



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**KAPASITAS EKSTRAK TEMULAWAK ( *Curcuma xanthorrhiza Roxb* ) SEBAGAI ANTI *Streptococcus mutans*  
DALAM MENGHAMBAT DEMINERALISASI EMAIL  
( IN VITRO )**

**TESIS**

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister  
Dalam Ilmu Kedokteran Gigi Dasar

**HANDOKO TIRTA**

**0906576063**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN GIGI DASAR  
PEMINATAN BIOLOGI ORAL  
JAKARTA  
JUNI 2012**

## HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri,  
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk  
telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Handoko Tirta  
NPM : 0906576063

Tanda Tangan : 

Tanggal : 15 Juni 2012



## HALAMAN PENGESAHAN

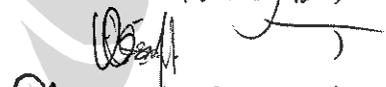
Tesis ini diajukan oleh :

Nama : Handoko Tirta  
NPM : 0906576063  
Program Studi : Ilmu Kedokteran Gigi Dasar  
Peminatan Biologi Oral

Judul Tesis : Kapasitas ekstrak Etanol Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb*) sebagai anti *Streptococcus mutans* dalam menghambat demineralisasi email ( in vitro)

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Magister Kedokteran Gigi pada Program Pascasarjana, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia

### DEWAN PENGUJI

Pembimbing : Dr. drg. Ria Puspitawati (  )  
Pembimbing : Dr. Drg. Harun Asyiq Gunawan, MS(  )  
Penguji : drg. Widurini Djohan, SpKG (  )  
Penguji : drg. Lisa Rinanda Amir, Ph.D. (  )  
Penguji : drg. Andy Soufyan Santosa, MKes. (  )

Ditetapkan di Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Indonesia

Tanggal : 15 Juni 2012

## UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji dan syukur hanyalah bagi Allah Azza Wa Jalla, pemilik dan penguasa seluruh alam semesta, yang hanya dengan perkenan, kemurahan, kasih dan sayang-Nya saja saya dapat menyelesaikan program Magister di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia.

Selama menempuh pendidikan, melakukan penelitian dan penulisan tesis ini, saya telah menerima bantuan, bimbingan dan arahan dari berbagai pihak, maka pada kesempatan ini perkenankanlah saya menyampaikan ucapan yang tulus dan sebesar-besarnya kepada:

Dr. drg. Ria Puspitawati, selaku pembimbing pertama dalam pembuatan tesis ini, saya ucapkan terima kasih tak terhingga atas kesabaran, ketekunan dan semangat yang begitu tinggi dalam membimbing saya, semoga Allah membalas semua kebaikan yang telah diberikan kepada saya.

Dr. Drg. Harun Asyiq Gunawan, MS, selaku pembimbing kedua, yang ditengah kesibukan yang begitu padat, beliau masih bersedia meluangkan waktu untuk membimbing saya.

drg. Widurini Djohan, SpKG, drg. Lisa Rinanda Amir, Ph.D, serta drg. Andy Soufyan Santosa, MKes, selaku penguji yang telah memberi masukan yang sangat berharga bagi penulisan tesis ini.

Drg. Niniarti Z. Djamal M.Kes, atas bantuan, bimbingan serta motivasi yang selalu diberikan pada saya, sungguh sesuatu yang takkan saya lupakan sampai kapanpun.

Prof. Bambang Irawan, drg, Phd, selaku dekan Fakultas Kedokteran Gigi UI, beserta jajarannya, atas segala fasilitas yang begitu baik selama saya menjalani pendidikan.

Drg. Ariadna A Djais, M. Biomed, Phd, selaku kepala Departemen Biologi Mulut Fakultas Kedokteran Gigi UI, beserta seluruh staf pengajar Departemen Biologi Mulut Fakultas Kedokteran Gigi UI yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu, namun telah begitu banyak memberikan ilmu, bimbingan dan bantuan yang begitu berharga buat saya selama menempuh pendidikan.

Universitas Indonesia

Kepala Badan PPSDM Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, beserta seluruh jajarannya, atas kesempatan yang diberikan, serta izin untuk menempuh pendidikan, dan bantuan dana tugas belajar yang diberikan kepada saya.

Bapak H. Rosadi Nazir, M.Sc, mantan direktur Poltekkes Kemenkes Jakarta II yang telah memperjuangkan dana tugas belajar saya.

Direktur Poltekkes Kemenkes Jakarta II beserta jajarannya, atas izin yang diberikan pada saya untuk menenggalkan tugas selama menjalani tugas belajar.

Ketua jurusan dan staf serta sahabat- sahabat saya yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu di jurusan Teknik Gigi Poltekkes Kemenkes Jakarta II, atas bantuan, dorongan semangat serta pengertian yang diberikan selama saya menempuh pendidikan.

Sahabat- sahabat saya di jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Jakarta II, “my bro” Surahman, Romadon, ben, fajri, adin, pak Tisna serta teman lainnya atas bantuan referensi, serta sebagai rekan diskusi selama saya menempuh pendidikan.

Staf Perpustakaan FKG UI, pak Asep, pak Nuh, mas Yanto, atas segala bantuan buku-buku, bahkan juga hal lain yang tidak berhubungan dengan keputakaan, sungguh beruntung FKG UI memiliki staf yang begitu baik dan berdedikasi tinggi dalam tugasnya.

Dessy Sulistya Ashari, SSi, dan Maysyaroh, SSi, selaku staf laboratorium Biologi Mulut FKG UI, yang memberi bantuan, dan bimbingan selama saya melakukan penelitian.

Staf Laboratorium Dental Material FKG UI, mas Dudi, pak Slamet, mbak Yamah, atas bantuan serta bimbingan selama penelitian saya di laboratorium Dental Material FKG UI.

Sahabat- sahabat saya selama menmpuh pendidikan, mulai dari mahasiswa S1 yang bagi saya bagai anak- anak saya, seperti Cut Nina, Primeir, Pradita, Rini Rahmawati, dan Nadia yang merupakan rekan dalam penelitian, juga rekan – rekan S2 diantaranya “my brother” Ferry Jaya, Rina, Vega, Maya yang merupakan rekan seperjuangan dalam program magister, dan tak lupa sahabat dari program Doktor yang banyak membantu dalam penelitian maupun keilmuan.

Staf Laboratorium IHVCB, khususnya mba Yuli yang banyak membantu selama penelitian.

**Universitas Indonesia**

Staf pengajar Departemen Dental Material yang begitu banyak membantu member bimbingan, arahan dalam pembuatan tesis ini.

Dr.drg. H. Ali Tirta dan Hj. Nurhayati, ayah dan ibu kandung saya, terima kasih yang tidak terkatakan atas segala yang terbaik yang selama ini diberikan, sejak kelahiran saya, hingga detik ini, semoga Allah membalas semua yang telah diberikan selama ini. Terima kasih telah menjadi inspirasi dan motivasi terbesar dalam hidup saya, love you mom and dad !

Bapak Tasim BS dan ibu Musdalifah sebagai bapak dan ibu mertua saya atas motivasi dan doa yang diberikan selama ini.

Julistiawati. SH dan drg. Machmud, kakak dan adik tercinta, untuk bantuan moril dan materil yang diberikan selama ini, sehingga saya dapat menyelesaikan pendidikan ini.

Widji Kurniati, istri tercinta, sungguh Allah memberi rahmat yang begitu besar karna telah memberikan wanita terbaik sebagai pendamping hidup saya, terima kasih atas motivasi dan dukungan yang begitu besar, serta ketegaran yang luar biasa selama mendampingi saya dkhususnya selama menjalani pendidikan ini.

M.Abd.Aziz Arif Bawono dan M.Abd.Aziz Wicaksono, kedua anakku, terima kasih telah menjadi inspirasi dan penambah semangat bagi bapak selama menempuh pendidikan, semoga kelak ananda berdua mampu melebihi apa yang telah bapak capai selama ini.

Masih begitu banyak pihak yang sangat berjasa bagi saya, khususnya dalam menempuh pendidikan ini, bila saya tidak menuliskannya dalam kesempatan ini, percayalah nama- nama itu akan tertulis selamanya dalam hati sanubari saya, beserta doa semoga Allah Sang Maha Pengasih dan Penyayang akan membalas semua kebaikan yang telah dilakukan pada saya.

Karya saya begitu jauh dari kesempurnaan, karena itu saya mohon maaf atas segala kekurangan yang terdapat pada tesis ini baik dari segi kata-kata maupun kekurangan lainnya. Satu harapan saya adalah tesis ini dapat bermanfaat bagi yang membacanya.

Jakarta, 15 Juni 2012

Penulis  
**Universitas Indonesia**

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

---

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

Nama : Handoko Tirta  
NPM : 0906576063  
Program Studi : Ilmu Kedokteran Gigi Dasar  
Departemen : Biologi Oral  
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 :

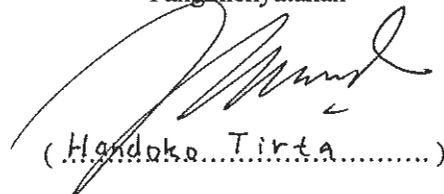
**Kapasitas ekstrak Etanol Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb*) sebagai anti *Streptococcus mutans* dalam menghambat demineralisasi email (*in vitro*)**

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalih media/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta. Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Jakarta

Pada tanggal : 15 Juni 2012

Yang menyatakan



(Handoko Tirta.....)

Universitas Indonesia

## ABSTRAK

Nama : Handoko Tirta  
Program studi : : Ilmu Kedokteran Gigi Dasar  
Peminatan Biologi Oral Kedokteran Gigi  
Judul : Kapasitas ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb*) sebagai anti *Streptococcus mutans* dalam menghambat demineralisasi email ( in vitro)

*Xanthorrhizol* yang di isolasi dari Temulawak dapat mempertahankan pH model biofilm in vitro selama 4 jam. Diketahui KBM ekstrak Temulawak terhadap *S. mutans* 25% **Tujuan** : Menganalisis efek ekstrak Temulawak 25% terhadap demineralisasi email yang terpapar biofilm *S.mutans* **Metode** : Model biofilm diperoleh dengan mengkultur *S.mutans* yang sudah ditanam dalam TYS broth selama 24 jam pada 6 well -plate yang telah dilapisi pelikel. Ekstrak Temulawak dipaparkan pada model biofilm pada berbagai durasi antara 1-48 jam. Pengukuran pH menggunakan pH universal indicator. Model biofilm juga ditumbuhkan pada permukaan sample gigi. Pemaparan Ekstrak Temulawak dilakukan pada jam ke 16-20. Uji kekerasan mikro menggunakan indenter Knoop sebelum dan sesudah perlakuan. **Hasil** : Sampai dengan jam ke 4, pH model biofilm yang terpapar Ekstrak Temulawak 25% tidak mengalami penurunan pH. Tidak terlihat efek Ekstrak Temulawak terhadap kekerasan permukaan email. **Kesimpulan** : Ekstrak Temulawak 25% mampu menghambat penurunan pH biofilm, tetapi tidak berpengaruh terhadap demineralisasi email.

Kata kunci:

*Streptococcus mutans*, ekstrak temulawak 25%, kekerasan permukaan email

## ABSTRACT

Name : Handoko Tirta  
Study Program : Specificity of Oral Biology in Basic Dental Medical Science  
Title : The capacity of Java turmeric Extract as Anti *S. mutans* in inhibiting enamel demineralization ( in vitro)

*Xanthorrhizol* isolated from Java turmeric is able to maintain the pH of biofilm model in vitro for 4 hours. It was known that MBC of Java turmeric extract was 25%. **Purpose:** To analyse the effect of 25% Java turmeric extract on enamel demineralization exposed to *S. mutans* biofilm. **Methods:** Biofilm model was obtained by culturizing *S. mutans* which was cultured on TYS Broth during 24 hours on 6 well- plates which was layered by pellicle. Java turmeric Extract was added to biofilm model at various duration between 1-48 hours. pH measurement using pH universal indicator. Biofilm model was also cultured at tooth sample surface. Java turmeric extract was added at 16-20 hours. Micro hardness test was conducted using Knoop indenter before and after the intervention. **Result :** After 4 hours, the pH of biofilm model which was exposed to Java turmeric 25% was not decreasing. No difference was found on the enamel micro hardness between experiment and control groups. **Conclusion :** Java turmeric 25% is able to prevent reduction of biofilm pH, but does not have effect on enamel demineralization.

Keywords: *Streptococcus mutans*, java turmeric extract, enamel surface hardness

## DAFTAR ISI

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TINGKAT AKHIR.....	iv
ABSTRAK.....	v
ABSTRACT.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR LAMPIRAN .....	xi
DAFTAR SINGKATAN.....	xii
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang.....	1
1.1.1. Temulawak sebagai agen alternatif pencegah karies.....	2
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Pertanyaan Penelitian.....	4
1.3.1. Umum.....	4
1.3.2. Khusus.....	4
1.4. Tujuan Penelitian.....	4
1.4.1. Tujuan Umum.....	4
1.4.2. Tujuan Khusus.....	4
1.5. Manfaat Penelitian.....	4
1.5.1. Bagi keilmuan.....	4
1.5.2. Bagi peneliti.....	5
1.5.3. Bagi masyarakat.....	5
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>6</b>
2.1. Karies.....	6
2.1.1. Proses Demineralisasi email.....	6
2.1.2. Proses Remineralisasi email.....	7
2.2. Email.....	8
2.2.1. Kristal Hidroksi Apatit.....	9
2.2.2. Sifat Fisik Email.....	9
2.2.3. Struktur Mikroskopik Email.....	10
2.2.4. Pentingnya Struktur Email Secara Mikro.....	10
2.2.5. Kekerasan Mikro Permukaan Email.....	11
2.2.6. Uji kekerasan mikro permukaan email.....	12
2.2.7. Efek pH terhadap kelarutan apatit dari email.....	14
2.3. Pembentukan biofilm rongga mulut.....	14
2.3.1. Aktifitas <i>Streptococcus mutans</i> pada karies.....	16
2.4. Temulawak.....	17
2.4.1. Temulawak dan aktifitas anti bakteri rongga mulut.....	19
2.4.2. Ekstrak Temulawak.....	21
2.5. Kerangka Teori.....	22

<b>BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS.....</b>	<b>23</b>
3.1. Kerangka Konsep.....	23
3.2. Hipotesis.....	23
3.2.1. Hipotesis Mayor.....	23
3.2.2. Hipotesis Minor.....	23
<b>BAB IV METODE PENELITIAN.....</b>	<b>25</b>
4.1. Jenis Penelitian.....	25
4.2. Desain Penelitian.....	25
4.3. Waktu Penelitian.....	25
4.4. Tempat Penelitian.....	25
4.5. Tahap Penelitian.....	25
4.5.1. Penelitian Pendahuluan.....	25
4.5.2. Eksperimen efek temulawak sebagai anti <i>S. mutans</i> dalam menghambat demineralisasi email.....	26
4.6. Definisi Operasional.....	26
4.6.1. <i>Streptococcus mutans</i> .....	26
4.6.2. Temulawak ( <i>Curcuma xanthorrhiza Roxb</i> ).....	26
4.6.3. Spesimen Email.....	27
4.6.4. Saliva.....	27
4.6.5. Model biofilm.....	27
4.6.6. Pengukuran pH model biofilm.....	28
4.6.7. Uji efek ekstrak temulawak dalam penurunan pH model biofilm <i>S. mutans</i> .....	28
4.6.8. Uji kekerasan mikro permukaan email.....	28
4.7. Cara Kerja.....	29
4.7.1. Konfirmasi <i>Streptococcus mutans</i> .....	29
4.7.1.1. Kuantifikasi DNA.....	29
4.7.1.2. Amplifikasi DNA.....	29
4.7.1.3. Elektroforesis dan Transiluminasi.....	30
4.7.2. Menentukan <i>Optical Density</i> (OD).....	30
4.7.3. Pembuatan model biofilm <i>Streptococcus mutans</i> .....	31
4.7.4. Pengukuran pH biofilm <i>Streptococcus mutans</i> .....	31
4.7.5. Uji pengaruh ekstrak temulawak terhadap kekerasan mikro permukaan email yang terpapar biofilm <i>S. mutans</i> .....	33
4.8. Alur kerja.....	35
4.9. Manajemen Data.....	35
4.10. Masalah Etik.....	36
<b>BAB V HASIL PENELITIAN.....</b>	<b>37</b>
5.1. Konfirmasi strain <i>Streptococcus mutans</i> .....	37
5.2. Hasil pengukuran OD suspensi <i>S. Mutans</i> .....	38
5.3. Hasil pengukuran pH pada jam 1- 48.....	39

5.4. Hasil uji daya hambat ekstrak Temulawak terhadap penurunan pH biofilm <i>S.mutans</i> .....	39
5.5. Hasil uji daya hambat ekstrak Temulawak terhadap perubahan kekerasan mikro permukaan email.....	40
<b>BAB VI PEMBAHASAN</b> .....	43
<b>BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	47
7.1. Kesimpulan.....	47
7.2. Saran.....	47
<b>Daftar Pustaka</b> .....	48
Lampiran.....	53



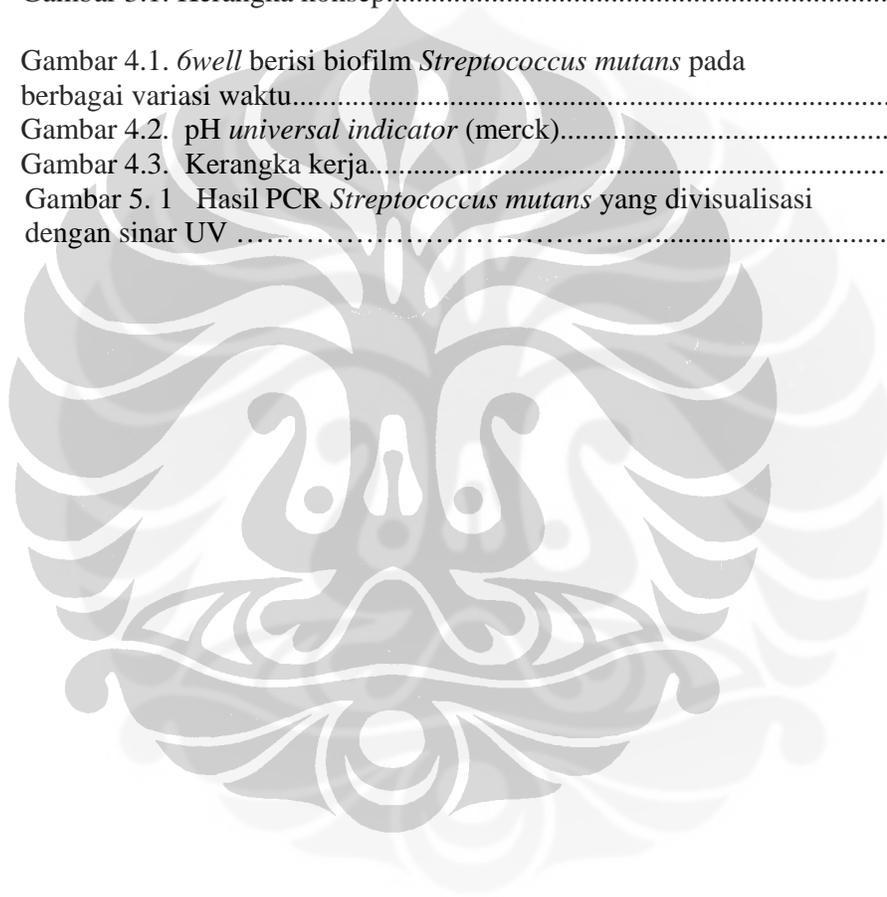
## DAFTAR TABEL

Tabel 4. 1 Hasil pembacaan Microplate Reader terhadap kultur <i>Streptococcus mutans</i> konsentrasi $10^{-1} - 10^{-7}$ .....	38
Tabel 5.2. Mean dan Standar Deviasi hasil jejas.....	42



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Proses Demineralisasi dan Remineralisasi (Hume) .....	7
Gambar. 2.2 Bentuk indentasi pada uji kekerasan Knoop .....	13
Gambar . 2.3 Proses pembentukan biofilm .....	16
Gambar .2.4 Rimpang Temulawak.....	18
Gambar 2.5 Daun dan bunga Temulawak.....	19
Gambar 2.6. Bagan kerangka teori.....	22
Gambar 3.1. Kerangka konsep.....	23
Gambar 4.1. <i>6well</i> berisi biofilm <i>Streptococcus mutans</i> pada berbagai variasi waktu.....	32
Gambar 4.2. pH <i>universal indicator</i> (merck).....	32
Gambar 4.3. Kerangka kerja.....	35
Gambar 5. 1 Hasil PCR <i>Streptococcus mutans</i> yang divisualisasi dengan sinar UV .....	39



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil uji statistik.....	53
Lampiran 2. Tabel .....	54
Lampiran 3. Surat Lolos Etik.....	56
Lampiran 4. Hasil Uji Fitokimia BALLITRO Ekstrak Temulawak .....	57
Lampiran 5. Hasil Uji Fitokimia BPOM RI Ekstrak Temulawak Sentrifugasi.....	58
Lampiran 6. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Temulawak non Sentrifugasi .....	59
Lampiran 7. Foto-foto Penelitian .....	60



## DAFTAR SINGKATAN



BALITTRO	: Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik
DMSO	: <i>Dimetil sulfoxide</i>
OD	: <i>Optical Density</i>
mg	: Miligram
ml	: Mililiter
nm	: Nanometer
µl	: Mikrolit
MTT	: <i>Methylthiazol tetrazolium</i>
PBS	: <i>Phosphate Buffer Saline</i>
KHM	: Kadar Hambat Minimum
KBM	: Kadar Bunuh Minimum
MIC	: <i>Minimum Inhibitory Concentration</i>
MBC	: <i>Minimum Bactericid Concentration</i>
TYS	: <i>Trypticase Yeast Sucrose</i>
rpm	: <i>Rotate per minute</i>
KHN	: <i>Knoop Hardness Number</i>
VHN	: <i>Vickers Hardness Number</i>

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1.Latar belakang

Karies gigi sampai saat ini masih merupakan permasalahan kesehatan gigi dan mulut di Indonesia. Berdasarkan Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) RI tahun 2007 prevalensi karies aktif pada usia 12 tahun keatas sebesar 46,5%.<sup>1,2</sup> Karies gigi adalah penyakit multifaktorial.<sup>3-9</sup> Faktor-faktor utama yang mempengaruhi terjadinya karies adalah virulensi mikroorganisme, ketersediaan karbohidrat, ketahanan jaringan gigi terhadap asam, dan waktu.<sup>3,4</sup> F.Nishikawara dkk menyatakan bahwa karies merupakan penyakit infeksi hasil interaksi bakteri kariogenik, hospes, dan makanan tinggi karbohidrat.<sup>5</sup> Proses terjadinya karies dimulai dengan akumulasi karbohidrat pada permukaan jaringan keras, yang kemudian dalam proses metabolisme mikroorganisme akan diurai sehingga menghasilkan asam.<sup>3,7,9</sup>

Karies merupakan suatu penyakit jaringan keras gigi.<sup>3</sup> Jaringan keras gigi khususnya email 96% tersusun oleh komponen anorganik yang tersusun membentuk kristal hidroksiapatit yang memiliki rumus kimia  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ .<sup>3,10,11</sup> Pada lingkungan netral, hidroksiapatit berada dalam keadaan seimbang dengan saliva yang mengandung banyak ion  $\text{Ca}^{2+}$  dan  $\text{PO}_4^{3-}$ . Penurunan pH hingga mencapai 5,5 yang dikenal sebagai titik kritis, akan menyebabkan ion asam ( $\text{H}^+$ ) bereaksi dengan grup fosfat( $\text{PO}_4^{3-}$ ) dari hidroksiapatit menjadi  $\text{HPO}_4^{2-}$  yang akan berakibat terlepasnya unsur fosfat dari kristal hidroksi apatit. Terlepasnya unsur fosfat dari kristal hidroksi apatit juga mengakibatkan terlepasnya ion Ca menjadi  $\text{Ca}^{2+}$ . Proses ini disebut demineralisasi.<sup>6,12</sup>

Mikroorganisme yang paling berperan pada proses terjadinya karies adalah *Streptococcus mutans*.<sup>4-13</sup> Mikroorganisme ini adalah yang terbanyak ditemukan pada gigi yang terkena karies. *Streptococcus mutans* merupakan bakteri yang memiliki kemampuan untuk melekat dan berkolonisasi pada jaringan mulut. Kemampuan melekat dan berkolonisasi ini disebabkan *Streptococcus mutans*

mempunyai berbagai polimer permukaan sel sebagai bahan antigen.<sup>9</sup> Antigen tersebut berupa protein adhesin yang memiliki reseptor yang terkandung dalam saliva. Biofilm rongga mulut terbentuk sebagai hasil interaksi antara bakteri dengan saliva yang terjadi pada permukaan gigi dan bahan restorasi sehingga mengakibatkan terjadinya proses kolonisasi bakteri.<sup>9</sup>

### 1.1.1. Temulawak sebagai agen anti bakteri

Pengendalian bakteri penyebab, dalam hal ini *S. mutans* dapat mencegah terjadinya karies.<sup>13</sup> Dalam upaya mengendalikan *S. mutans* telah banyak dilakukan penelitian, diantaranya adalah penggunaan tanaman obat. Salah satu tanaman obat yang telah cukup banyak diteliti efek anti bakterinya adalah temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb*), baik dalam bentuk ekstrak temulawak maupun isolat dari minyak atsiri yang terkandung dalam temulawak. Temulawak merupakan tanaman asli Indonesia.<sup>14-24</sup> Berbagai kelebihan temulawak diantaranya adalah mudah diperoleh, telah dikenal masyarakat dan harganya terjangkau. Selain sebagai bumbu dapur, temulawak lazim digunakan sebagai pewarna, bahan baku industri, maupun dibuat makanan atau minuman segar. Temulawak juga telah dikenal memiliki efek analgesik, anthelmintik, antibakteri, anti jamur, anti diabetik, anti diare, anti inflamasi<sup>17</sup>, anti hepatotoksik, antioksidan, anti tumor dan lain-lain.<sup>25</sup> Disebabkan oleh khasiatnya yang begitu banyak, maka Departemen Kesehatan RI pada 2004 dan 2008 memasukkan temulawak sebagai salah satu tanaman obat unggulan Indonesia.<sup>26</sup>

Bagian tanaman temulawak yang lazim dimanfaatkan sebagai obat adalah rimpang.<sup>27,28</sup> Rimpang temulawak mengandung komponen utama berupa pati(48-54%), kurkuminoid (0,02-2%) dan minyak atsiri (3-12 %).<sup>14</sup> Sidik dkk melaporkan bahwa pati temulawak terdiri dari abu, protein, lemak, karbohidrat, serat kasar, kurkuminoid, kalium, natrium, kalsium, magnesium, besi, mangan dan kadmium.<sup>29</sup> Minyak atsiri dan kurkuminoid merupakan zat berkhasiat pada temulawak.<sup>27-29</sup>

*Xanthorrhizol* (C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>O) merupakan salah satu komponen minyak atsiri temulawak yang tidak ditemukan pada *Curcuma* yang lain.<sup>30</sup> J. K. Hwang dkk (2000) melaporkan bahwa hanya dibutuhkan *xanthorrhizol* sebanyak 2 µg/mL,

selama 1 menit untuk mengeliminasi *S. mutans in vitro*.<sup>19,20</sup> Y. Rukayadi dan J. K. Hwang (2006) meneliti aktifitas anti bakteri *xanthorrhizol* terhadap *S. mutans* pada biofilm (in vitro), dan mendapatkan kesimpulan bahwa aktifitas anti bakteri *xanthorrhizol* bergantung pada konsentrasi, waktu paparan, serta fase pertumbuhan dari biofilm.<sup>21</sup>

Jung Eun Kim dkk( 2008) menggunakan *xanthorrhizol* untuk meneliti aktifitas anti bakteri pada biofilm *S. mutans*, daya inhibisinya terhadap daya asidogenik *S. mutans*, serta efeknya terhadap perubahan morfologi *S. mutans*. Hasil penelitian ini menunjukkan ekstrak temulawak 0,1 mg/ml setara dengan 2 mg/ml Chlorhexidin dalam aktifitas anti *S. mutans*. Kemampuan *xanthorrhizol* dalam menghambat asidogenik pada *S. mutans* ditunjukkan dengan kemampuan mempertahankan pH pada kisaran 7.0 selama 4 jam pada permukaan biofilm.<sup>22</sup>

Penelitian yang dilakukan Rizky Primeir M (2011) di laboratorium Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia dengan menggunakan ekstrak temulawak pada koloni *S. mutans*, menunjukkan bahwa Kadar Hambat Minimum (KHM) ekstrak temulawak adalah pada konsentrasi 0,5%, sedangkan Kadar Bunuh Minimum (KBM) 25%.<sup>23</sup> Rini Rahmawati( 2011) dengan uji viabilitas menggunakan MTT pada biofilm *S. mutans* melaporkan bahwa viabilitas *S. mutans* menurun seiring peningkatan konsentrasi ekstrak temulawak yang dipaparkan, tetapi sampai dengan konsentrasi ekstrak temulawak 25% viabilitas *S. mutans* masih di atas 0 %.<sup>24</sup> Mengingat kemampuan ekstrak temulawak dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme khususnya *S. mutans*, maka penggunaan ekstrak temulawak sebagai bahan alternatif pencegah karies layak dikembangkan.

## 1.2. Rumusan Masalah

Dari penelitian terdahulu di FKG UI telah diketahui KBM ekstrak etanol temulawak terhadap *S. mutans* adalah 25%. Mengingat pH kritis yang dapat menyebabkan demineralisasi email adalah 4,5-5,5, serta mengingat *xanthorrhizol* sebagai isolat ekstrak temulawak telah dilaporkan memiliki kemampuan mempertahankan pH permukaan biofilm *S. mutans in vitro* pada kisaran 7, maka perlu diteliti apakah temulawak dalam bentuk ekstrak juga mampu menghambat

proses demineralisasi email akibat penurunan pH oleh biofilm. Karenanya dalam penelitian ini akan dianalisis bagaimana kemampuan ekstrak etanol temulawak 25% dalam menghambat penurunan pH biofilm *S. mutans in vitro* dan efeknya pada kekerasan permukaan email.

### **1.3. Pertanyaan Penelitian**

#### **1.3.1. Umum:**

Apakah aplikasi ekstrak temulawak dengan kadar efektif sebagai anti *S. mutans in vitro* mampu menghambat penurunan pH email akibat biofilm *S. mutans* dan bagaimana pengaruhnya terhadap kekerasan mikro permukaan email secara *in vitro*?

#### **1.3.2. Khusus:**

1.3.2.1. Apakah aplikasi ekstrak temulawak dengan kadar efektif sebagai anti *S. mutans* mampu mempengaruhi pH biofilm *S. mutans in vitro*?

1.3.2.2. Apakah aplikasi ekstrak temulawak dengan kadar efektif sebagai anti *S. mutans* mempengaruhi kekerasan mikro permukaan email yang terpapar oleh biofilm *S. mutans in vitro*?

### **1.4. Tujuan Penelitian**

#### **1.4.1. Tujuan Umum:**

Menganalisis efek ekstrak temulawak dalam menghambat proses demineralisasi email yang terpapar biofilm *S. mutans*.

#### **1.4.2. Tujuan Khusus:**

Menganalisis efek ekstrak temulawak terhadap pH dan kekerasan mikro permukaan email yang terpapar biofilm *S. mutans*.

### **1.5. Manfaat Penelitian**

1.5.1. Bagi keilmuan:

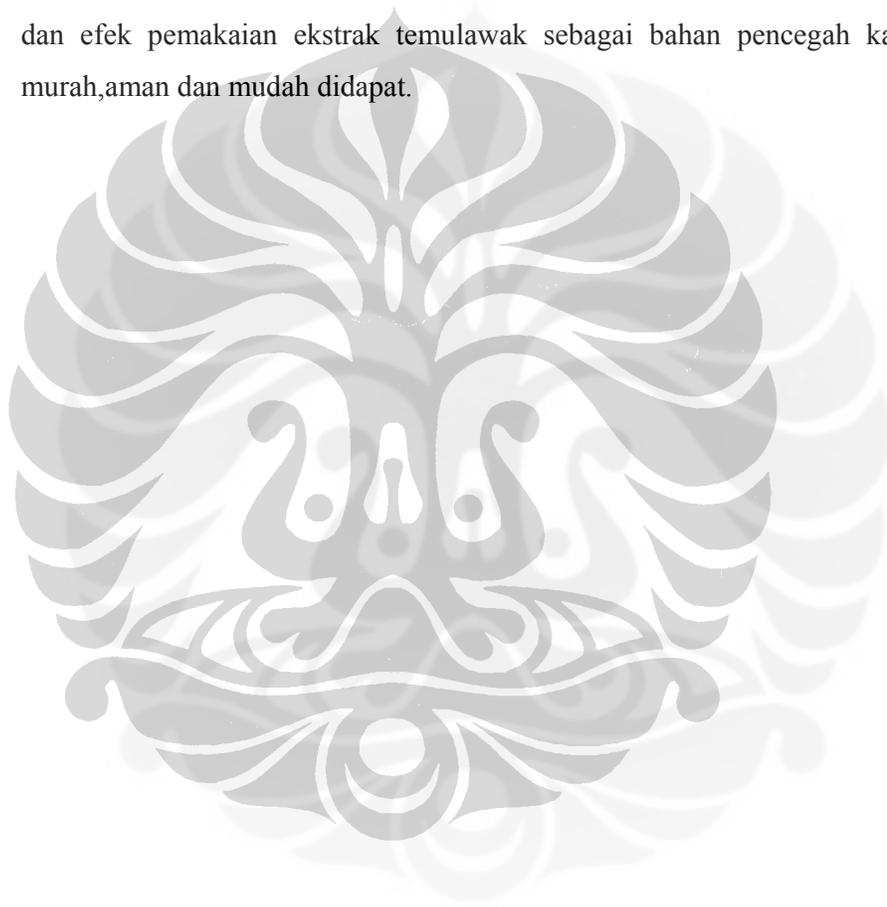
Sebagai tambahan pengetahuan tentang efek penggunaan ekstrak temulawak terhadap pH biofilm *S. mutans* serta pengaruhnya pada proses demineralisasi permukaan email.

1.5.2. Bagi peneliti:

Sebagai data bagi penelitian berkenaan dengan efek penggunaan ekstrak temulawak pada proses demineralisasi email yang disebabkan biofilm *S. mutans*.

1.5.3. Bagi masyarakat:

Mendapatkan tambahan pengetahuan tentang bahan alternatif pencegah karies, dan efek pemakaian ekstrak temulawak sebagai bahan pencegah karies yang murah, aman dan mudah didapat.



## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Karies

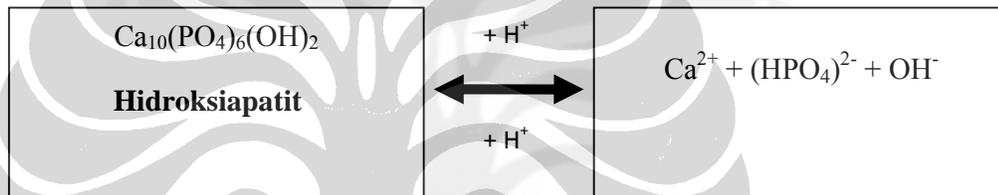
Karies gigi adalah penyakit multifaktorial. Proses terjadinya karies gigi melibatkan sejumlah faktor yang saling berinteraksi satu sama lain yaitu gigi dan saliva (host), mikroorganisme, substrat dan waktu.<sup>4</sup> Karies terjadi bukan disebabkan karena satu kejadian saja seperti penyakit lainnya tetapi disebabkan serangkaian proses yang terjadi selama beberapa kurun waktu. Pada tahun 1960-an oleh Keyes dan Jordan (sitasi Sondang Pintauli, & Hamada, Taizo, 2008), karies dinyatakan sebagai penyakit multifaktorial yaitu adanya beberapa faktor yang menjadi penyebab terbentuknya karies.<sup>31</sup> Teori Keyes dan Jordan mengatakan ada tiga faktor utama yang memegang peranan yaitu faktor host atau tuan rumah, agen atau mikroorganisme, substrat atau diet dan ditambah faktor waktu, yang digambarkan sebagai tiga lingkaran yang tumpang-tindih.<sup>31</sup> Untuk terjadinya karies, maka kondisi setiap faktor tersebut harus saling mendukung antara tuan rumah yaitu gigi, mikroorganisme yang kariogenik, substrat yang sesuai dan waktu yang lama.<sup>9,12,31</sup>

Teori baru tentang terjadinya karies dikemukakan oleh Fejerskov O dan Thylstrup menggambarkan bahwa karies merupakan penyakit yang disebabkan oleh multifaktor baik langsung maupun tidak langsung.<sup>7</sup> Faktor penyebab tidak langsung yang berhubungan dengan terjadinya karies adalah pendidikan, pengetahuan, keadaan sosial ekonomi, sikap dan perilaku menjaga kebersihan mulut. Faktor penyebab langsung antara lain komposisi dan aliran saliva, fluor, komposisi dan frekuensi diet, mikroorganisme, dan waktu.<sup>7,32</sup> Secara sederhana dapat dikatakan proses terjadinya karies merupakan akibat dari ketidakseimbangan proses demineralisasi dan remineralisasi.<sup>6,12</sup>

##### 2.1.1. Proses Demineralisasi email

Kandungan mineral dari email adalah kristal hidroksiapatit,  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ .<sup>3,10</sup> Pada lingkungan netral, kondisi kristal tersebut seimbang

dengan lingkungan *aqueous* lokal (saliva) yang tersaturasi dengan  $\text{Ca}^{2+}$  dan  $\text{PO}_4^{3-}$ . Hidroksiapatit reaktif terhadap ion hidrogen pada pH dibawah 5,5, yang dikenal sebagai pH kritis untuk hidroksiapatit.<sup>12</sup> Apabila terdapat ion flouride pada lingkungan, pH kritis untuk kristal hidroksiapatit turun menjadi 4,5.  $\text{H}^+$  bereaksi dengan fosfat pada lingkungan cairan tepat di sebelah permukaan kristal. Proses ini dapat di deskripsikan sebagai konversi  $\text{PO}_4^{3-}$ , menjadi  $\text{HPO}_4^{2-}$  melalui edisi  $\text{H}^+$  dan pada saat yang bersamaan  $\text{H}^+$  di-*buffer*. Dengan demikian  $\text{HPO}_4^{2-}$  tidak bisa berkontribusi lagi menjaga keseimbangan normal hidroksiapatit karena hidroksiapatit mengandung  $\text{PO}_4^{3-}$ , bukan  $\text{HPO}_4^{3-}$  sehingga kristal mengalami disolusi. Proses inilah yang dinamakan demineralisasi.<sup>12,32</sup> Skema proses demineralisasi dan remineralisasi dapat dilihat pada gambar 2.1.



Gambar 2.1. Proses Demineralisasi dan Remineralisasi (Hume).<sup>6</sup>

### 2.1.2. Proses Remineralisasi email

Remineralisasi merupakan proses kembalinya ion-ion penyusun kristal apatit email setelah demineralisasi.<sup>12</sup> Proses demineralisasi dapat dikembalikan apabila pH dinetralkan dan terdapat ion-ion  $\text{Ca}^{2+}$  dan  $\text{PO}_4^{3-}$  yang cukup untuk teremineralisasi. Hal ini dapat terjadi apabila pH netral melalui proses *buffer*. Proses ini memungkinkan pembangunan kembali kristal apatit yang sudah terdisolusi sebagian. Kondisi optimum untuk terjadinya remineralisasi sama dengan pencegahan timbulnya karies, yaitu kontrol plak untuk mengurangi bakteri kariogenik, kontrol konsumsi gula untuk meminimalisasi terjadinya *acidogenic*, dan penggunaan topikal fluoride untuk mencegah demineralisasi dan mencetus timbulnya remineralisasi.<sup>12</sup>

Ada dua bentuk remineralisasi berdasarkan asal mineral yang diendapkannya. Yang pertama adalah remineralisasi dengan mineral asalnya,

yaitu hidroksiapatit. Proses ini dapat terjadi apabila terdapat saliva jenuh dengan ion kalsium dan fosfat. Bentuk remineralisasi adalah remineralisasi yang terjadi dengan senyawa yang berbeda dengan mineral asal.<sup>12</sup>

Remineralisasi berdampak pada pengerasan kembali email yang telah mengalami demineralisasi. Pengerasan ini terjadi karena adanya deposit ion-ion mineral yang diletakkan di sekitar prisma email yang telah rusak oleh proses demineralisasi. Hadirnya ion-ion kalsium dan fosfat yang berasal dari larutan remineralisasi akan mengendap ke dalam celah email. Proses pengendapan ini terjadi berulang-ulang dan menyebabkan pengerasan kembali email.<sup>12</sup>

## 2. 2. Email

Email merupakan jaringan yang mengalami proses mineralisasi yang sangat tinggi, sehingga merupakan jaringan yang paling keras dari seluruh jaringan tubuh manusia.<sup>10,11</sup> Dengan sifat kekerasannya tersebut, email melindungi gigi sehingga tahan terhadap tekanan pengunyahan. Selain itu, email memberikan bentuk dan kontur untuk mahkota gigi dan menutupi bagian gigi pada rongga mulut.<sup>10</sup>

Secara kimiawi, email tersusun dari 96% mineral atau zat anorganik, serta 4% zat organik dan air. Unsur pembentuk substansi anorganik utama dari email adalah kalsium ( $\text{Ca}^{2+}$ ), fosfat ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), hidroksi ( $\text{OH}^-$ ) dan karbonat ( $\text{CO}_3^{2-}$ ).<sup>3,10,11</sup>

Unsur-Unsur tersebut membentuk berbagai senyawa kalsium fosfat, dan senyawa yang terutama adalah apatit  $\text{Ca}^{10}(\text{PO}_4)_6(\text{X})_2$ . Unsur X dapat terdiri dari hidroksi ( $\text{OH}^-$ ), fluor ( $\text{F}^-$ ), karbonat ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) atau magnesium ( $\text{Mg}^{2+}$ ). Pada email jenis apatit yang paling banyak ditemukan adalah hidroksi apatit dengan rumus kimia  $\text{Ca}^{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ . Hidroksi Apatit juga ditemukan pada dentin. Pada tulang hidroksi apatit lebih banyak ditemukan dalam bentuk senyawa karbonat apatit. Hidroksi apatit terdiri dari (w/w) 37% kalsium, 52% fosfat, dan 3% hidroksi. Kristal apatit merupakan 83% berat zat anorganik dari email.<sup>3</sup>

Kandungan zat organik email terdiri atas protein (58%), beberapa ikatan lipida (42%) dan karotin. Lapisan tipis zat organik yang menyelubungi

kristal hidroksi apatit disebut *Enamelins*. *Enamelins* akan mengisi ruang antara kristal-kristal hidroksi apatit, sehingga membantu semipermeabilitas dari email.<sup>10</sup> Matriks organik membentuk jaringan yang berkesinambungan untuk kekuatan kristal jaringan email dengan mengurangi kecenderungan dari kristal untuk patah atau terpisah.<sup>10</sup>

### 2.2.1. Kristal Hidroksi Apatit

Hidroksi apatit dengan rumus kimia  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  merupakan kristal yang menyusun prisma email, memiliki panjang 120-160 nm, dan lebar sisi tersempit 25 nm dan yang terlebar 40 nm. Apatit merupakan kristal heksagonal yang tersusun dari unit sel yang merupakan gabungan 3 tetragonal dengan sudut =  $120^\circ$ .<sup>3</sup> Setiap kristal HA tersusun oleh unit sel apatit dalam suatu *lattice arrangement* dimana kedudukan P dan Ca berseling, serta kedudukan O dan H juga berseling berlawanan. Dalam setiap unit sel, ion Ca menempati sudut heksagonal, membentuk suatu kolom kalsium. Pada rentang antara kalsium tersebut terdapat kedudukan dua ion  $\text{PO}_4$  pada sisi heksagonal. Selain pada sudut heksagonal, ion Ca juga terdapat pada kanal sentral sel, membentuk susunan dua lapis segitiga (triangular kalsium).<sup>10</sup> Molekul fosfat memiliki ukuran lebih besar dibandingkan kalsium atau hidroksil, sehingga molekul ini tampak dominan dalam suatu susunan molekul pembentuk apatit.

### 2.2.2. Sifat Fisik Email

Email memiliki warna putih keabu-abuan tetapi tampak sedikit kuning karena bersifat translusen. Dentin yang terletak di bawah email berwarna kekuningan memberikan warna kuning pada email.<sup>10</sup> Ketebalan email bervariasi dari 0.5 mm pada daerah servikal sampai ketebalan maksimum 2.5 mm pada puncak tonjil gigi.<sup>33</sup>

Meskipun email merupakan benda padat, tetapi dapat dilalui oleh beberapa cairan, bakteri, dan produk bakteri pada rongga mulut karena bersifat *permeable*.<sup>33,34</sup> Adanya retak, celah, dan jarak mikroskopis diantara rods dan

kristal ini menyebabkan penetrasi.<sup>33</sup>

Email memiliki kekuatan tarik sekitar  $100 \text{ kg/cm}^2$  dan tahanan kompresinya mencapai  $2100\text{-}3500 \text{ kg/cm}^2$ . Sehingga email yang merupakan jaringan terkeras tubuh memiliki sifat getas (*brittle*) karena elastisitasnya rendah.<sup>33</sup>

Email mempunyai sifat dielektrik (insulator) yaitu tidak menghantarkan, tetapi mentransmisikan listrik. Sehingga email tidak memiliki sifat piezzo elektrik maupun pyro elektrik, karena kristal hidroksi apatit pada email tidak seperti sifat zat kristal lainnya.<sup>33</sup>

### 2.2.3. Struktur Mikroskopik Email

Secara mikroskopik, struktur dasar email terdiri dari prisma email/ *enamel rod*/batang email.<sup>33</sup> Prisma ini tersusun memanjang dari *dentino enamel junction* (DEJ) ke arah permukaan gigi. Secara umum arah prisma email, membentuk sudut  $80 - 100^\circ$  dengan DEJ. Arah dari prisma ini merupakan suatu garis yang berbentuk spiral/melengkung seperti huruf "S". Pada potongan melintang terhadap permukaan email, sebuah *rod* tampak berbentuk lubang kunci atau raket yang memiliki kepala dan ekor.<sup>10,11,33</sup>

Pada sediaan jaringan email melintang, terlihat bahwa prisma email tersusun dalam suatu pola *arcade*. Pada pola ini, bagian kepala terletak lebih ke arah oklusi dari bagian ekornya. Kristal hidroksi apatit (HA) pembentuk prisma email tampak tersusun dengan arah yang berbeda-beda pada setiap bagian prisma. Pada bagian puncak dari kepala prisma, kristal HA tersusun dalam arah sejajar dengan arah prisma. Pada bagian ekor, kristal HA tersusun tegak lurus dengan arah prisma email. Arah kristal HA yang menyusun prisma ini mempengaruhi beberapa sifat email secara keseluruhan, misalnya kekuatan, daya tahan terhadap asam, dan lain-lain.<sup>33-36</sup>

### 2.2.4. Pentingnya Struktur Email Secara Mikro

Tingginya mineral yang terkandung dalam email membuat substansinya sangat keras. Pada tepi insisal dari gigi anterior dan pada *cusp tips* dari gigi posterior dimana gigi dari rahang yang berlawanan bertemu dengan tekanan

oklusi, dapat terjadi atrisi yang cukup untuk mengekspos *underlying dentin*.

Mikro anatomi dari email menentukan kekuatan dan kehidupan dari gigi. Lengkungan *enamel rods* meningkatkan resistensi email terhadap kerusakan. Daerah dengan mineral yang rendah mempengaruhi pola dan progres karies, sedangkan susunan *rods* memberikan arah penetrasi dari karies. Dengan mikroskop cahaya *bands of hunterschreger* terlihat sebagai zona terang gelap pada email, berasal dari kelompok *rods* yang keluar dari *dentinoenamel junction* dengan arah yang berlawanan. Satu kelompok *rods* dapat memanjang menuju permukaan secara *mesial drift* sedangkan kelompok *rods* yang berdekatan memanjang ke arah permukaan secara *distal drift*. Susunan berlawanan ini mengurangi resiko email membelah sepanjang *rod*.<sup>33</sup> Susunan dari *enamel rods* memiliki pengaruh yang besar terhadap pola karies pada email, dan konfigurasi dari *dentinoenamel junction* menentukan pola susunan *rods*.<sup>33</sup>

#### 2.2.5. Kekerasan Mikro Permukaan Email

Kekerasan didefinisikan sebagai tahanan permukaan terhadap indentasi atau penetrasi.<sup>37</sup> Kekerasan dapat juga diartikan sebagai sebuah ukuran terhadap deformasi plastis dan diukur sebagai tekanan per daerah indentasi.<sup>38</sup> Kekerasan sangat penting pada penelitian mengenai demineralisasi dan remineralisasi.<sup>39-41</sup>

Kekerasan rata-rata email adalah 270 - 350 KHN (atau 250 - 360 VHN).<sup>41</sup> Knoop (KHN) dan vickers (VHN) memperlihatkan nilai yang hampir sama. Berbagai penelitian melaporkan kekerasan email berkisar 344±49 - 418±60 VHN (Craig dan Peyton), 263±26 - 327±40 VHN (Love), 270-360 VHN (Gutierrez-Salazar and Reyes-Gasga).<sup>41</sup> Kekerasan email oklusal bervariasi dari 359 - 424 VHN, dan email servikal 227 - 342 VHN. Standar variasi (SD) digunakan untuk menunjukkan variasi yang luas dan signifikan dari email. Variasi ini bisa jadi disebabkan oleh berbagai faktor, seperti struktur *mikro*, komposisi kimia, preparasi spesimen, serta beban dan penafsiran yang kurang baik dalam mengukur *indentation length (IL)*.<sup>41,42</sup> Nilai VHN pada permukaan terluar lebih besar dibandingkan dengan daerah DEJ yang disebabkan oleh

pengerutan struktur prisma pada permukaan terluar.<sup>37,38</sup>

### 2.2.6. Uji Kekerasan Mikro Permukaan Email

Pada dasarnya, uji kekerasan menggunakan ujung indenter kecil yang diaplikasikan ke permukaan yang akan diukur dengan beban tertentu. Kemudian hasil indentasi diukur dengan mikroskop.<sup>41</sup> Semakin keras bahan tersebut, semakin kecil indentasi yang dihasilkan.<sup>40,41</sup>

Terdapat empat tipe indenter yang biasa digunakan untuk menguji kekerasan, yaitu Rockwell, Brinell, Knoop, dan Vickers.<sup>37,38,41</sup> Uji Rockwell dan Brinell bermanfaat untuk menguji kekerasan bahan logam. Hasil pengukuran Rockwell diperoleh dalam satuan *Rockwell Hardness Number (RHN)* sedangkan satuan untuk Brinell adalah *Brinell Hardness Number (BHN)*.

Uji Knoop dan Vickers sering digunakan dalam penelitian yang menggunakan gigi sebagai sampel. Metode Vickers menggunakan indenter dengan bentuk pyramid-diamond dengan sudut antara permukaan piramida adalah 136°. Indenter akan menghasilkan jejas yang berbentuk belah ketupat. Uji kekerasan vickers menggunakan beban yang kecil dan menghasilkan indentasi kecil dengan kedalaman kurang dari 19 µm, sehingga dapat digunakan mengukur kekerasan area yang kecil. Satuan yang dipakai oleh vickers adalah *Vickers Hardness Number (VHN)*.<sup>37-41</sup>

*Indenter* yang digunakan pada Knoop berbentuk *pyramid-diamond* dengan sudut 172°- 30' dan 130° yang memanjang kesamping (gambar 2.2). Sumbu panjang indentasi diukur dan dihasilkan *Knoop Hardness Number (KHN)*.<sup>37,38</sup> Rumus berikut digunakan untuk mengukur *Knoop Hardness Number (KHN)*<sup>37,38</sup>:

$$KHN = L / l^2 C_p$$

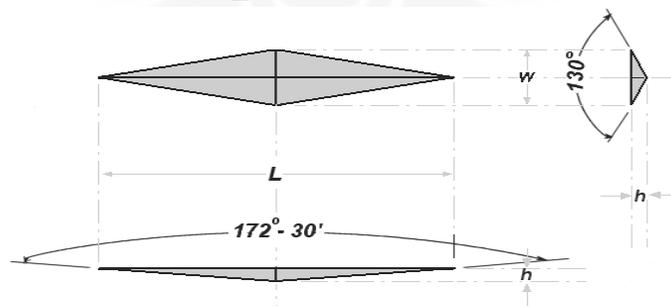
L = beban indentasi ( kgf )

l = panjang diagonal indentasi (mm)

C<sub>p</sub> = konstanta relative terhadap area indentasi

Kelebihan penggunaan indenter Knoop adalah dapat menguji material dengan rentang kekerasan yang tinggi, dengan mengaplikasikan berbagai variasi beban indentasi. Kelebihan penggunaan indenter Knoop lainnya adalah dapat digunakan untuk mengukur kekerasan mikro pada area yang sempit. Kekurangan penggunaan indenter Knoop adalah memerlukan pemolesan yang sangat halus, serta permukaan spesimen harus dalam keadaan datar dan tegak lurus terhadap indenter saat dilakukan penjejasan.<sup>38</sup> Penelitian ini menggunakan indenter Knoop karena spesimen yang digunakan adalah email gigi manusia dengan area penjejasan yang sempit, hingga dibutuhkan jejas yang kecil. Alasan lainnya adalah penelitian ini mengukur kekerasan permukaan email, sehingga digunakan indenter Knoop yang menghasilkan jejas yang lebih landai dibandingkan jejas yang dihasilkan indenter Vickers.

Dari penelitian Collys et al (sitasi Gutierrez-Salazar dan Reyes-Gasga,2003) , dilaporkan bahwa beban ideal yang diberikan untuk mengukur kekerasan gigi adalah 50 g.<sup>41</sup> Penelitian Gutierrez-Salazar dan Reyes Gasga, menyatakan beban indentasi terbaik adalah 25 g. Penggunaan beban 10 g akan mengalami kesulitan dalam interpretasi gambar sedangkan penggunaan beban diatas 50g dapat mengakibatkan fraktur permukaan.<sup>41</sup> Mc Colm (sitasi Gutierrez-Salazar dan ReyesGasga,2003) merekomendasikan lama indentasi adalah 15-30 detik untuk bahan keramik.<sup>41</sup> Menurut Gunawan, lama indentasi yang digunakan untuk mengukur kekerasan email gigi adalah 10 detik.<sup>3</sup>



Gambar. 2.2. Bentuk indentasi pada uji kekerasan Knoop

Sumber: <http://www.gordonengland.co.uk/xhardness/xmicrohardness.htm>

Universitas Indonesia

### 2.2.7. Efek pH terhadap kelarutan apatit dari email

Penurunan pH akan menyebabkan kelarutan apatit meningkat secara tajam, dimana setiap penurunan satu satuan pH dari 7 - 4 akan menyebabkan kenaikan kelarutan sebanyak 7 kali.<sup>3</sup> Kelarutan pada penurunan pH dapat dijelaskan dengan mekanisme berikut, pada awalnya terlihat konsentrasi hidroksil akan menurun bila terjadi kenaikan konsentrasi hidrogen (pH turun), protonisasi ini akan menarik gugus hidroksil dari apatit, sehingga terjadi pemecahan apatit. Semakin tinggi konsentrasi  $H^+$  (pH rendah) akan menyebabkan semakin banyak reaksi penarikan  $OH^-$ , akibatnya kerusakan email meningkat. Selanjutnya juga terlihat bahwa keberadaan molekul fosfat bergantung pada tingkat pH. Pada pH rendah gugus  $PO_4$  akan berubah menjadi  $HPO_2$ , yang kemudian akan menjadi  $H_2PO_4$ , perubahan kimiawi tersebut menyebabkan keluarnya fosfat dari unit sel apatit, dan akan menyebabkan terpecahnya apatit.<sup>43</sup>

### 2.3. Pembentukan biofilm rongga mulut

Istilah 'biofilm' digunakan untuk menerangkan komunitas mikroorganisme yang melekat pada suatu permukaan. Mikroba yang dimaksud biasanya terorganisasi dalam struktur tiga dimensi dan tertutup dalam matriks bahan ekstraseluler yang didapat baik dari sel mereka sendiri maupun dari lingkungan. Beberapa penelitian mengungkapkan bahwa sel-sel yang tumbuh menjadi biofilm memiliki sifat-sifat unik, dan beberapa diantaranya memiliki kepentingan klinis yang besar. Sifat-sifat tersebut antara lain: perlindungan dari petahanan inang dan predator, perlindungan dari agen antimikoba dengan cara memperburuk penetrasi dan inaktivasi atau netralisasi, dapat bertahan (persisten) dalam sistem yang mengalir, dan jumlah yang semakin meningkat seiring dengan meningkatnya nutrisi.<sup>44-46</sup>

Sebagai mikroorganisme, *S. Mutans* juga membentuk komunitasnya dengan membentuk ikatan koloni pada biofilm.<sup>44</sup> Berkembangnya biofilm biasanya seiring dengan bertambahnya infeksi klinis pada sel inang sehingga biofilm ini dapat menjadi salah satu faktor virulensi dan resistensi. Pembentukan biofilm dapat dipacu dengan keberadaan serum dan saliva dalam lingkungannya.<sup>44</sup>

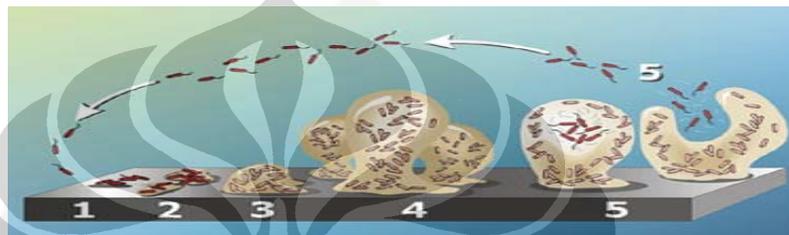
Universitas Indonesia

Secara lengkap pembentukan biofilm pada permukaan email dapat terjadi melalui beberapa tahap. Tahap pertama adalah perlekatan mikroorganisme terhadap protein pelikel, dikenal sebagai tahap adhesi. Perlekatan awal umumnya melibatkan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang melekat baik secara elektrostatis maupun melalui *pili type IV* atau fimbriae yang menghasilkan polimer ekstraseluler. Beberapa fimbriae bakteri seperti pada *P. gingivalis*, melekat melalui reaksi antara protein fimbriilin dengan PRP atau statherin dari pelikel. Selain fimbriilin juga ditemukan protein flagellum yang berfungsi pada proses perlekatan tersebut. Protein lain pada permukaan bakteri yang ikut dalam proses perlekatan ditemukan antara lain P1, 117-kd dan 127-kd protein dan glukosiltransferase yang terdapat pada *Streptococcus mutans*.<sup>44,45</sup>

Tahap kedua pembentukan biofilm adalah tahap ko-agregasi mikroorganisme yang sering disebut sebagai tahap akumulasi. Beberapa mikroorganisme yang telah melekat dapat menarik mikroorganisme lain, seperti *S. sanguis* yang akan menarik *Actinomyces naeslundii*. Pada tahap ini terjadi interaksi lektin dengan karbohidrat menyebabkan interaksi antara ragi yang terjadi dengan bakteri lain dan molekul adesin dari mikroorganisme dapat bereaksi dengan adesin reseptor dari mikroorganisme awal. Tahap ini merupakan tahap paling aktif pada biofilm. Bentuk akhir pada tahap ini adalah koloni awal mikroorganisme dengan struktur matriks longgar yang terutama tersusun dari polisakarida dan air.<sup>44,45</sup>

Tahap ketiga adalah kolonisasi mikroorganisme lanjutan, tahap ini juga dikenal sebagai tahap maturasi. Pada tahap ini terjadi pertumbuhan mikroorganisme apabila terdapat cukup molekul nutrisi yaitu sukrosa. Pada tahap ini aktifitas mulai berkurang, hal ini disebabkan koloni yang terbentuk telah banyak, sementara jumlah sukrosa terbatas. Pada tahap ini terjadi pembentukan asam laktat yang berasal dari monosakarida. Monosakarida dipecah oleh bakteri menggunakan enzim ekstraseluler yaitu glukosiltransferase dan fruktosiltransferase menjadi glukosa dan fruktosa. Apabila glukosa dalam keadaan berlebih, maka akan diubah menjadi glikogen melalui jalur glikogenolisis. Pada saat bakteri memerlukan energi, glukosa akan diubah menjadi asam laktat. Asam laktat dalam jumlah banyak akan menyebabkan terjadinya penurunan pH yang bila

mencapai titik krisis akan menyebabkan terjadinya demineralisasi email.<sup>44,45</sup> K. Hojo dkk melaporkan pada tahap maturasi resistensi bakteri terhadap antibakteri pada biofilm lebih kuat 100 hingga 1000 kali dibandingkan bakteri planktonik. Hal ini disebabkan adanya matriks ekstraseluler yang melapisi biofilm, disamping terbentuk enzim yang mampu mengaktifasi antibakteri.<sup>45</sup> Proses pembentukan biofilm tersebut dapat terjadi dalam waktu beberapa jam, dan mencapai puncak kematangan setelah hari ketujuh.<sup>46</sup> Proses pembentukan biofilm dapat dilihat pada gambar 2.3.



Gambar2.3 : Proses pembentukan biofilm  
 sumber:<http://www.parpool-spa.com/Page/Help/Spa/Bio-film-Spas.html>

### 2.3.1. Aktifitas *Streptococcus mutans* pada karies

*Streptococcus mutans* adalah bakteri gram positif, anaerobik fakultatif, biasanya terdapat didalam gigi dan bakteri ini sangat penting kontribusinya dalam merusak gigi. *S. mutans* diketahui sebagai agen utama penyebab karies gigi. Berdasarkan sifat antigenik pada dinding sel karbohidratnya, *S. mutans* terbagi dalam delapan serotip yang tersebar pada hewan dan manusia, kedelapan serotip tersebut adalah serotip a, b, c, d, e, f, g, dan k. *S. mutans* yang terdapat pada manusia adalah serotip c,e,f dan k.<sup>47,48</sup> *S. mutans* serotip c merupakan serotip *S. mutans* terbanyak dalam rongga mulut, yaitu sebanyak 70 %-80%.<sup>47,48</sup> Bakteri ini pertama kali diisolasi dari plak gigi oleh Clark pada tahun 1924 yang memiliki kecenderungan berbentuk bulat dengan formasi rantai panjang apabila ditanam pada medium *Brain Heart Infusion (BHI) Broth*. Sedangkan Michalek dan Mc Ghee mengatakan bila ditanam di media agar *Mitis Salivarius* memperlihatkan koloni halus dengan diameter 0,5-1,5 mm, cembung, berwarna biru tua, rantai pendek dengan bentuk sel tidak beraturan dan pada pinggiran koloni kasar serta berair dengan membentuk genangan disekitarnya.<sup>49</sup>

*Streptococcus mutans* diklasifikasikan sebagai berikut:

Universitas Indonesia

Kingdom : Bacteria  
 Phylum : Firmicutes  
 Kelas : Bacilli  
 Ordo : Lactobacillales  
 Famili : Streptococcaceae  
 Genus : *Streptococcus*  
 Species : *Streptococcus mutans*

*Streptococcus mutans* menghasilkan dua enzim, yaitu glikosiltransferase dan fruktosiltransferase. Enzim-enzim ini bersifat spesifik untuk substrat sukrosa yang digunakan untuk sintesa glukosa dan fruktan. Pada metabolisme karbohidrat, enzim glikosiltransferase menggunakan sukrosa untuk mensintesa glukosa dengan berat molekul tinggi yang terdiri dari ikatan glukosa alfa (1-3) dan alfa (1-6).<sup>47,50</sup> Ikatan glukosa alfa (1-3) bersifat sangat pekat seperti lumpur, lengket dan tidak larut dalam air. Kelarutan ikatan glukosa alfa (1-3) dalam air berpengaruh terhadap pembentukan koloni *Streptococcus mutans* pada permukaan gigi. Ikatan glukosa alfa (1-3) berfungsi pada perlekatan dan peningkatan koloni bakteri ini dalam kaitannya dengan pembentukan plak dan terjadinya karies gigi.<sup>50</sup>

#### 2.4. Temulawak

Temulawak merupakan tanaman asli Indonesia dan termasuk salah satu jenis temu-temuan yang paling banyak digunakan sebagai bahan baku obat tradisional.<sup>14-24</sup> Selain itu, temulawak merupakan sumber bahan pangan, pewarna, bahan baku industri (seperti kosmetika), maupun dibuat makanan atau minuman segar. Selain temulawak di berbagai daerah dikenal nama lain seperti di Jawa Koneng Gede, Temu Raya, Temu besar, Aci Koneng, Koneng Tegel, di Madura Temolabak, di Bali Tommo dan di Cina dikenal sebagai Kiang Huang, sedangkan masyarakat Eropa mengenal temulawak dengan nama Java Turmeric. Tanaman ini secara biologi termasuk dalam kerajaan Plantae, Divisi Magnoliophyta, Kelas Liliopsida, Ordo Zingiberales, Famili Zingiberaceae, dan Genus Curcuma.<sup>16</sup>

Temulawak telah dibudidayakan dan banyak ditanam di pekarangan atau tegalan, juga sering ditemukan tumbuh liar di hutan jati atau padang alang-alang. Tanaman ini lebih produktif pada tempat terbuka yang terkena sinar matahari dan

dapat tumbuh mulai dari dataran rendah sampai dataran tinggi. Akan tetapi, untuk mencapai hasil yang maksimal, sebaiknya ditanam pada ketinggian sekitar 200-600 mdpl.<sup>14,16,29</sup>

Temulawak merupakan semak berimpang, tinggi mencapai 2,5 m. Batangnya semu terbentuk dari pelepah daun yang saling bertautan, lunak, pada pangkalnya membentuk rimpang besar berwarna kuning muda, globular, kulit rimpang kuning tua atau coklat kemerahan. Daging rimpang orange ke coklatan; bercabang, dengan warna cabang yang lebih pucat. Bau merangsang, memiliki rasa agak pahit. Rimpang terdiri dari rimpang induk berbentuk bulat telur dengan anakan rimpang yang lebih langsing ber jumlah 3-4 (gambar 2.4). Daunnya berbentuk oval, tunggal, dengan ujung meruncing, permukaan licin dan tepinya rata, pertulangan daun menyirip, warna daun hijau dengan tulang daun yang di tengah ungu. Bunga tumbuh pada bagian dekat dengan tanah, berupa bunga majemuk berbulir, memiliki banyak daun pelindung, kelopaknya berambut, putih, mahkota juga putih berbentuk tabung, benang sari berwarna kuning muda, (gambar 2.5).<sup>16,29</sup>



Gambar.2.4 Rimpang temulawak

Sumber: <http://www.aculshare.com/2011/07/jamu-temulawak-dan-manfaat-buat.html>

Temulawak sudah dikenal sejak permulaan abad XVI dan popularitasnya terus meningkat seiring dengan manfaat serta hasil penelitian khasiatnya. Di Eropa temulawak sudah dikenal sejak akhir abad XVI dan saat ini menjadi salah satu bahan dasar untuk fitoterapi di beberapa negara Eropa. Sejak 40 tahun terakhir ini, berbagai penelitian telah mengungkapkan rahasia khasiat temulawak ini.<sup>29</sup>



Gambar 2.5: Daun dan bunga temulawak  
 Sumber: [http://id.wikipedia.org/wiki/Temu\\_lawak](http://id.wikipedia.org/wiki/Temu_lawak)

Berdasarkan penelitian didapatkan bahwa kandungan kimia temulawak terdiri atas kurkuminoid, minyak atsiri, resin lipida, amilum, amilase, fenolase dan mineral. Minyak atsiri temulawak terdiri atas 31 komponen, dan beberapa diantaranya merupakan komponen khas minyak atsiri, salah satunya adalah *xanthorrhizol*.<sup>17</sup> Bagem Sembiring dkk (BALITTRO, 2006) melaporkan ekstrak etanol temulawak mengandung air, abu, sari air, sari alkohol, minyak atsiri, kurkumin, dan *xanthorrhizol*. Komponen ekstrak terbesar adalah sari air, dan yang terkecil adalah kurkumin.<sup>51</sup> Berbagai khasiat temulawak telah diteliti, yaitu sebagai analgesik, anthelmintik, antibakteri, anti jamur, anti diabetik, anti diare, anti inflamasi<sup>17</sup>, anti hepatotoksik, antioksidan, anti tumor<sup>25</sup>, depresan, diuretik, hipotermik, hipolipidemic, insektisida alam, dan lain-lain.<sup>52</sup> Sumber lain mengabarkan hasil penelitian temulawak yang berkhasiat sebagai obat radang hati (hepatitis), sakit kuning (*jaundice*), radang ginjal, radang kronis kandung empedu (kolestik kronik), meningkatkan aliran empedu ke saluran cerna, perut kembung, kurang nafsu makan (anoreksia), demam, pegal linu, rematik, memulihkan kesehatan setelah melahirkan, sembelit, diare, kolesterol darah tinggi (*hiperkolesterolemia*), haid tidak lancar, flek hitam dimuka, jerawat (*acne vulgaris*), hemorrhoid,<sup>27,53</sup> serta produksi ASI sedikit.<sup>14</sup>

#### 2.4.1. Temulawak dan aktifitas anti bakteri rongga mulut

Berbagai penelitian telah membuktikan khasiat temulawak sebagai anti bakteri, khususnya pada rongga mulut. Berbagai bakteri telah diuji coba untuk mengetahui efek anti bakteri dari temulawak, diantaranya *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* dan *Escherichia coli*<sup>29</sup>, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sorbrinus*, *Actinomyces viscosus* dan *Porphyromonas gingivalis*.<sup>18</sup> Dalam ekstrak

temulawak, terkandung zat aktif, yang berperan sebagai antimikroba, yaitu *xanthorrhizol*. Kandungan *xanthorrhizol* dalam temulawak sebanyak 21 persen. Kelebihan senyawa *xanthorrhizol* antara lain tidak berwarna, tidak berbau, tidak volatil (tidak mudah menguap), tahan panas dan tahan asam. Sayangnya senyawa ini rasanya sangat pahit.<sup>18</sup> *Xanthorrhizol* terdiri dari senyawa fenol dan hidrokarbon.<sup>51</sup> Gugus OH dan hidrokarbon dari *xanthorrhizol* sangat penting dalam aktifitasnya sebagai antimikroba. Turunan fenol berinteraksi dengan sel bakteri melalui proses adsorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen. Pada kadar rendah terbentuk kompleks protein fenol dengan ikatan yang lemah dan segera mengalami penguraian, diikuti penetrasi fenol ke dalam sel yang menyebabkan presipitasi dan denaturasi protein. Pada kadar tinggi fenol menyebabkan koagulasi protein dan sel membran mengalami lisis.<sup>54</sup>

J.K. Hwang dkk (2000) dalam penelitian secara in vitro melaporkan bahwa *xanthorrhizol* sebanyak 2 µg/mL, selama 1 menit dapat mengeliminasi *Streptococcus mutans*.<sup>18-20</sup> Y. Rukayadi dan J. K. Hwang (2006) meneliti aktifitas anti bakteri *xanthorrhizol* terhadap *Streptococcus mutans* pada biofilm secara in vitro, melaporkan bahwa aktifitas anti bakteri *xanthorrhizol* bergantung pada konsentrasi, waktu paparan, serta fase pertumbuhan dari biofilm.<sup>21</sup>

Jung Eun Kim dkk( 2008) menggunakan *xanthorrhizol* untuk meneliti aktifitas, inhibisi, serta perubahan morfologi yang terjadi pada biofilm *S. mutans*. Hasil penelitian ini menunjukkan *xanthorrhizol* 0,1 mg/ml setara dengan 2 mg/ml Chlorhexidin dalam aktifitas anti *S. mutans*. Kemampuan inhibisi *xanthorrhizol* dalam menghambat asidogenik pada *S. mutans* ditunjukkan dengan kemampuan mempertahankan pH pada kisaran 7.0 selama 4 jam pada permukaan biofilm.<sup>22</sup>

Rizky Primeir M (2011) di laboratorium Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia menggunakan ekstrak temulawak pada single koloni *S. mutans* menggunakan metode dilusi dan difusi. Penelitian ini melaporkan bahwa Kadar Hambat Minimum (KHM) ekstrak Temulawak 0,5%, sedangkan Kadar Bunuh Minimum (KBM) 25%.<sup>23</sup> Rini Rahmawati( 2011) melakukan uji viabilitas menggunakan MTT pada biofilm *S. mutans*. Penelitian ini melaporkan bahwa viabilitas *S. mutans* menurun seiring peningkatan konsentrasi ekstrak temulawak

yang dipaparkan, dan sampai dengan konsentrasi ekstrak temulawak 25% viabilitas *S. mutans* masih di atas 0%.<sup>24</sup>

Boesro Soebagyo dkk pada penelitiannya menggunakan ekstrak temulawak pada sediaan antiacne mengindikasikan bahwa pH ekstrak temulawak bersifat basa, karena krim yang digunakan bersifat asam lemah (Ph 6,5), dan penambahan ekstrak temulawak menyebabkan Ph menjadi 7,5.<sup>55</sup>

#### 2.4.2. Ekstrak Temulawak

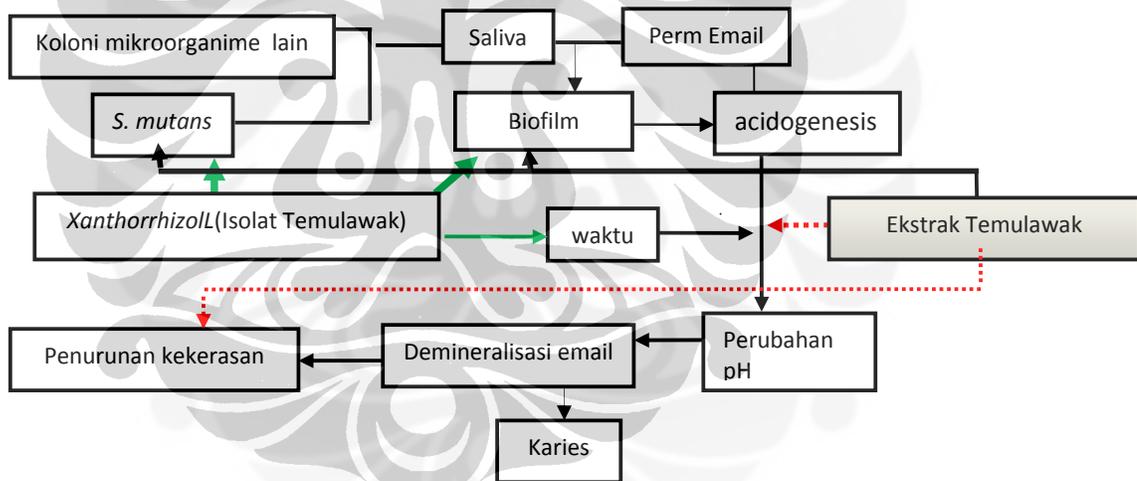
Pada penelitian ini digunakan ekstrak temulawak berasal dari Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik (BALITTRO), Bogor. Ekstraksi dilakukan menggunakan teknik maserasi dengan pelarut etanol 95%. Maserasi termasuk dalam metode ekstraksi pendinginan.<sup>56-58</sup> Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan pelarut, umumnya digunakan untuk ekstraksi simplisia dengan zat aktif yang mudah larut dalam cairan pelarut. Etanol termasuk dalam pelarut golongan polar yang memiliki polaritas yang tinggi sehingga dapat mengekstrak dengan lebih baik. Selain itu etanol tidak beracun sehingga aman digunakan.<sup>27</sup>

Sylviana husein dkk (2009) menggunakan ekstrak temulawak dengan 3 macam pelarut yaitu hexane, ethyl asetat, dan ethanol pada 3 jenis mikroorganisme yaitu *Staphylococcus aureus*, *Blus cereus*, dan *Escherichia coli* untuk mengetahui aktifitas ekstrak temulawak terhadap mikroorganisme berdasar pelarut yang digunakan.<sup>30</sup> Penggunaan ekstrak dengan ethanol sebagai pelarut memiliki kelebihan yaitu dapat menarik lebih banyak zat aktif terutama minyak atsiri, disamping lebih murah dan mudah didapat.<sup>56</sup>

Ekstrak temulawak yang digunakan dalam penelitian ini telah dilakukan uji di laboratorium Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik (BALITTRO), dengan hasil temulawak yang digunakan memiliki kadar air sebanyak 6,81% serta kadar minyak atsiri sebanyak 4,75%. Pada ekstrak yang digunakan juga dilakukan uji fitokimia pada laboratorium farmasi Litbang Kemenkes RI dan didapat hasil pada ekstrak temulawak yang disentrifugasi memiliki kadar minyak atsiri 17,85%. Minyak atsiri ekstrak temulawak yang disentrifugasi lebih banyak dibandingkan pada ekstrak yang tidak disentrifugasi yang memiliki kadar minyak atsiri 10,71%.

## 2.5. Kerangka Teori

Isolat minyak atsiri temulawak yaitu *xanthorrhizol* diketahui memiliki khasiat antibakteri pada *S. mutans*. *S. mutans* dikenal sebagai flora normal rongga mulut utama penyebab karies. *Xanthorrhizol* sebagai anti *S. mutans* telah diuji secara in vitro baik pada koloni maupun setelah terbentuk biofilm dan dilaporkan *xanthorrhizol* tidak hanya bersifat bakteriostatik dan bakterisid tetapi juga dapat mempertahankan pH biofilm *S. mutans* selama 4 jam. Penelitian di FKG UI membuktikan efektifitas temulawak dalam bentuk ekstrak sebagai anti *S. mutans* dalam *single colony* maupun di dalam biofilm. Penurunan pH akibat metabolisme bakteri di dalam biofilm menyebabkan demineralisasi email. Karena itu perlu diteliti pengaruh ekstrak temulawak terhadap biofilm *S. mutans* maupun terhadap demineralisasi permukaan email. Secara ringkas proses ini dirangkum menjadi kerangka Teori yang dapat dilihat pada gambar 2.6.



Gambar 2.6. Bagan kerangka teori

Keterangan:

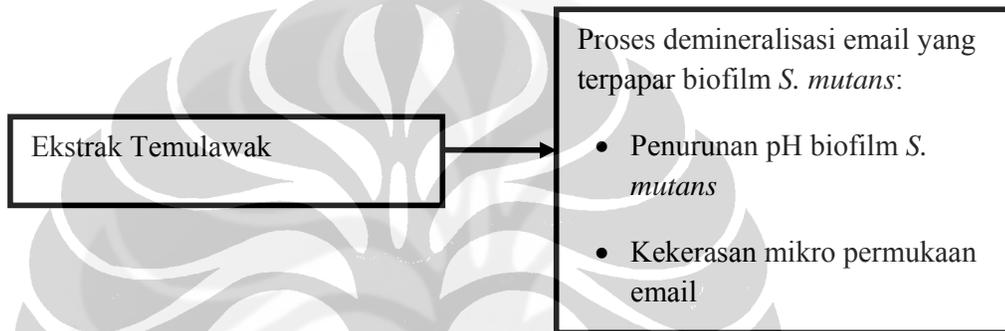
Panah hitam menunjukkan teori yang ada  
 panah hijau menunjukkan hasil penelitian terdahulu  
 panah titik-titik merah merupakan parameter yang akan diteliti

## BAB 3

### KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

#### 3.1. Kerangka Konsep

Ekstrak temulawak memiliki khasiat antibakteri pada *S. mutans*, baik pada koloni maupun pada biofilm. Belum diketahui efek ekstrak temulawak terhadap pH biofilm dan kekerasan mikro permukaan email (gambar 3.1).



Gambar 3.1. Kerangka Konsep

Variabel bebas : ekstrak temulawak

Variabel terikat: - pH biofilm  
- kekerasan mikro email

#### 3.2. Hipotesis

##### 3.2.1. Hipotesis Mayor:

Aplikasi ekstrak temulawak kadar efektif sebagai anti *Streptococcus mutans* in vitro dapat menghambat demineralisasi email akibat asidogenesis oleh biofilm *S. mutans*

##### 3.2.2. Hipotesis Minor:

3.2.2.1. Aplikasi ekstrak temulawak mampu menghambat penurunan pH permukaan email yang dilapisi biofilm *S. mutans*.

3.2.2.2. Aplikasi ekstrak temulawak mampu menghambat penurunan kekerasan mikro permukaan email akibat biofilm *S. mutans*



## **BAB IV**

### **METODE PENELITIAN**

#### **4. 1. Jenis Penelitian**

Jenis penelitian adalah eksperimen laboratorik

#### **4.2. Desain penelitian**

Dilakukan uji sebelum dan sesudah perlakuan pada pH biofilm *S. mutans* dan kekerasan mikro permukaan email.

#### **4.3. Waktu penelitian**

Lama penelitian :±4 bulan (Januari – April 2012)

#### **4. 4. Tempat Penelitian**

Laboratorium Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia

Laboratorium Dental Material Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia

Laboratorium IHVCB( Institute of Human Virus Cancer and Biology) Universitas Indonesia

#### **4.5. Tahap Penelitian**

##### **4.5.1. Penelitian pendahuluan**

Penelitian pendahuluan oleh mahasiswa S1 FKG UI dilakukan untuk menentukan bentuk sediaan ekstrak temulawak yang digunakan serta konsentrasi efektif ekstrak temulawak sebagai anti *S. mutans*. Dari penelitian pendahuluan pada *single colony* dengan metode dilusi dan difusi didapatkan hasil KHM 0,5%, sedangkan KBM 25%. Pada penelitian efek ekstrak temulawak terhadap viabilitas *S. mutans* pada biofilm diketahui bahwa pada konsentrasi 25% ekstrak temulawak mampu menekan viabilitas *S. mutans* dalam biofilm, walaupun viabilitas belum mencapai 0%. Berdasar hasil penelitian pendahuluan tersebut, maka konsentrasi ekstrak temulawak yang digunakan pada penelitian ini adalah 25%.

#### 4.5.2. Eksperimen efek temulawak sebagai anti *S. mutans* dalam menghambat demineralisasi email

Tahap pertama penelitian ini adalah melakukan konfirmasi spesies bakteri yang digunakan dengan metode PCR. Tahap kedua adalah pengukuran *Optical Density* (OD) suspensi bakteri dengan tingkat pengenceran yang telah ditentukan. Tahap ketiga, pembuatan model biofilm *S. mutans*. Tahap keempat adalah pengukuran pH model biofilm *S. mutans* mulai jam ke 1 sampai dengan jam ke 48, dan melakukan uji efek ekstrak temulawak terhadap pH biofilm *S. mutans* pada berbagai fase (durasi 1-48 jam). Tahap kelima adalah uji pengaruh ekstrak temulawak terhadap kekerasan mikro permukaan email yang terpapar biofilm *S. mutans*.

### 4.6. Definisi Operasional

#### 4.6.1. *Streptococcus mutans*

*Streptococcus mutans* yang digunakan dalam penelitian ini adalah *S. mutans* serotip c yang merupakan stok bakteri di laboratorium Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia. Setiap kali akan digunakan dibuat kultur pada tabung reaksi yang diletakkan dalam *anaerobic jar* dan di inkubasi dalam inkubator dengan suhu 37° C selama 2 x 24 jam. Hasil kultur dibaca densitasnya dengan *microplate reader*, kemudian dilakukan pengenceran sehingga didapat konsentrasi yang diperlukan yaitu 10<sup>-6</sup>.

#### 4.6.2. Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb*)

Temulawak yang digunakan adalah ekstrak temulawak yang diperoleh dengan metode Maserasi dan menggunakan etanol 95% sebagai pelarut dan DMSO 10% sebagai pengencer, serta disentrifugasi 3000 rpm selama 20 menit, kemudian digunakan supernatannya. Ekstrak temulawak didapat dari Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik (BALITTRO), Bogor. Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan maka ekstrak temulawak yang digunakan adalah konsentrasi 25%.

#### 4.6.3. Spesimen Email

Spesimen email adalah email gigi-gigi posterior yang didapat dari Puskesmas Indihiang, Tasikmalaya serta beberapa klinik gigi lainnya. Penggunaan gigi posterior dengan pertimbangan memiliki permukaan bukal maupun palatal yang lebih luas. Sampel gigi adalah gigi-gigi yang dilakukan ekstraksi sesuai dengan indikasi. Gigi yang digunakan memiliki syarat bebas karies, dan sampel diproses untuk penelitian ini selambat-lambatnya 6 (enam) hari setelah ekstraksi. Spesimen yang didapat dicuci dengan aquades, dan disimpan dengan meletakkan pada tabung tertutup yang telah diberi kapas yang dibasahi dengan larutan salin.

#### 4.6.4. Saliva

Digunakan saliva yang didapat dari sukarelawan yang sehat. Saliva disaring menggunakan filter berukuran 0,20  $\mu\text{m}$  untuk menghasilkan saliva yang tidak mengandung bakteri. Sebelum dilakukan penyaringan, saliva disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit, dan diambil supernatannya untuk pembuatan model biofilm *S. mutans*.

#### 4.6.5. Model biofilm

Model biofilm yang digunakan dibuat pada 6 well- plate untuk mendapatkan data dasar tentang pH biofilm pada 1-4 jam pertama, serta pada jam ke 12, 16, 18, 20, 24, 48. Juga dilakukan pengukuran pH biofilm yang telah diberi ekstrak temulawak 25% dan DMSO 10% sebagai kontrol positif. Model biofilm juga dibuat pada permukaan email yang telah di tanam pada resin dekoratif dan telah dilakukan uji kekerasan sebelum perlakuan, serta dibungkus dengan parafilm sebagai penahan cairan biofilm agar tidak mengalir keluar. Biofilm dibuat dengan menginkubasi saliva yang telah dipurifikasi pada inkubator dengan suhu 37<sup>0</sup> C selama 1 jam 30 menit untuk mendapatkan pelikel. Setelah 1jam 30 menit well dikeluarkan. Sisa cairan dikeringkan dengan menggunakan pipet mikro. Setelah well kering, dilakukan pembilasan menggunakan PBS pada permukaan pelikel yang telah terbentuk. Pembilasan dilakukan satu kali, kemudian dituangkan suspensi *S. Mutans* dengan konsentrasi 10<sup>-6</sup> pada

permukaan well yang telah dilapisi pelikel. Setelah itu dilakukan inkubasi pada inkubator dengan suhu 37<sup>0</sup> C.

#### **4.6.6. Pengukuran pH model biofilm**

Pengukuran pH dilakukan menggunakan *pH universal indicator*. Dilakukan pengukuran pH biofilm *S. mutans* pada 1-4 jam pertama serta pada jam ke 12, 16, 18, 20, 24, 48. Sebelum digunakan, pH universal dikalibrasi dengan pH meter yang terdapat di laboratorium Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia. Kalibrasi dilakukan untuk mengetahui akurasi dari *pH universal indicator* yang digunakan, dibandingkan dengan pH meter yang ada. Dilakukan dengan cara mengukur cairan yang diujikan dengan pH meter, kemudian dilakukan pengukuran menggunakan pH universal pada cairan yang sama. Hasil uji yang didapat kemudian dibandingkan.

#### **4.6.7. Uji efek ekstrak temulawak dalam penurunan pH model biofilm *S. mutans***

Uji dilakukan dengan cara membuat model biofilm pada 6 *well- plate* yang kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37<sup>0</sup> C selama 16 jam. Pada jam ke 16 ditambahkan ekstrak temulawak 25% sebanyak 2 ml, dan diinkubasi lagi dalam inkubator dengan suhu 37<sup>0</sup>C. Pengukuran pH dilakukan setiap 1 jam selama 4 jam (pada jam ke 17, 18, 19, 20).

#### **4.6.8. Uji kekerasan mikro permukaan email**

Uji dilakukan menggunakan *Knoop micro hardness tester*. Prinsip dasar kerja alat adalah pemberian jejas pada permukaan berdasarkan beban dan waktu indentasi. Jejas indentasi berupa *pyramid diamond* panjang. Dilakukan pengukuran sisi jejas, sesuai dengan beban, dan diperoleh kekerasan mikro permukaan. Dalam pengujian beban yang diberikan adalah 980,7 mN selama 10 detik. Hasil yang diperoleh kekerasan dalam KHN. Asumsi yang dipakai adalah semakin keras permukaan email, maka semakin tahan permukaan terhadap asam. Pada penelitian ini indentasi dilakukan pada 5 titik dari masing-masing permukaan sampel email.

## 4. 7. Cara Kerja

### 4.7.1.Konfirmasi *Streptococcus mutans*

Pengujian ini dilakukan untuk memastikan bahwa bakteri yang digunakan adalah *Streptococcus mutans*. Penelitian ini dilakukan dengan cara mencocokkan berat molekul DNA (yang tercermin dari gambaran pita hasil uji PCR) yang sesuai dengan *Streptococcus mutans* yang telah diketahui, melalui identifikasi DNA menggunakan metoda *Polymerase Chain Reaction* ( PCR ). Hasil PCR dibaca dengan menggunakan Gel-doc berupa *Ultraviolet Transluminator Unit* dari BioRad.

#### 4.7.1.1. Kuantifikasi DNA

Sebelum dilakukan identifikasi dilakukan kuantifikasi menggunakan alat *Visible Spectrofotometer* bermerek *Ultrospec 4300 pro UV*, dengan hasil seperti dibawah ini:

Abs @ 260Å : 0,064  
Abs @ 280 Å: 0,055  
DNA co : 3.200 µg  
DNA pur : 1.164 µg

Kuantifikasi dilakukan dengan menambahkan 495 µl *Milli-Q* pada 5 µl sampel DNA *Streptococcus mutans* hasil ekstraksi DNA. Sebagai kontrol digunakan 500 µl *Milli-Q*. Kontrol dan sampel dimasukkan dalam kuvet untuk spektrofotometri.

#### 4.7.1.2. Amplifikasi DNA

Berikutnya dilakukan amplifikasi DNA menggunakan metoda *end- point Polymerase Chain Reaction* ( PCR ). Pada tahap ini campuran PCR dibuat dalam *Thermal Cyclcer tube / PCR tube* dengan komposisi 5µl 10X *Dream Tag Buffer* (Fermentas), 5µl *Dntp mix* (Fermentas), 0.5µl *Dream Tag DNA Polymerase* (Fermentas), dan masing-masing *primers* sebanyak 3.5 µl. Kemudian DNA sampel yang akan diidentifikasi dimasukkan sebanyak 100ng lalu ditambahkan

*Milli-Q* steril hingga volume campuran mencapai 50  $\mu\text{l}$ . Semua PCR *tube* kemudian dimasukkan pada DNA *Thermal Cycler I Cycler* – BioRad. PCR dilakukan dengan denaturasi awal pada temperatur 95°C selama 5 menit, kemudian dilanjutkan dengan amplifikasi sebanyak 36 siklus pada temperature 95°C selama 30 detik untuk denaturasi, 62-50°C selama 30 detik untuk *annealing* dan 72°C selama 90 detik untuk elongasi. Proses PCR diakhiri dengan elongasi akhir pada temperature 72°C selama 4 menit.

#### 4.7.1.3. Elektroforesis dan Transiluminasi

Setelah proses PCR selesai, dilanjutkan dengan proses elektroforesis yang dilakukan dengan campuran amplicon hasil PCR sebanyak 10  $\mu\text{l}$  dengan ditambahkan 2  $\mu\text{l}$  *loading dye*, lalu masukan dalam tiap *well* pada gel, kecuali pada satu *well* yang hanya dimasukkan DNA *marker* sebanyak 2  $\mu\text{l}$ . Gel dimasukkan pada *Horizontal Electrophoresis Unit* (BioRad) (Gambar 4.6) dan elektroforesis siap dilakukan pada tegangan listrik 100 V dan kuat arus listrik 400 Ma selama 50 menit. Setelah proses elektroforesis selesai, gel agarose hasil elektroforesis diletakkan pada *Ultraviolet Transiluminator Unit* (BioRad) kemudian dilakukan transiluminasi dengan sinar ultraviolet. Hasil transiluminasi diobservasi dan difoto.

#### 4.7.2. Menentukan *Optical Density* (OD)

Penentuan konsentrasi bakteri yang digunakan dalam pembuatan model biofilm *S. Mutans* dilakukan dengan melakukan serial dilusi dengan membuat kultur bakteri dengan konsentrasi  $10^{-1}$  hingga  $10^{-10}$  pada media agar TYS secara duplo, kemudian dilakukan inkubasi pada inkubator dengan suhu 37<sup>0</sup> C selama 2 x 24 jam. Setelah dilakukan penghitungan jumlah koloni yang terbentuk pada semua plate, koloni yang telah dihitung dikerok menggunakan sengkeli, dimasukkan dalam TYS broth didalam epis yang telah disiapkan sebanyak jumlah plate yang terbentuk koloni. Hasil kultur dalam TYS broth yang telah di vortex dibaca menggunakan *microplate reader*. Hasil yang didapat dari *microplate reader* menjadi acuan tiap kali akan membuat model biofilm *S. mutans*.

#### 4.7.3. Pembuatan model biofilm *Streptococcus mutans*

Pada penelitian ini pembuatan biofilm dilakukan pada 6 well- plate serta pada permukaan sampel email gigi yang telah dipersiapkan. Biofilm pada penelitian ini dibuat dengan cara menaruh 2 ml saliva pada permukaan yang akan ditumbuhkan biofilm. Saliva yang digunakan telah mendapat perlakuan berupa sentrifugasi 13000 rpm selama 2 menit untuk memisahkan supernatant yang merupakan protein murni, dan filterisasi dengan filter berdiameter 0,20  $\mu$ . Dilakukan inkubasi selama 1 jam 30 menit pada inkubator dengan suhu 37<sup>0</sup> C untuk mendapatkan pelikel. Setelah selesai inkubasi, cairan yang tersisa dikeringkan menggunakan pipet, kemudian diberi 2 ml larutan *Phosphate Buffer Saline* (PBS), dan kembali dikeringkan menggunakan pipet. Setelah cairan kering dimasukkan 2 ml suspensi bakteri *S. mutans* yang akan diuji. Dalam penelitian ini adalah suspensi bakteri *S. mutans* konsentrasi 10<sup>-6</sup>. Setelah itu media yang telah berisi pelikel dan bakteri dimasukkan ke dalam *anaerobic jar* dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37<sup>0</sup> C

#### 4.7.4. Pengukuran pH biofilm *Streptococcus mutans*

Pengukuran pH model biofilm *S. mutans* pada penelitian ini dilakukan pada model biofilm tanpa perlakuan, dan pada model biofilm dengan perlakuan. Pengukuran pada biofilm tanpa perlakuan dilakukan pada jam ke 1- 4, 12, 16, 20, 24, dan 48 jam untuk mendapatkan data dasar pH kritis pada biofilm *Streptococcus mutans*. Tahap ini dilakukan pada 6well- plate ( gambar 4. 1) sebagai sarana menumbuhkan biofilm, serta menggunakan pH *universal indicator* (Merck) ( gambar 4. 2) yang telah dikalibrasi dengan pH meter yang terdapat di laboratorium Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia sebagai pengukur pH biofilm. Sebelum digunakan untuk mengukur pH biofilm dilakukan sterilisasi pH *universal indicator* menggunakan sinar UV (*Ultra Violet*) selama 15 menit.



Gambar 4.1 6well-plate berisi biofilm *Streptococcus mutans* pada berbagai variasi waktu



Gambar 4.2. pH universal indicator (merck)

Dasar pertimbangan pengukuran pH pada jam-jam yang ditentukan pada penelitian ini adalah diketahuinya durasi tahap-tahap maturasi biofilm *S. mutans* berdasar penelitian Rukayadi dkk.

Pengukuran pH juga dilakukan pada biofilm yang mendapat perlakuan. Pengukuran pH pada biofilm yang mendapat perlakuan dilakukan pada 6 well-plate secara duplo. Pada biofilm ditambahkan ekstrak temulawak 25%. Sebagai kontrol positif pada well diberi DMSO 10%, sedangkan sebagai kontrol negatif pada well tidak dilakukan penambahan bahan apapun.

Setelah pemberian ekstrak etanol temulawak 25% dan DMSO 10 %, dilakukan pengukuran pH tiap 1 jam selama 4 jam. Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan pH universal indicator pada biofilm.

#### 4.7.5. Uji pengaruh ekstrak temulawak terhadap kekerasan mikro permukaan email yang terpapar biofilm *S. mutans*

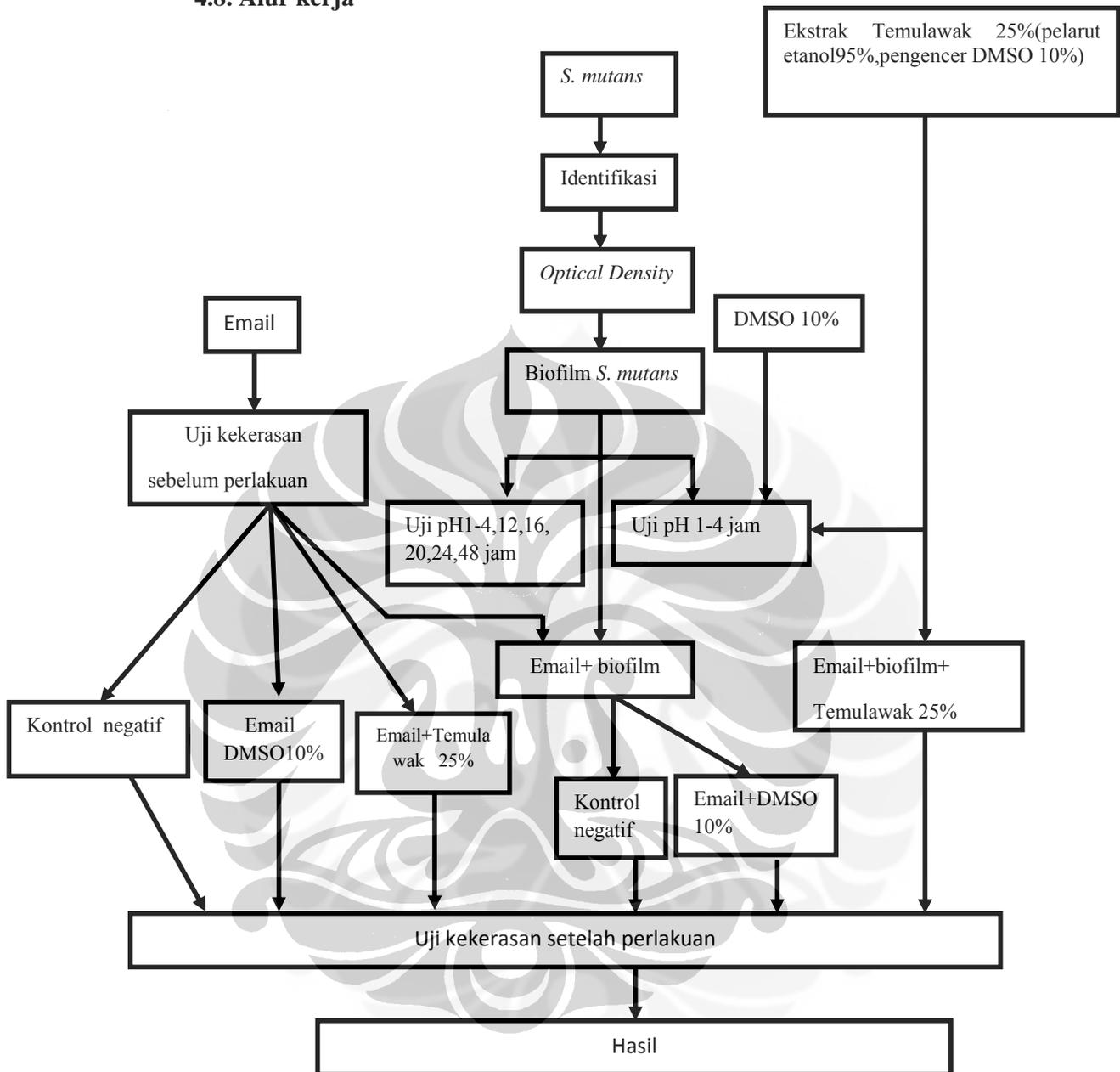
Sebelum dilakukan uji kekerasan mikro permukaan, seluruh sampel gigi yang digunakan dipersiapkan. Pertama-tama dilakukan penanaman pada resin dekoratif. Penanaman dilakukan pada potongan pipa PVC dengan diameter 2 cm dan ketebalan 1,5 cm. Email diletakkan pada *sticker paper* dengan permukaan email yang akan dilakukan uji menempel pada *sticker paper*. Setelah itu dibuat galengan disekeliling email, untuk memudahkan pada waktu isolasi email saat perlakuan. Cairan Resin dekoratif dituangkan hingga tepi pipa PVC. Setelah resin dekoratif mengeras email diratakan dengan menggunakan kertas amplas nomor 2000. Pemolesan menggunakan alat *grinding* dan *polishing* dengan alumina sebagai bahan abrasif. Dilakukan pengukuran ketebalan email yang muncul di permukaan resin dekoratif dari dasar resin dekoratif menggunakan jangka sorong sebelum dan sesudah diratakan dan dipoles. Pengukuran perlu dilakukan dengan tujuan supaya uji yang dilakukan pada permukaan email, bukan pada dentin. Mengingat ketebalan rata-rata email adalah 1 mm, sedangkan uji dilakukan pada permukaan email, maka pengambilan maksimal yang dibolehkan adalah sebanyak 0,07 mm setelah pemolesan. Pemolesan dilakukan karena untuk uji menggunakan indenter Knoop disyaratkan harus pada permukaan yang halus dan datar. Hal ini berhubungan dengan indenter pada Knoop memiliki sudut yang landai ( $172^{\circ}$ ) hingga bila permukaan spesimen tidak halus dan rata, maka hasil pengukuran tidak sempurna. Dilakukan indentasi pada semua sampel sebagai data sebelum perlakuan.

Pengukuran kekerasan mikro permukaan email setelah perlakuan dilakukan pada 12 permukaan email yang telah dipersiapkan. Sebelum pengukuran, email yang ditanam dalam resin dekoratif dibungkus dengan parafilm. Dilakukan 2 kali pembungkusan, pertama dibungkus permukaan datar email dan resin dekoratif dengan daerah email yang akan dipapar biofilm dibiarkan terbuka, sedangkan resin dekoratif tertutup parafilm. Sekeliling resin juga dilapisi parafilm dengan tujuan agar cairan biofilm tidak mengalir keluar. Lempong email dibagi menjadi dua kelompok, yaitu 6 lempeng email sebagai kelompok perlakuan, dan sisanya adalah kelompok kontrol. Pada kelompok

perlakuan ditumbuhkan biofilm *S. mutans*, kemudian kedua kelompok di inkubasi pada suhu 37<sup>0</sup> C selama 16 jam. Pada jam ke 16 seluruh sampel email dikeluarkan, kemudian ditambahkan ekstrak Temulawak 25% pada dua sampel kelompok perlakuan dan dua sampel kelompok kontrol, juga ditambahkan DMSO 10% sebagai kontrol positif pada dua sampel kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Sisa kelompok kontrol dan kelompok perlakuan tidak diberi bahan tambahan apapun.. Semua lempeng dimasukkan kembali ke dalam anaerobic jar, dan di inkubasi pada suhu 37<sup>0</sup>C hingga mencapai 20 jam. Semua lempeng dikeluarkan, kemudian dibersihkan dengan aquades. Setelah kering dilakukan uji kekerasan mikro dengan indenter Knoop. Hasil pengukuran adalah kekerasan mikro permukaan email dalam satuan Knoop Hardness Number (KHN).



#### 4.8. Alur kerja



Gambar 4.3. Kerangka Kerja

#### 4.9. Manajemen Data

Pada pH biofilm yang merupakan data semi kualitatif dilakukan observasi, sedangkan data kekerasan permukaan email yang merupakan data numerik di analisis menggunakan uji ANOVA dengan  $\alpha < 0,05$ .

#### **4.10. Masalah Etika**

Evaluasi etika penelitian dilakukan oleh Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia. Penelitian ini disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia dengan dikeluarkannya surat lolos etik penelitian nomor 102/Ethical Clearance/FKG UI/II/2012

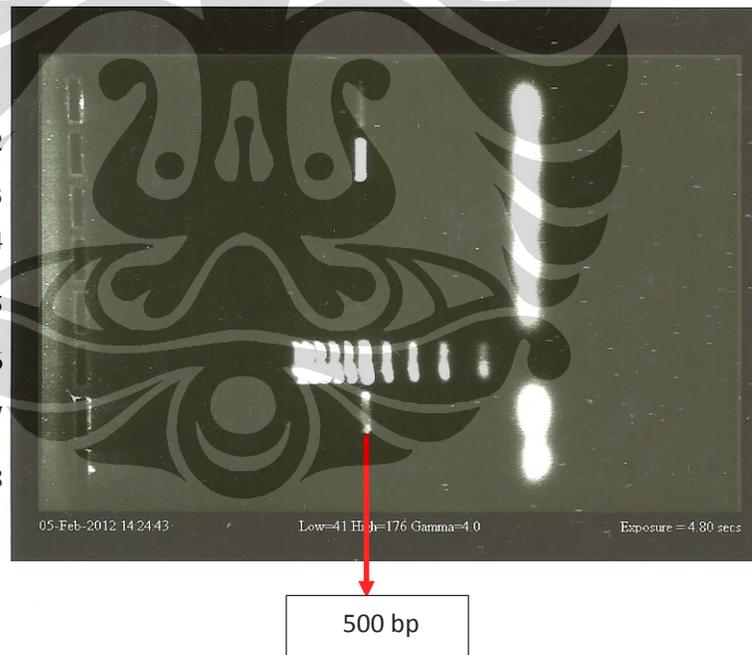


## BAB V

### HASIL PENELITIAN

#### 5. 1. Konfirmasi strain *Streptococcus mutans*

Hasil konfirmasi species *Streptococcus mutans* dengan metode PCR dibaca menggunakan *Ultraviolet Transluminator Unit*. Pada lajur 1 terdapat *Streptococcus mutans* serotip d yang didapat dari klinik dan telah diidentifikasi. Lajur 1 ini merupakan pembanding. Pada lajur 2 dan 7 adalah *Streptococcus mutans* serotip c yang merupakan sampel pada penelitian ini. Pada lajur 6 adalah DNA marker. Hasil uji menunjukkan bahwa *Streptococcus mutans* serotip c yang digunakan dalam penelitian ini positif teridentifikasi sebagai *Streptococcus mutans* berdasar pita DNA yang dihasilkan.



Gambar 5. 1 Hasil PCR *Streptococcus mutans* yang divisualisasi dengan sinar UV

## 5.2. Hasil pengukuran OD suspensi *S. mutans*

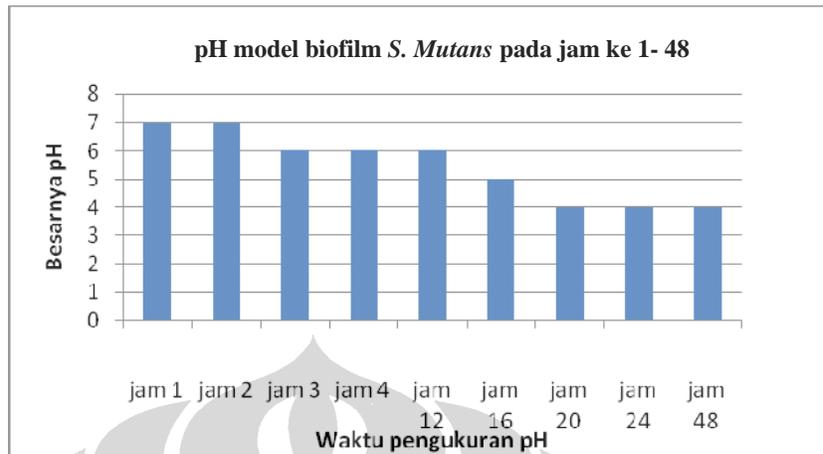
OD suspensi *S. mutans* yang digunakan perlu diukur untuk memastikan bahwa pembuatan biofilm digunakan suspensi *S. mutans* dengan konsentrasi yang sama, sehingga hasil penelitian yang diperoleh memang hanya dipengaruhi oleh variabel terikat yang diuji. Pada penelitian ini digunakan konsentrasi  $10^{-6}$ . Hasil pengukuran terlihat pada tabel 5.1.

Tabel 5.1 Hasil pengukuran optical density menggunakan Microplate Reader terhadap kultur *Streptococcus mutans* konsentrasi  $10^{-1}$  –  $10^{-7}$

Label	Mean OD	Std Dev	% CV	Conc: CFU/ml
S1	2.4410	0.776	31.77	3000e+011
S2	2.2397	0.187	8.34	3000e+010
S3	2.0227	0.048	2.36	3000e+003
S4	1.6222	0.165	10.18	3000e+008
S5	0.6940	0.085	12.31	3000e+007
S6	0.1835	0.018	9.98	3000e+006
S7	0.0525	0.007	14.12	3000e+005
Blank	0.3652	0.009	2.51	

S1- S7 merupakan suspensi *S. mutans* dengan konsentrasi  $10^{-1}$ -  $10^{-7}$ . Blank yang digunakan sebagai control adalah TYS broth tanpa tambahan bakteri *S. mutans*. % CV adalah % *Colony Viability*, menunjukkan jumlah bakteri yang ada dalam konsentrasi tersebut. Terlihat penurunan mean OD seiring dengan penurunan konsentrasi biakan. Berdasarkan hasil pengukuran OD ini maka ditetapkan pada penelitian ini digunakan suspensi *S. mutans* dengan konsentrasi  $10^{-6}$  atau S6 pada tabel.

### 5.3. Hasil pengukuran pH pada jam 1- 48

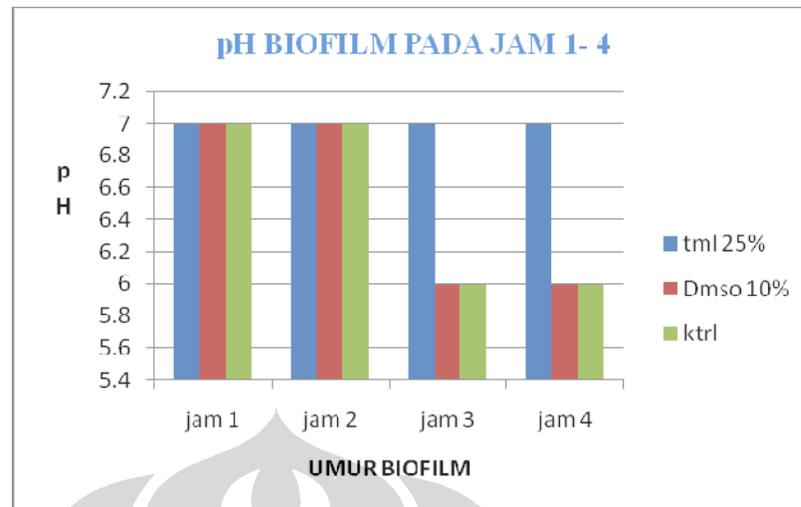


Grafik5.1. pH biofilm *Streptococcus mutans* pada jam 1 – 48

Pada grafik 5.1 terlihat pada jam 1 dan 2 belum terlihat penurunan pH. Pada jam 3 hingga 12 pH mulai mengalami penurunan hingga 6. Pada jam ke 16 pH kembali turun mencapai 5. Tren penurunan pH terjadi hingga jam ke 20, yaitu mencapai 4, namun setelah jam ke 20 tidak terjadi penurunan hingga jam ke 48 pH bertahan pada skala 4.

### 5.4. Hasil uji daya hambat ekstrak Temulawak terhadap penurunan pH biofilm *S.mutans*

Uji ini dilakukan pada 6 well- plate sebagai media menumbuhkan biofilm *S. mutans* dan ditambahkan ekstrak Temulawak 25% serta DMSO 10% sebagai kontrol positif, serta biofilm *S. mutans* tanpa penambahan bahan lain sebagai kontrol negatif. Hasil uji ini dapat dilihat pada grafik 5.2.

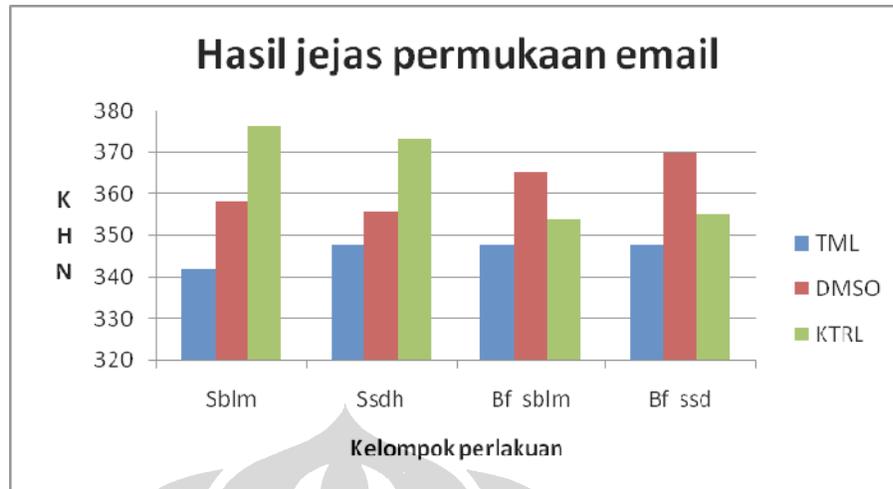


Grafik 5. 2 Hasil pengukuran Ph biofilm selama 4 jam dengan paparan Temulawak 25%, DMSO 10% dan kontrol

Dari Grafik 5. 2 terlihat bahwa pada jam ke 3 terjadi penurunan pH pada biofilm dengan DMSO 10% dan Kontrol menjadi 6, sedangkan pada kelompok yang diberi ekstrak temulawak 25% pH tetap stabil pada 7.

### 5.5. Hasil uji daya hambat ekstrak temulawak terhadap perubahan kekerasan mikro permukaan email

Uji ini bertujuan mengetahui perubahan kekerasan mikro pada permukaan email sebelum dan sesudah perlakuan berupa paparan model biofilm serta efek ekstrak temulawak terhadap perubahan kekerasan mikro email akibat penurunan pH setelah terpapar model biofilm. Hasil jejas email sebelum dan sesudah perlakuan dapat dilihat pada Grafik 5. 3.



Grafik 5.3 Hasil jejas sebelum dan sesudah perlakuan

Pada grafik 5.3 terlihat pada kelompok tanpa biofilm sebelum dan sesudah perlakuan terdapat perubahan. Pada kelompok yang mendapat paparan temulawak kekerasan bertambah setelah perlakuan. Kelompok yang mendapat paparan DMSO 10% terlihat penurunan kekerasan, sedangkan pada yang tidak ada perlakuan terlihat ada penurunan kekerasan. Pada kelompok perlakuan dengan biofilm (bf) terlihat tidak ada perubahan kekerasan pada yang mendapat paparan temulawak, sementara yang mendapat paparan DMSO 10% terlihat ada sedikit peningkatan kekerasan. Pada perlakuan dengan biofilm tanpa pemaparan terlihat peningkatan kekerasan setelah perlakuan. Pada uji statistik dengan uji ANOVA didapatkan  $p = 0,180 < 0,05$  sehingga didapat kesimpulan bahwa perbedaan jejas sebelum dan sesudah perlakuan baik pada kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol tidak bermakna. Standar Deviasi dan mean dapat dilihat pada tabel 5.2.

Tabel 5.2. Mean dan Standar Deviasi hasil jejas

**Hasil uji kekerasan mikro permukaan email sebelum dan setelah paparan ekstrak**

<b>Kelompok</b>	<b>Mean</b>	<b>Std Deviasi</b>
<b>TNONBF1</b>	<b>342.0000</b>	<b>63.33684</b>
<b>TNONBF2</b>	<b>347.9000</b>	<b>11.54171</b>
<b>DMSONBF1</b>	<b>358.2000</b>	<b>18.10954</b>
<b>DMSONBF2</b>	<b>355.9000</b>	<b>20.57750</b>
<b>KNONBF1</b>	<b>376.4000</b>	<b>36.54282</b>
<b>KNONBF2</b>	<b>373.4000</b>	<b>28.79892</b>
<b>TBF1</b>	<b>347.8000</b>	<b>33.40259</b>
<b>TBF2</b>	<b>349.7000</b>	<b>17.08183</b>
<b>DBF1</b>	<b>365.2000</b>	<b>21.43621</b>
<b>DBF2</b>	<b>359.9000</b>	<b>19.60414</b>
<b>KBF1</b>	<b>353.9000</b>	<b>23.76482</b>
<b>KBF2</b>	<b>355.1000</b>	<b>18.89415</b>

Keterangan:

TNONBF : Temulawak non biofilm

DMSONBF : DMSO non biofilm

KNONBF : Kontrol non biofilm

TBF : Temulawak biofilm

DBF : DMSO biofilm

KBF : Kontrol biofilm

## BAB VI

### PEMBAHASAN

*Xanthorrhizol* yang merupakan isolat ekstrak temulawak memiliki kemampuan anti *S. mutans*. *Xanthorrhizol* terdiri dari senyawa fenol dan hidrokarbon.<sup>52</sup> Fenol menyebabkan koagulasi protein dan mengakibatkan lisis sel membran.<sup>53</sup> Berdasar kemampuan ini temulawak memiliki potensi sebagai bahan anti mikroba.

Salah satu mikroba yang dilaporkan dapat dihambat oleh *xanthorrhizol* adalah *S. mutans* yang merupakan bakteri utama penyebab karies. Akan tetapi isolasi suatu zat aktif tanaman obat memerlukan teknologi dan biaya tinggi. Selain itu, sebagai isolat *xanthorrhizol* hanya mengandung satu zat aktif saja sehingga keseluruhan zat aktif temulawak yang mungkin memiliki efek komplementer dan sinergisme tidak dimanfaatkan.<sup>52</sup> Ekstrak temulawak menjadi alternatif bagi pemanfaatan temulawak sebagai tanaman obat yang berpotensi sebagai anti karies. Karenanya penelitian ini menggunakan ekstrak etanol temulawak sebagai upaya mengembangkan tanaman obat asli Indonesia. Penelitian ini menggunakan pelarut etanol karena sifatnya yang tidak toksik dan dapat mengekstraksi lebih banyak *xanthorrhizol* dibandingkan pelarut yang lain.

Penelitian pendahuluan di FKG UI pada *single colony S. Mutans* menunjukkan bahwa KHM ekstrak Temulawak adalah 0,5%, sedangkan KBM ekstrak temulawak adalah 25%.<sup>28</sup> Peningkatan konsentrasi ekstrak temulawak menurunkan viabilitas *S. Mutans* pada biofilm. Akan tetapi pada konsentrasi 25 % ekstrak temulawak belum mampu menekan viabilitas *S. mutans* hingga 0%.<sup>29</sup> Perbedaan kadar efektif ekstrak temulawak terhadap *S. mutans* sebagai *single colony* dan terhadap *S. mutans* di dalam biofilm disebabkan pada biofilm telah terbentuk matriks ekstra selular yang berfungsi sebagai pelindung bagi bakteri yang ada didalamnya. Matriks ini mampu menginaktivasi kerja antibakteri. Pada penelitian ini digunakan ekstrak temulawak konsentrasi 25% yang merupakan KBM terhadap *S. mutans* sebagai *single colony*. Ingin diuji apakah pada kadar efektif sebagai anti bakteri *S. mutans single colony*, ekstrak temulawak mampu

menghambat penurunan pH biofilm sehingga demineralisasi email akibat penurunan pH dapat dicegah. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi 25% ekstrak temulawak mampu menghambat penurunan pH model biofilm pada skala 7 selama 4 jam

Pada penelitian ini digunakan ekstrak temulawak yang telah disentrifugasi 3000 rpm selama 20 menit, serta digunakan supernatan dari ekstrak yang telah disentrifugasi. Sentrifugasi dilakukan karena pada penggunaan ekstrak tanpa sentrifugasi menunjukkan efek bakterisid dan bakteriostatik yang tidak konsisten. Hal tersebut dapat disebabkan tingginya densitas ekstrak temulawak pada konsentrasi lebih besar dari 10% sehingga pengaplikasian ekstrak pada kultur bakteri tidak dapat dilakukan secara konsisten dan akurat. Tingginya densitas temulawak ini karena pada ekstrak yang belum disentrifugasi masih terdapat serbuk temulawak yang banyak mengandung pati.

Hasil uji fitokimia ekstrak temulawak yang digunakan dalam penelitian ini menunjukkan bahwa kandungan minyak atsiri dalam ekstrak temulawak tanpa sentrifugasi adalah 11% dan dengan sentrifugasi adalah 17%. Terbukti bahwa kandungan minyak atsiri pada supernatan ekstrak etanol temulawak yang disentrifugasi lebih banyak dibandingkan pada ekstrak yang belum disentrifugasi. Perbedaan kadar minyak atsiri pada sediaan ekstrak temulawak dengan dan tanpa sentrifugasi dapat disebabkan oleh mengendapnya unsur pati pada larutan ekstrak yang disentrifugasi. Pati merupakan komponen rimpang temulawak yang terbanyak yaitu mencapai 48-54 %<sup>25,52</sup> Sentrifugasi dapat menyebabkan pengendapan komponen pati yang memiliki berat molekul lebih besar dari komponen lain temulawak sehingga pada supernatan ekstrak temulawak yang disentrifugasi kandungan patinya jauh berkurang dan kandungan minyak atsirinya meningkat. Minyak atsiri temulawak, khususnya *xanthorrhizol* yang merupakan antibakteri pada temulawak memiliki berat molekul yang kecil, sehingga pada saat sentrifugasi berada pada supernatan dari ekstrak yang disentrifugasi.

Dari penelitian terdahulu diketahui bahwa *xanthorrhizol* dapat mempertahankan pH biofilm *S. mutans* pada kisaran 7 selama 4 jam. Tetapi belum dilaporkan bahwa efek yang sama juga ditunjukkan oleh temulawak dalam bentuk

sediaan ekstrak. Zat aktif utama temulawak yang bersifat antimikroba adalah *xanthorrhizol*, sedangkan di dalam ekstrak temulawak selain minyak atsiri yang mengandung *xanthorrhizol*, juga terkandung unsur pati dan kurkumin.<sup>25</sup>

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa temulawak dalam bentuk sediaan ekstrak etanol dengan konsentrasi 25% juga memiliki kemampuan mempertahankan pH stabil pada skala 7 selama 4 jam. Sebaliknya biofilm yang tidak diberi temulawak mengalami penurunan pH mulai di jam ke 3. Sampai dengan jam keempat, model biofilm yang tidak diberi ekstrak temulawak menunjukkan bahwa penurunan pH tetap berada di kisaran 6. Pada uji untuk mendapatkan data dasar, pada biofilm *S. mutans* tanpa penambahan ekstrak temulawak didapati penurunan pH pada jam ke 16 mencapai 5. Pada penelitian ini penurunan pH yang terjadi pada model biofilm belum konsisten, hal ini mengindikasikan bahwa model biofilm *S. mutans* pada penelitian ini belum standar, walaupun dilakukan dengan metode yang sama. Penurunan pH model biofilm yang dibuat dalam penelitian ini tidak konsisten, pada uji pertama dapat mencapai pH 5 pada jam ke 16, sedangkan pada uji kedua pH biofilm tetap 6 sampai jam ke 16. Perlu penelitian lebih lanjut untuk memperbaiki model biofilm yang dihasilkan sehingga diperoleh model biofilm yang secara konsisten mengalami penurunan pH sampai dengan 5 pada durasi tertentu.

Proses karies yang terjadi pada jaringan keras gigi yang tersusun dari kristal hidroksiapatit yang memiliki rumus  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  dimulai pada pH kritis 5,5. Pada pH kritis proses demineralisasi email dimulai dan akan terus berlangsung bila tidak diimbangi proses remineralisasi.<sup>6</sup> Usaha mencegah terjadinya karies dengan mempertahankan pH di atas pH kritis menjadi satu hal yang penting.

Pada penelitian ini digunakan uji kekerasan mikro untuk mengetahui efek ekstrak temulawak menghambat demineralisasi email yang disebabkan oleh asam laktat yang dihasilkan oleh biofilm *S. mutans* di dalam biofilm. Hasil uji kekerasan pada penelitian ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan perubahan kekerasan mikro permukaan email antara kelompok yang terpapar ekstrak temulawak dengan kelompok kontrol. Efek ekstrak temulawak terhadap demineralisasi email akibat biofilm *S. mutans* belum dapat diketahui dalam

penelitian ini karena bahkan pada kelompok kontrol (yang tidak terpapar ekstrak temulawak) tidak terlihat adanya perubahan kekerasan email antara sebelum dan sesudah perlakuan. Perlakuan adalah pemaparan email dengan model biofilm *S. mutans*.

Terdapat beberapa kemungkinan tentang mengapa hal ini dapat terjadi. Kemungkinan pertama disebabkan kurang lamanya waktu antara pengukuran kekerasan sebelum dan sesudah perlakuan. Dalam penelitian ini perbedaan kekerasan email diukur setelah durasi 4 jam perlakuan. Kemungkinan waktu 4 jam belum cukup lama untuk terjadinya demineralisasi email yang signifikan, sehingga belum menyebabkan perubahan kekerasan email. Kemungkinan kedua adalah pada pengukuran pH dari jam ke 1 s/d jam ke 48 diketahui bahwa pada jam ke 16 mulai terjadi penurunan pH dari 7 menjadi 5, sehingga diasumsikan pada jam ke 16 mulai terjadi demineralisasi email. Akan tetapi ternyata pada uji efek ekstrak temulawak terhadap perubahan kekerasan email yang terpapar biofilm pada penelitian ini, pH pada jam ke 16 adalah 6, sehingga kemungkinan memang belum terjadi demineralisasi email karena email belum mencapai pH kritis.

## BAB VII

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 7.1. Kesimpulan

Ekstrak Temulawak 25% terbukti berhasil mempertahankan pH biofilm *Streptococcus mutans* pada skala 7 selama 4 jam. Dalam penelitian ini ekstrak temulawak tidak mempengaruhi kekerasan mikro permukaan email yang terpapar biofilm *S. mutans*.

#### 7.2. Saran

Untuk pengembangan penelitian efek ekstrak temulawak sebagai anti bakteri penyebab karies, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk meningkatkan metode pembuatan model biofilm sehingga dapat dihasilkan model biofilm yang secara konsisten menyebabkan penurunan pH sampai ke pH kritis sesuai fase pembentukan biofilm dan durasinya. menentukan lamanya waktu paparan yang memadai untuk terjadinya demineralisasi email seperti yang terjadi pada proses karies. Juga perlu dilakukan pengukuran perubahan kekerasan email yang terpapar biofilm dengan antara waktu pengukuran yang lebih panjang, tidak hanya dalam selisih 4 jam tetapi sampai selisih waktu 48 jam,

Untuk mengkonfirmasi efek ekstrak temulawak terhadap demineralisasi email akibat biofilm *S. mutans*, juga perlu dilakukan uji kelarutan kalsium dan berbagai uji lain yang lebih sensitif yang dapat menandai perubahan struktur mikro email akibat terjadinya proses demineralisasi.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan Republik Indonesia. *Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2007*. Desember 2008
2. Lelly andayasari, *Faktor-faktor yang Mempengaruhi Terjadinya Karies Berdasar Data Riskesdas 2007*; Puslitbang Biomedis dan Farmasi, Kemenkes RI 2007
3. Gunawan, Harun A, *Pengaruh perubahan kristal apatit, tingkat retensi dan intrusi fluor terhadap kelarutan email setelah perlakuan larutan ikan teri jengki*, Disertasi, Program Doktor Ilmu Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia, 2006
4. Van Amerongen JP, Van Loveren C, Kidd EAM. Caries Management: Diagnosis and Treatment Strategies *In: Summitt JB, Robbins JW, Schwartz (ed) Fundamentals of Operative Dentistry – A Contemporary Approach*. 2<sup>nd</sup> ed. London: Quintessence Publishing Co, Inc. 1999: 70-88.
5. Nishikawara F, et.al. Correlation of cariogenic bacteria and dental caries in adult. *J.of Oral Science*, vol 48, No.4, 2006, 245-251
6. Ngo H, Gaffney S. Risk Assessment in the Diagnosis and Management of Caries *In: Mount GJ, Hume WR. Preservation and Restoration of Tooth Structure*. 2<sup>nd</sup> Ed. Queensland: Knowledge Books and Software; 2005: 62-79.
7. Fejerskov O, Kidd EAM. *Dental Caries, Diseases and it's Clinical management*, Munksgaard; Blackwell Publ Co. 2003
8. Axelsson JE. *An Introduction to Risk Prediction and Preventive Dentistry*. Illinois; Quintessence Publ Co. 1999
9. Barira Islam; et al, *Dental Caries: From Infection to Prevention*, Med Sci Monit, 2007; 13(11): RA196-203
10. Avery JK. *Essentials of Oral Histology and Embryology* St.Louis. Mosby; 1992.
11. Rudy C. Melfi, Keith E. Alley. Permar, *Oral Embryology and Microscopic Anatomy*; Lippincott Williams & Wilkins( publisher), 10<sup>th</sup> edition , 2000

12. Mc Intyre JM. Dental Caries- The Major Cause of Tooth Damage *Preservation and Restoration of Tooth Structure*. 2<sup>nd</sup> Ed. Queensland: Knowledge Books and Software; 2005: 21-33.
13. Endang Suprastiwi. Efek Antimikroba Polifenol dari Teh Hijau Jepang terhadap *Streptococcus Mutans*. Dep.I.Konservasi Gigi FKG-UI
14. Dalimartha, setiawan, *Atlas ,tumbuhan obat Indonesia*
15. Didik Gunawan dkk, *Tumbuhan Obat Indonesia.*, PPOT UGM, 1998
16. Wikipedia Indonesia, *Temulawak*, [http://id.wikipedia.org/wiki/Temu\\_lawak](http://id.wikipedia.org/wiki/Temu_lawak) Diunduh pada 12 Desember 2010
17. Khaerana, Munif Ghulamahdi , Edi Djauhari Purwakusumah; *Pengaruh Cekaman Kekeringan dan Umur Panen Terhadap Pertumbuhan dan Kandungan Xanthorrhizol Temulawak (Curcuma xanthorrhiza roxb.)*, Bul. Agron. (36) (3) 241 – 247 (2008)
18. Anonim, *Suara Merdeka Cyber News, Temulawak Mampu Hambat Sel Kanker*, diunduh pada 29/05/2010, [http://www.suaramerdeka.com/beta1/index.php?fuseaction=news.detailNews&id\\_news=6737](http://www.suaramerdeka.com/beta1/index.php?fuseaction=news.detailNews&id_news=6737)
19. J.-K. Hwang, et.al, *Xanthorrhizol from Curcuma xanthorrhiza as a novel anticariogenic agent against Streptococcus mutans*, San Diego Convention Center Exhibit Hall, Thursday, 7 March 2002
20. Hwang, Jae-kwan, *Antibacterial composition having xanthorrhizol*, United States Patent 6696404, Publication Date:02/24/2004
21. Y. Rukayadi; J. K. Hwang, *In vitro activity of xanthorrhizol against Streptococcus mutans biofilms* Journal compilation 2006 The Society for Applied Microbiology, Letters in Applied Microbiology 42 (2006) 400–404
22. Kim, Jung-Eun, et.al; *Antibacterial Characteristics of Curcuma xanthorrhiza Extract on Streptococcus mutans Biofilm*, The Journal of Microbiology / vol.46, no.2, 2008, hal.228-232
23. Rizky Primeir M, Efek Antibakteri ekstrak etanol Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb*) terhadap *Streptococcus mutans* (In vitro), skripsi, FKG UI, 2011

24. Rini Rahmawati, Efek antibakteri ekstrak etanol Temulawak terhadap viabilitas *Streptococcus mutans* dalam biofilm (In vitro), skripsi, FKG UI, 2011
25. Anggakusuma, et.al, *Estrogenic Activity of Xanthorrhizol Isolated from Curcuma xanthorrhiza ROXB*, . *Biol. Pharm. Bull.* **32**(11) 1892—1897 (November 2009)
26. Anonim, *Sembilan tanaman obat unggulan hasil uji klinis Badan POM*, <http://anekaplanta.wordpress.com/2008/03/02/sembilan-tanaman-obat-unggulan-hasil-uji-klinis-badan-pom/> Diunduh pada 30 Oktober 2010
27. Afifah E. Temulawak :Khasiat dan Manfaat Temulawak Rimpang Penyembuh Aneka Penyakit. 3rd ed. T L, editor. Depok: Pesona Depok; 2003.p.1-14.
28. Damayanti R. Uji Efek Sediaan Serbuk Instan Rimpang Temulawak terhadap Mencit Jantan Galur Swiss Webster: Universitas Muhammadiyah Surakarta; 2008
29. Sidik, MW M, Muhtadi A. Temulawak ( *Curcuma xanthorrhiza Roxb*). Yayasan pengembangan obat bahan alam Phytomedica; 2004
30. Sylviana Husein, Adolf Parhusip, Elisa Friska Romasi; *Study on Antibacterial Activity from “Temulawak” (Curcuma xanthorrhiza Roxb.) Rhizomes against Pathogenics Microbes Cell Destruction*, Journal of Applied and Industrial Biotechnology in tropical region, Vol. 2, No.1, Apr 2009 ISSN:1979-9748 (Special Edition)
31. Sondang Pintauli, Hamada, Taizo; *Menuju gigi dan mulut sehat: Pencegahan dan Pemeliharaan*, Edisi Pertama, USU Press 2008
32. Grossman LI. *Endodontic Practice*. 11 ed. Philadelphia, Pennsylvania: Lea & Febiger; 1998
33. Sluder, T.B;. *Clinical Dental Anatomy, Histology, Physiology and Occlusion*. Cv. Mosby company, 2001
34. Prasetyo, EA. Keasaman Minuman Ringan Menurunkan Kekerasan Permukaan Gigi. *Den J.* 2005, Vol. 38: 60-63
35. Andrew Joiner CIP, et.al; A Novel Optical Approach to Achieving Tooth Whitening. *Journal of Dentistry* 2008; 36s s8-s14

36. Pickles M. InVitro Efficacy of a Whitening Tooth Paste Containing Calcium Carbonate and Perlite. *International Dental Journal* 2005; 54: 197-202
37. Anusavice KJ. *Mechanical Properties of Dental Materials*. Phillips science of Dental Materials. 10 ed. Philadelphia, Pennsylvania: W.B. Saunders Company; 1996
38. Craig RG, Powers JM. *Mechanical Properties. Restorative Dental Materials*. 11 ed. St. Louis, Missouri. Mosby Inc; 2002
39. Phillips RW, Moore BK. *Properties Of Dental Materials: Permanent Deformation, Rheology, Thermal Properties, and Colour. Elements Of Dental Materials for Dental Hygienists and Dental assistants*. 5. Ed. Philadelphia, Pennsylvania: WB Saunders Company; 1994
40. O' Brian WJ *Physical Properties. Dentals Materials and Their Selection*. 3 ed. Carol Stream, IL: Quintessence Pubishing Co, Inc; 2002
41. Gutierrez- Salazar MdP, Reyes- Gasga J. Microhardness and Chemical composition of human tooth. *Materials Research Journal*. 2003; Vol. 6: 1-10
42. Samuel SMW, Rubinstein C. Microhardness of Enamel Restored with Fluoride and Non- Fluoride Releasing Dental Materials. *Braz Dent J*. 2001; 12(2): 35 – 38
43. Gunawan HA. *Gambaran celah prisma email pada aplikasi asam fosfat dengan variable waktu*. Tesis. Fakultas Pascasarjana Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar Universitas Indonesia. Jakarta 1989
44. Wen TZ, Yates D, Ahn SJ, Burne RA. Biofilm formation and virulence expression by *Streptococcus mutans* are altered when grown in dual-species mode. *BMC Microbiology*. 2010;10:111.
45. K. Hojo et al. Bacterial Interactions within Dental Biofilms. *J Dent Res* 88(11) [Critical Reviews In Oral Biology & Medicine]. 2009:982-990
46. Vacca- Smith AM, Bowen WH. In Situ Studies of Pellicle Formation on Hydroxyapatite Discs. *Archs Oral Biol*. 2000; 45: 277 – 291
47. Coykendall AL. Four Types of *Streptococcus mutans* Based on Their Genetic, Antigenic and Biochemical Characteristics. *Microbiology*. 1974; 83(2): 327-338

48. Nakano K, Nomura R, Nemoto H, Lapidattanakul J, Taniguchi N, Grönroos L, et al. Protein Antigen in Serotype k *Streptococcus mutans* Clinical Isolates. J Dent Res. 2008; 87(10):964-8.
49. Michalek SM; Mc Ghee JR. Dental Microbiology, Harper & Row, 1982
50. Roeslan B dan Errawan M. Sintesis Glukan Oleh Glycosyl Transferase *Streptococcus Mutans*: Mekanisme Pembentukan Plak Gigi. *Majalah ilmiah FKG Usakti*. Th III No. 9. Universitas Trisakti, 1988
51. Sembiring BB, Ma'mun, Ginting El. Pengaruh Kehalusan Bahan dan Lama Ekstraksi Terhadap Mutu Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb*). Ballitro. 2006; XVII(2):53-8
52. Sri Purnomowati, *Khasiat Temulawak*, [http://www.indofarma.co.id/index.php?option=com\\_content&task=view&id=21&Itemid=125](http://www.indofarma.co.id/index.php?option=com_content&task=view&id=21&Itemid=125)
53. Dr. K. W. Quirin, *Herbal Extracts in Support of Natural Cosmetics Preservation*, Cosmetic Science Technology 2007
54. Parwata IMO, P. Fanny SD. Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri dari Rimpang Lengkuas (*Alpinia galanga L.*). Jurnal Kimia. 2008; 2(2): 100-4.
55. Boesro Soebagyo, dkk, Pembuatan sediaan krim antiakne ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza Roxb*), FMIPA Unpad, Bandung 2006
56. Ditjen POM. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 2000. p.13-21.
57. Irma Irawati. Perbandingan Metode Penentuan Aktivitas Antioksidan Rimpang Temulawak: IPB; 2008.
58. Irmaleny; Pengembangan *Jathropa curcas Linnaeus* menuju obat herbal terstandar serta pengaruhnya terhadap kadar *Substance P(SP)* dan *COX-2* pada hewan coba( *In vivo*), Disertasi, Program Doktor Ilmu Kedokteran Gigi

## Lampiran 1 Hasil uji statistik

## ANOVA

DATA1

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9325.733	5	1865.147	1.585	.180
Within Groups	63548.200	54	1176.819		
Total	72873.933	59			

## Multiple Comparisons

Dependent Variable: DATA1

Bonferroni

(I) JNS1	(J) JNS1	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1.00	2.00	-5.9000	15.34157	1.000	-53.0201	41.2201
	3.00	-16.2000	15.34157	1.000	-63.3201	30.9201
	4.00	-13.9000	15.34157	1.000	-61.0201	33.2201
	5.00	-34.4000	15.34157	.436	-81.5201	12.7201
	6.00	-31.4000	15.34157	.683	-78.5201	15.7201
2.00	1.00	5.9000	15.34157	1.000	-41.2201	53.0201
	3.00	-10.3000	15.34157	1.000	-57.4201	36.8201
	4.00	-8.0000	15.34157	1.000	-55.1201	39.1201
	5.00	-28.5000	15.34157	1.000	-75.6201	18.6201
	6.00	-25.5000	15.34157	1.000	-72.6201	21.6201
3.00	1.00	16.2000	15.34157	1.000	-30.9201	63.3201
	2.00	10.3000	15.34157	1.000	-36.8201	57.4201
	4.00	2.3000	15.34157	1.000	-44.8201	49.4201
	5.00	-18.2000	15.34157	1.000	-65.3201	28.9201
	6.00	-15.2000	15.34157	1.000	-62.3201	31.9201
4.00	1.00	13.9000	15.34157	1.000	-33.2201	61.0201
	2.00	8.0000	15.34157	1.000	-39.1201	55.1201
	3.00	-2.3000	15.34157	1.000	-49.4201	44.8201
	5.00	-20.5000	15.34157	1.000	-67.6201	26.6201
	6.00	-17.5000	15.34157	1.000	-64.6201	29.6201
5.00	1.00	34.4000	15.34157	.436	-12.7201	81.5201
	2.00	28.5000	15.34157	1.000	-18.6201	75.6201
	3.00	18.2000	15.34157	1.000	-28.9201	65.3201
	4.00	20.5000	15.34157	1.000	-26.6201	67.6201
	6.00	3.0000	15.34157	1.000	-44.1201	50.1201
6.00	1.00	31.4000	15.34157	.683	-15.7201	78.5201
	2.00	25.5000	15.34157	1.000	-21.6201	72.6201
	3.00	15.2000	15.34157	1.000	-31.9201	62.3201
	4.00	17.5000	15.34157	1.000	-29.6201	64.6201
	5.00	-3.0000	15.34157	1.000	-50.1201	44.1201

## Lampiran 2 Tabel

Hasil kultur untuk persiapan Optical Density

Konsentrasi	Koloni 1	Koloni 2	Rata-rata
$10^{-1}$	10176	9382	9779
$10^{-2}$	3071	4873	3972
$10^{-3}$	1961	2378	2169.5
$10^{-4}$	340	194	267
$10^{-5}$	34	28	31
$10^{-6}$	2	6	4
$10^{-7}$	1	1	1
$10^{-8}$	0	0	0
$10^{-9}$	0	0	0
$10^{-10}$	0	0	0

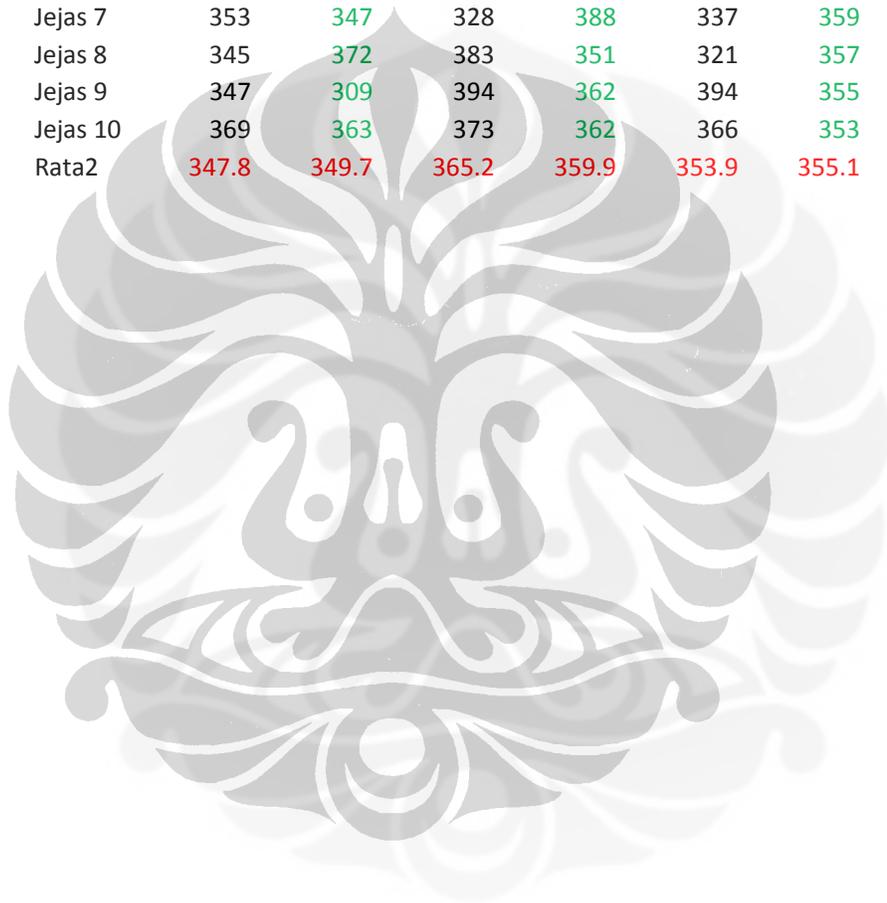
Hasil jejas email sebelum dan sesudah perlakuan pada kelompok kontrol

	Tmlwk 25%		DMSO 10 %		Kontrol	
Jejas 1	291	346	365	340	369	370
Jejas 2	479	326	363	344	358	403
Jejas 3	270	345	336	349	397	404
Jejas 4	303	348	348	321	407	393
Jejas 5	373	347	351	374	377	350
Jejas 6	308	364	390	345	325	390
Jejas 7	368	354	346	393	324	395
Jejas 8	284	366	336	361	445	354
Jejas 9	366	342	381	373	389	315
Jejas 10	378	341	366	359	373	360
Rata2	342	347.9	358.2	355.9	376.4	373.4

(lanjutan)

## Hasil jejas kelompok perlakuan

	Tmlwk 25%		DMSO 10 %		Kontrol	
Jejas 1	348	348	348	376	376	403
Jejas 2	265	354	375	353	326	359
Jejas 3	374	354	381	320	352	335
Jejas 4	356	352	378	359	351	338
Jejas 5	389	338	345	382	376	343
Jejas 6	332	360	347	346	340	349
Jejas 7	353	347	328	388	337	359
Jejas 8	345	372	383	351	321	357
Jejas 9	347	309	394	362	394	355
Jejas 10	369	363	373	362	366	353
Rata2	347.8	349.7	365.2	359.9	353.9	355.1



## Lampiran 3 Surat Lolos Etik



**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: 102/Ethical Clearance/FKGUI/II/2012

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

Judul : "Kapasitas Ekstrak Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza Roxb*) sebagai Anti *Streptococcus Mutans* Dalam Menghambat Demineralisasi Email (in vitro)"

Nama Peneliti : Handoko Tirta 0906576063

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

Jakarta, 21 Februari 2012  
Ketua Komisi Etik Penelitian/FGUI,

Mengetahui:  
Dekan FKGUI,

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

drg. Anton Rahardjo, MKM, PhD  
NIP. 195406021983031002

Universitas Indonesia

## Lampiran 4 Hasil Uji Fitokimia BALLITRO Ekstrak Temulawak

### LABORATORIUM BALAI PENELITIAN TANAMAN OBAT DAN AROMATIK

Jln. Tentara Pelajar No. 3 Kampus Penelitian Pertanian Cimanggu, Bogor 16111  
Telp (0251) 8321879 Fax. (0251) 8327010 E-mail : balitro@telkom.net

DF 5.10.1.2.

#### LAPORAN HASIL UJI

No. Adm . : 441/T/LAB/VIII/11

Kepada Yth.  
**Nadia**  
Universitas Indonesia, Jakarta

Kondisi/Identifikasi Contoh : Simplisia  
Tanggal Penerimaan : 8 Agustus 2011  
Tanggal Pengujian : 10 & 18 Agustus 2011

No	Jenis Contoh	Jenis Pengujian/Pemeriksaan	Hasil Pengujian/Pemeriksaan (No. contoh/kode)	Metode Pengujian
	Temulawak	Ekstrak dgn etanol 95% - Rendemen (%)	14,54	Maserasi
		<b>Analisis :</b> - Kadar air (%) - Kadar minyak atsiri (%)	6,81 4,75	Destilasi Destilasi

Bogor, 20 Agustus 2011  
Manajer Teknis

Ma'mun, S.Si

## Lampiran 5 Hasil Uji Fitokimia BPOM RI Ekstrak Temulawak Sentrifugasi



### KEMENTERIAN KESEHATAN RI BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN PUSAT BIOMEDIS DAN TEKNOLOGI DASAR KESEHATAN

Jalan Percetakan Negara No. 23 Jakarta 10560  
Kotak Pos 1226 Jakarta 10012

Telepon (021) 42881758, 42881763, 42881762, 42881745  
Fax (021) 42881754

#### LAPORAN PENGUJIAN HASIL PEMERIKSAAN LABORATORIUM FARMASI NO. CONTOH. 09

Nama sediaan contoh : Temulawak  
Jenis contoh : Ekstrak Temu Lawak Centrifuge  
Nomor Laboratorium : 09/XI/2011  
No Bets/kode produksi :  
Kemasan : Tube  
Komposisi :

Pengirim contoh : 7 November 2011  
Jumlah contoh yang diterima : 30 gr  
No. dan tgl surat pengiriman : 7 November 2011  
Contoh diterima tanggal : 9 November 2011

#### Hasil Pengujian Minyak Atsiri

No	Jenis Pengujian	Hasil	Syarat	Metoda	Pustaka
1	Pemerian	Kuning, Coklat kehitaman	-	Organoleptis	-
2	Minyak Atsiri	17.85 %	-	Destilasi	FI IV

Laporan hasil pengujian ini  
Dikeluarkan pada tanggal : 21 Nopember 2011

Manajer Teknis

Dra. Ani Israwati, M.Kes, Apt  
NIP. 195509011985032001

Manajer Mutu

Dra. Pudji Lastari, Apt  
NIP. 195704191983032001

Universitas Indonesia

## Lampiran 6 Hasil Uji Fitokimia BPOM RI Ekstrak Temulawak Non-Sentrifugasi



### KEMENTERIAN KESEHATAN RI BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN PUSAT BIOMEDIS DAN TEKNOLOGI DASAR KESEHATAN

Jalan Percetakan Negara No. 23 Jakarta 10560  
Kotak Pos 1226 Jakarta 10012

Telepon (021) 42881758, 42881763, 42881762, 42881745  
Fax (021) 42881754

#### LAPORAN PENGUJIAN HASIL PEMERIKSAAN LABORATORIUM FARMASI NO. CONTOH. 08

Nama sediaan contoh : Temulawak  
Jenis contoh : Ekstrak Temu Lawak Non Centrifuge  
Nomor Laboratorium : 08/XI/2011  
No Bets/kode produksi :  
Kemasan : Tube  
Komposisi :

Pengirim contoh : 7 November 2011  
Jumlah contoh yang diterima : 22 gr  
No. dan tgl surat pengiriman : 7 November 2011  
Contoh diterima tanggal : 9 November 2011

#### Hasil Pengujian Minyak Atsiri

No	Jenis Pengujian	Hasil	Syarat	Metoda	Pustaka
1	Pemerian	Kuning Coklat kehitaman	-	Organoleptis	-
2	Minyak Atsiri	10.71 %	-	Destilasi	FI IV

Laporan hasil pengujian ini  
Dikeluarkan pada tanggal : 21 Nopember 2011

Manajer Teknis

Dra. Ani Israwati, M.Kes, Apt  
NIP. 195509031985032001



Manajer Mutu

Dra. Pudji Lastari, Apt  
NIP. 195704191983032001

Universitas Indonesia

## Lampiran 7 Foto-Foto Penelitian



Vortex



Autoklaf



Inkubator



Visible Spectrofotometer



Kuvet Spectrofotometer



Thermal Cyclcer tube / PCR tube



DNA Thermal Cycler



Horizontal Electrophoresis Unit (BioRad)

(lanjutan)



*Ultraviolet Transiluminator Unit (BioRad)*



*microplate reader*



*Ultrasonic cleaner*



*Polishing and Grinding*



*Sampel dalam resin dekoratif*



*Sampel kelompok perlakuan*