum di literatur bahwa meskipun jumlah saliva yang dikumpulkan dalam keadaan terstimulasi dapat lebih banyak, tetapi pada sampel ini dapat juga ditemui lebih banyak organisme<sup>18</sup> sehingga akan mempersulit isolasi dari *Actinomyces*.

Pengenceran sampel dengan menggunakan medium cair *Brain Heart Infusion* yang merupakan medium yang diperkaya dengan nutrisi, digunakan untuk mengkultur beberapa jenis tertentu dari bakteri, fungi dan ragi. Pemiakan dengan *Actinomyces Isolate Agar* di cawan petri steril, kemudian cawan petri dimasukkan ke dalam *anaerob jar* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 7 hari dan diobservasi hingga 14 hari. Sesuai dengan penelitian di Spanyol bahwa sampel yang telah dibiakkan, diinkubasi pada suhu 37°C dalam suasana anaerob selama 7 hari untuk mendapatkan pertumbuhan mikroorganisme yang maksimal. Jumlah bakteri pada sampel dikalkulasi dengan perhitungan dari *colony forming unit* (CFU) dalam mili liter larutan sampel<sup>29</sup>.

*Agar Actinomyces* pada penelitian ini menggunakan *Difco Actinomyces Isolate Agar* dimana memiliki komposisi tertentu yang dapat merangsang pertumbuhan *Actinomyces*. Dalam hal ini, *Actinomyces isolate agar* yang digunakan mengandung *sodium casein* yang berfungsi sebagai sumber nitrogen, *asparagine* sebagai asam amino dan sumber nitrogen organik, *sodium propionate* yang merupakan substrat fermentasi, *dipotassium phosphate* yang memiliki kemampuan untuk menjaga keseimbangan pH; *magnesium sulphate* yang menjadi sumber sulfat dan ion logam.<sup>33</sup>

Hasil yang terlihat di cawan petri sediaan ini memberikan gambaran berupa *sulphur granules* berwarna putih keruh pada biakan agar *Actinomyces*. Seperti

tercantum di literatur bahwa kumpulan dari organisme ini akan terlihat seperti *yellowish sulphur granules*. *Actinomyces* juga merupakan spesies anaerob yang merupakan flora normal mulut. *Actinomyces* tumbuh dibawah keadaan anaerob pada darah atau agar serum glukosa pada suhu 35°C - 37°C.<sup>19</sup> Terlihat bentuk kecil berwarna putih, berkoloni pada agar darah dalam waktu satu minggu. Karena pertumbuhannya yang relatif lambat, mengisolasi organisme ini dari spesimen cukup sulit karena organisme yang lain berkembang dengan cepat dan cenderung akan mempersulit terlihatnya *Actinomyces* yang bertumbuh dengan lambat. Kumpulan lesi *sulphur granules* merupakan petunjuk gambaran dari organisme ini.<sup>17</sup>

Pada beberapa situasi dan kondisi, *granules* ini dapat dihancurkan, dilakukan pewarnaan gram, diamati untuk gram positif *branching filament* dan dilakukan kultur pada media yang dipilih.<sup>17,20</sup> Sesuai dengan pernyataan bahwa empat kriteria penting dalam karakterisasi dan klasifikasi bakteri meliputi: morfologi, karakteristik kultur, karakteristik fisiologis dan patogenisitas.<sup>34</sup> Karakteristik kultur bakteri dapat diperoleh dari pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis dari koloni bakteri. Karakteristik taksonomi yang penting dari mikroorganisme adalah respon mereka terhadap pewarnaan gram. Sehingga pada penelitian ini, identifikasi juga dilanjutkan dengan melakukan pewarnaan gram dari bakteri yang tumbuh di cawan petri. Didapat gambaran yang sesuai dengan morfologi *Actinomyces*. Setelah itu, langsung dilakukan penghitungan koloni dengan menggunakan *Colony Counter* dan metode *Colony Forming Unit*.

Hasil perhitungan dengan metode *Colony Forming Unit* didapati bahwa kuantitas *Actinomyces* di saliva anak dengan *black stain* lebih tinggi bila dibandingkan dengan kuantitas *Actinomyces* di saliva anak tanpa *black stain*. Seperti yang dikemukakan bahwa bakteri kromogenik menyebabkan pewarnaan pada email gigi dan bakteri yang paling umum ditemukan di *black stain* adalah spesies *Actinomyces*. *Black stain* terdiri atas ferum sulfat yang merupakan hasil pembentukan reaksi antara hidrogen sulfida yang diproduksi oleh bakteri dan ferum di saliva<sup>10</sup>. *Actinomyces* juga merupakan suatu flora normal di dalam rongga mulut sehingga

pada penelitian ini *Actinomyces* pada saliva anak tanpa *black stain* juga didapati meskipun dalam jumlah yang lebih rendah.

Hasil analisis data dengan uji - t dua kelompok tidak berpasangan dapat dikatakan bahwa terdapat perbedaan tidak bermakna antara kuantitas *Actinomyces* di saliva anak dengan *black stain* dan saliva anak tanpa *black stain*. Penyebabnya adalah karena proses terjadinya *black stain* juga dipengaruhi oleh faktor-faktor lain. Kuantitas *Actinomyces* bukanlah etiologi utama terjadi *black stain* melainkan terdapat hal lain yang turut mengintervensi terjadinya *black stain* pada permukaan email gigi. Seperti dikatakan bahwa *black stain* merupakan suatu bentuk khusus dari plak gigi, sesuai dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa pigmen yang ditemui di *black stain* merupakan kumpulan *black insoluble ferric*, kemungkinan ferum sulfat. Kumpulan ion *iron* biasanya menyebabkan gigi mengalami *black stain*. Penemuan ini mengindikasikan bahwa ferum sulfat dapat menyebabkan *black stain* pada plak<sup>4</sup>. Salah satu syarat utama terbentuknya sulfida logam adalah adanya denaturasi dari protein pelikel. Denaturasi terjadi pada diskolorasi ekstrinsik pada gigi. Peningkatan jumlah Fe dan S terjadi pada *stain* coklat, sedangkan peningkatan secara bersamaan *ferrum sulfide* dan *stannic sulfide* memberikan pewarnaan hitam yang kuat<sup>35</sup>.

## BAB 6

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 6.1. Kesimpulan

Hasil penelitian ini menunjukkan rerata kuantitas bakteri *Actinomyces* pada saliva anak dengan *black stain* lebih tinggi dibandingkan pada saliva anak tanpa *black stain*. Tetapi dari hasil uji statistik dengan menggunakan uji - t, didapati bahwa kuantitas *Actinomyces* pada saliva anak *black stain* dan tanpa *black stain* berbeda tidak bermakna.

#### 6.2. Saran

Setelah mempertimbangkan hasil dari penelitian ini, peneliti menyarankan bahwa perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai reaksi dan interaksi antara ion ferum dan bakteri *Actinomyces* dalam menyebabkan terjadinya *black stain* pada permukaan email gigi.

Untuk sementara waktu dikarenakan belum didapati etiologi yang jelas, pasien anak dengan *black stain* pada permukaan email gigi dapat diatasi dengan melakukan pembersihan berkala di praktek dokter gigi.

## DAFTAR REFERENSI

- 1 Carranza AF. *Glickman's Clinical Periodontology*. 2<sup>nd</sup> Ed. London: W.B. Saunder 1984: 498-500.
- 2 Hoag M, Philip. *Essentials of Periodontics*. 4<sup>th</sup> Ed. Toronto : The C.V. Mosby. 1990 : 30
- 3 Finn SB. *Clinical Pedodontics*. 4<sup>th</sup> Ed. Philadelphia : W.B Saunder. 2003 : 301-303
- 4 Tirth A, Srivastava BK, Nagarajappa R, et al. An Investigation into Black Tooth Stain among School Children in Chakkar Ka Milak of Moradabad City, India. *J Oral Health Comm Dent*, May 2009, 3(2): 34-37
- 5 Carranza AF. *Clinical Periodontology*. 7<sup>th</sup> Ed. Phyladelphia: W.B Saunders. 1990 : 400-401.
- 6 Weinberg MA. *Comprehensive Periodontics for Dental Hygienist*. 2<sup>nd</sup> Ed. New Jersey: Pearson prentice Hall. 2000 : 221-5
- 7 Gasparetto A, Conrado CA, Maciel SM, et al. Prevalence black stain and dental caries in Brazilian School children. *Braz Dent J*. 2003, 14 (3): 157-61
- 8 Grant DA, Stern IB, Everett FG. *Orban's Periodontics: A concept, theory and practice*. 4<sup>th</sup> Ed. St Louis: CV Mosby Company. 1972 : 108-110
- 9 Slots J. The microflora of Black Stain on Human Primary Teeth. *Scand J Dent Res.*, 1974, (82): 484-90
- 10 Reid JS, Beeley JA, Mac Donald DG. Investigations into Black Extrinsic Tooth Stain. *J Dent Res*, 1977. (56): 895-99.
- 11 Leung SW. Naturally occurring stains on the teeth of children. *JADA*, 1950, (41): 191-7
- 12 Bhat S. Black tooth stain and dental caries among Udaipur school children. *Int J of Public health dent*, 2010, (1): 11-15
- 13 Watts A, Addy M. Tooth discolouration and staining: a review of the literature. *British Dent J*, 2001, (190): 309-315
- 14 Kerr RA. *Tooth Discoloration*. 5 Desember 2010.  
<http://emedicine.medscape.com/article/1076389-overview>

- 
- 15 Mc Donald RE. *Dentistry for the child and adolescent*. 2<sup>nd</sup> Ed. St Louis: CV Mosby Company. 1974 : 249-52
- 16 Saba C, Solidani M, Berlutti F, et al. Black stains in the mixed dentition : A PCR microbiological study of the etiopathogenic bacteria. *J of Clin Ped Dent*, 2006, 30 (3) : 219-24.
- 17 Samaranayake LP, Jones BM. *Essential Microbiology for Dentistry*. 2<sup>nd</sup> Ed. Toronto: Churchill Livingstone. 2002:105-7.
- 18 Marsh P, Martin MV. *Oral Microbiology*. 4<sup>th</sup> Ed. London: Wright. 1999: 23-5, 38-45.
- 19 Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, et al. *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 9<sup>th</sup> Ed. Maryland : Lippincot Williams & Wilkins. 1994.
- 20 Johnson GA, Ziegler R, Fitzgerald TJ, et al. Mikrobiologi dan imunologi. (Yulius ES, penerjemah). Jakarta: Binarupa Aksara. 1994 : 115-6
- 21 Koch G, Poulsen S. *Pediatric Dentistry, a clinical approach*. Blackwell Munksgaard, Copenhagen. 2001: 70-75
- 22 Lewis M. *The Biologic basis of Dental caries*. Virginia: Harper & Row Publisher. 1980: 191-5.
- 23 Tsuchikura H, Takuma S. Study of tooth surface structures by means of the electron microscope-Fine structure of enamel. Hitachi Central Research Laboratory 1949, (36): 573.
- 24 LeGeros RZ, Piliero JA, Pentel L. Comparative Properties of Deciduous and Permanent (Young and Old) Human Enamel. *J of Gerodontol*, 1983, (2): 1-8.
- 25 Cole AS, Eastoe JE, Geary CP, et al. *Biochemistry and oral biology*. Tokyo : Toppan Co Ltd. 1977 : 368-72
- 26 Afonsky D. *Saliva and its relation to oral health*. Alabama: University of Alabama Press. Alabama. 1961 : 278-300
- 27 Holmberg K, Hallender HO. Interference between gram positive Microorganisms in Dental Plaque. *J Dent Res*, 1972, (51): 2.

- 
- 28 Jong MH, Van Der Hoeven JS, Van Os JH, et al. Growth of Oral Streptococcus Species and Actinomyces viscosus in Human Saliva. *Applied and environment Microbiol*, 1984, 47 (5) : 901-4.
- 29 Annan SG, Cardenas LB. Recuento de *actinomyces* en saliva como predictores microbiologico de caries. In Spain. *Revista de Odontologia da Universidade Cidade de São Paulo*, jan-abr 2009; 21 (1) : 6-13.
- 30 Zylber LJ, JordanHV. Development of a Selective Medium for Detection and Enumeration of *Actinomyces viscosus* and *Actinomyces naeslundii*. *J of clin microbiol*, 1982, 15, (2): 253-9
- 31 Haake SK. “Microbiology of dental plaque”. 10 Januari 2012 <http://www.dent.ucla.edu/pic/members/microbio/mdphome.html>
- 32 Nield-Gehrig JS. Dental plaque biofilm. *Foundation of Periodontics for the Dental Hygienist*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 2003 : 67-73.
- 33 Actinomycete Isolation Agar. Biomed Diagnostic Pte Ltd. Singapore. 2011
- 34 Sarles WB. *Microbiology : general and applied*. New York : Harper and Row. 1956 : 198-205.
- 35 Eriksen HM, Nordbo H, Kantanen H, et al. Chemical plaque control and extrinsic tooth discoloration. *J of Clin Period*, 1985, (12) : 345-50.

LAMPIRAN 1



**UNIVERSITAS INDONESIA**  
**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI**

JLN. SALEMBA RAYA NO. 4 JAKARTA PUSAT 10430  
TELP. (62-21) 31930270, 3151035  
FAX. (62-21) 31931412

**SURAT KETERANGAN LOLOS ETIK**

Nomor: 39/Ethical Clearance/FGGUI/VIII/2011

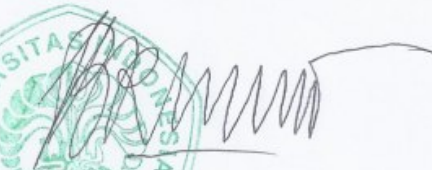
Setelah membaca dan mempelajari/mengkaji usulan penelitian yang tersebut di bawah ini:

Judul : "Kuantitas Bakteri Batang Gram Positif (*Actinomyces*) di Saliva Anak dengan *Black Stain* pada Permukaan Email Gigi"

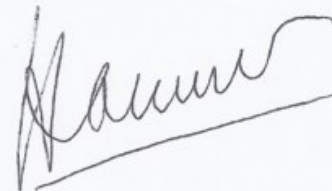
Nama Peneliti : Yuke Rustan 0906600781

Sesuai dengan keputusan Anggota Komisi Etik, maka dengan ini Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia menerangkan bahwa penelitian tersebut dinyatakan lolos etik.

Mengetahui:  
Dekan FKGUI

  
Prof. drg. Bambang Irawan, PhD.  
NIP. 195306151980031005

Jakarta, 22 Agustus 2011  
a.n Ketua Komisi Etik Penelitian FKGUI,  
Sekretaris Komisi Etik

  
Dr. Harum Sasanti, drg., Sp.PM  
NIP. 195103161977032001



LAMPIRAN 3



Gambaran klinis *black stain* pada gigi sulung anterior dan posterior

LAMPIRAN 4



Gambaran klinis *black stain* pada gigi permanen

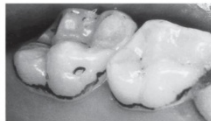
## LAMPIRAN 2



Contoh gambaran klinis anak usia 12 tahun dengan black stain



### **Black Stain**



*Black Stain* merupakan suatu deposit pigmentasi hitam hampir di seluruh permukaan gigi dan menyebabkan perubahan warna pada gigi. *Black Stain* sering dijumpai pada gigi anak; berasal dari plak gigi yang berwarna karena aktivitas bakteri. Gambaran klinis *black stain* sangat mengganggu penampilan secara estetik meskipun tidak mengganggu fungsi stomatognatik.

*Black Stain* dengan faktor penyebab utama adalah bakteri secara klinis dapat didiagnosis sebagai titik-titik yang mengandung pigmen, membentuk garis dengan perpaduan yang tidak sempurna atau putus-putus, dijumpai di daerah leher gigi dan melingkari mahkota gigi.

Penelitian yang dilakukan di Switserland pada anak usia 7-15 tahun, anak *black stain* mencapai tingkat prevalensi sebanyak 19,9%. Penelitian di India terhadap 1472 anak dengan usia rerata 9,3 tahun, menemukan 18% sampel menderita *black stain*.

Penelitian *black stain* di Indonesia khususnya Jakarta belum dilakukan secara intensif, tetapi frekuensi anak dengan *black stain* semakin sering dijumpai di klinik. Oleh karena itu, saya berminat untuk melakukan penelitian dalam bidang ini agar dapat diketahui faktor penyebab serta tindakan pencegahannya.



#### **Cara pengambilan sampel**

Pada penelitian ini, akan diambil sampel berupa air liur anak usia 4-9 tahun dengan kriteria anak dengan *black stain* dan tanpa *black stain*; anak dengan tingkat karies rendah; anak tanpa penyakit sistemik; anak dan orang tua menyetujui menjadi subyek penelitian.

Apabila anak termasuk dalam kriteria diatas, maka diharapkan agar orang tua dapat mengisi kuesioner yang diberikan dan sampel akan diambil dengan meminta anak meludah kedalam wadah botol steril dan kemudian sampel dibawa ke laboratorium untuk kemudian dilakukan penelitian. Anak tidak diberikan perlakuan yang membahayakan.

Resiko dalam pengambilan sampel ini hampir tidak ada karena anak tidak diberikan perlakuan maupun stimulan apapun. Anak hanya diberikan instruksi untuk meludah kedalam wadah / botol steril yang telah disediakan.

Saya sangat berterima kasih atas kesediaan Bapak/Ibu dalam partisipasi dan peranannya menunjang penelitian ini. Saya berharap agar melalui penelitian ini, dapat diketahui mengenai penyebab utama terjadinya *black stain* pada anak serta tindakan pencegahan yang tepat untuk permasalahan *black stain*.

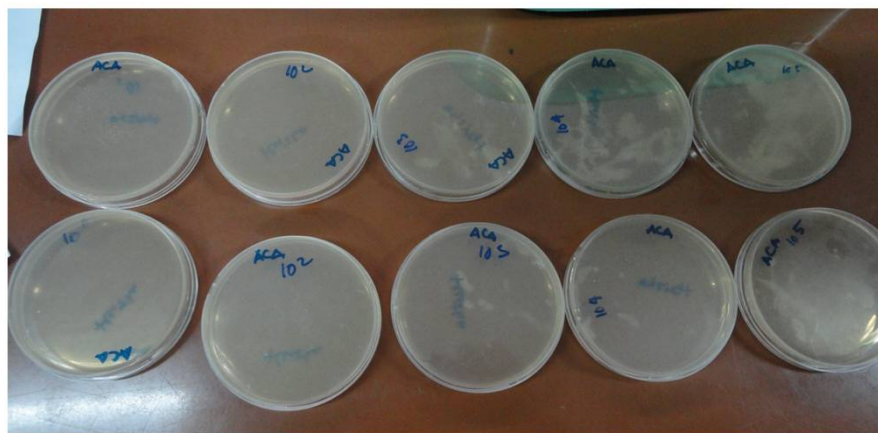
Informasi untuk orang tua subyek dengan *black stain*



## LAMPIRAN 5



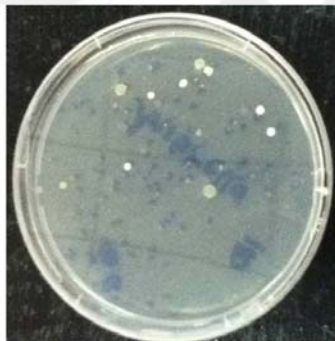
Oxoid Anaerob Gas Pack dan sampel



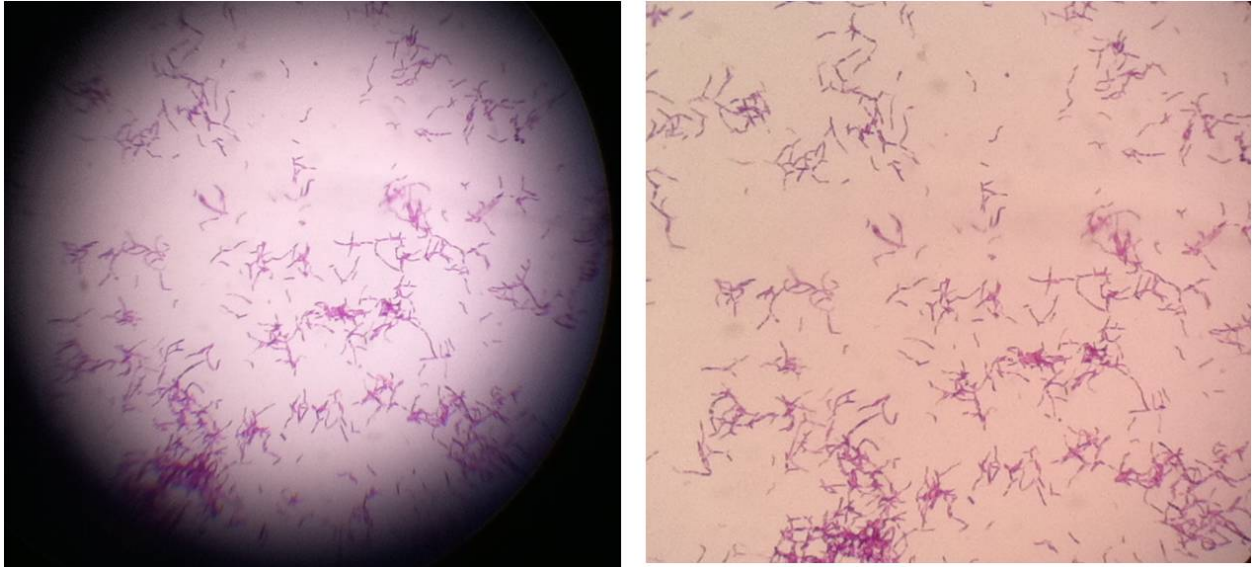
Proses pengenceran dan pembiakan *Actinomyces* di *Actinomyces* agar



Anaerobic Jar dan Inkubator suhu 37°C



Pemeriksaan mikroskopis dan penghitungan koloni *Actinomyces* dengan *Colony counter*



Gambaran mikroskopik *Actinomyces* dengan pewarnaan gram

