



UNIVERSITAS INDONESIA

**KUANTIFIKASI SERTA DISTRIBUSI SEROTIPE
STREPTOCOCCUS MUTANS DAN *STREPTOCOCCUS SOBRINUS*
DARI SAMPEL PLAK DAN SALIVA**

**Analisis pada Penderita Resesi Gingiva dengan
Dentin Hipersensitif Menggunakan *Real Time PCR***

TESIS

**DEWI SAPUTRI
0906601115**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
DEPARTEMEN PERIODONSIA
JAKARTA
Juni 2012**



UNIVERSITAS INDONESIA

**KUANTIFIKASI SERTA DISTRIBUSI SEROTIPE
STREPTOCOCCUS MUTANS DAN *STREPTOCOCCUS SOBRINUS*
DARI SAMPEL PLAK DAN SALIVA**

**Analisis pada Penderita Resesi Gingiva dengan
Dentin Hipersensitif Menggunakan Real Time PCR**

TESIS

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Spesialis dalam
Bidang Ilmu Kedokteran Gigi Program Studi Periodonsia**

**DEWI SAPUTRI
0906601115**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
DEPARTEMEN PERIODONSIA**

JAKARTA

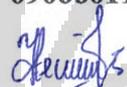
Juni 2012

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Dewi Saputri

NPM : 0906601115

Tanda Tangan : 

Tanggal : 28 Juni 2012

HALAMAN PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh

Nama : Dewi Saputri
NPM : 0906601115
Program Studi : Periodonsia
Judul Tesis : Kuantifikasi serta Distribusi Serotipe *Streptococcus mutans* dan *Streptococcus sobrinus* dari Sampel Plak dan Saliva
Analisis pada Penderita Resesi Gingiva dengan Dentin Hipersensitif menggunakan *Real Time PCR*

Telah berhasil dipertahankan dihadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Spesialis Periodonsia pada Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Periodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I / : Dr. Sri Lelyati C. Masulili, drg.,SU.,SpPerio(K) ()
Anggota Penguji

Pembimbing II / : Hari Sunarto, drg., SpPerio(K) ()
Anggota Penguji

Pembimbing III / : Prof. Boy M. Bachtiar, drg., MS., PhD ()
Anggota Penguji

Ketua Tim Penguji : Irene Sukardi, drg., SpPerio(K) ()

Anggota Penguji : Dr. Yuniarti Syafril, drg., SpPerio(K) ()

Anggota Penguji : Natalina, drg., SpPerio(K) ()

Ditetapkan di : Jakarta

Tanggal : 28 Juni 2012

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, atas segala berkah, rahmat dan bimbinganNya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang merupakan suatu syarat pencapaian gelar Spesialis Periodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia dengan baik. Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada seluruh pihak yang telah menjadi motivator dalam terus berkarya dan berprestasi, yaitu:

1. Dr. Sri Lelyati C. Masulili, drg., SU., SpPerio(K) selaku dosen pembimbing I dan Kepala Departemen Periodonsia FKG UI yang telah dengan sabar menyediakan waktu, tenaga dan pikirannya untuk membantu penulis dalam membimbing, menyusun, dan menyelesaikan tesis ini.
2. Hari Sunarto, drg., SpPerio(K) selaku dosen pembimbing II yang telah menyediakan waktu, tenaga, pikiran dan saran yang sangat berharga dalam penyusunan tesis ini.
3. Prof. Boy M. Bachtiar, drg., MS., PhD selaku dosen pembimbing III yang telah dengan sabar menyediakan waktu, tenaga dan pikirannya untuk membantu penulis dalam melaksanakan penelitian di laboratorium dan dalam penyusunan tesis ini.
4. Chaidar Masulili, drg., SpPros(K) selaku Direktur Rumah Sakit Gigi dan Mulut Pendidikan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia. Terima kasih atas fasilitas dan sarana yang tersedia di RSGMP dalam pengambilan sampel penelitian.
5. Yulianti kemal, drg., SpPerio(K) selaku Kodik PPDGS Periodonsia FKG UI yang telah begitu baik dan sabar dalam memberikan arahan, bimbingan dan motivasi selama masa pendidikan.
6. Dua guru besar Bagian Periodonsia FKG UI yang penulis hormati, Prof. S.W. Prayitno, drg., SKM., MScD., PhD., SpPerio(K) dan Prof. Dr. Dewi

Nurul Mustaqimah, drg., MS., SpPerio(K). Terima kasih untuk ilmu dan nasihat yang sangat bermanfaat bagi penulis.

7. Staf dosen bagian periodonsia FKG UI: Irene Sukardi, drg., SpPerio(K); Dr. Yuniarti Syafril, drg., SpPerio(K); Robert Lessang, drg., SpPerio(K); Natalina, drg., SpPerio(K); Fatimah Maria Tadjoeidin, drg., SpPerio; Antonius Irwan, drg., SpPerio; Dedy Yudha Rismanto, drg., SpPerio; Felix Hartono, drg., SpPerio yang telah memberikan ilmu dan bimbingannya selama pendidikan dengan penuh sabar, pengertian dan perhatian.
8. Tenaga laboran di Laboratorium Oral Biologi FKG UI, Maysyarah, SSI dan Dessy, SSI atas segala ilmu, tenaga dan kesabarannya dalam membantu penulis menyelesaikan penelitian ini.
9. Teman-teman sejawat dan seperjuangan PPDGS Periodonsia 2009: Fira Rafini, drg; Aini Hariyani, drg; Nazzla Camelia, drg; Mesakh Alvin, drg; Aulia Yudha Prawira, drg; Stefani Andini, drg; Airina Lucia, drg; Riani, drg, terima kasih atas kebersamaan kita yang penuh warna selama ini.
10. Teman-teman PPDGS Periodonsia 2008: John Gunawan, drg dan Mira Madjid, drg, PPDGS Periodonsia 2010, PPDGS Periodonsia 2011 dan para alumni. Semoga persahabatan kita tetap terjalin dengan indah.
11. Pak Satimin dan mbak Sumarni atas ilmu, kesabaran dan bantuannya dalam pelaksanaan tugas di klinik periodonsia serta mbak Marleni atas bantuannya selama ini.
12. Staf perpustakaan FKG UI: pak Yanto, pak Enoh dan pak Asep atas bantuan dalam pencarian literatur, fotocopi dan lainnya selama program pendidikan.
13. Suamiku tercinta: Robby Syah Putra, terima kasih atas segala kesabaran, motivasi, dukungan, bimbingan dan biaya kuliahnya selama ini serta bantuan dalam merawat dan membimbing anak kita Risyad ditengah kesibukan yang juga sangat padat. Anak-anakku tersayang: Risyad dan Emir, terima kasih karena telah menjadi sumber semangat, kekuatan dan

kebahagiaan dalam hidup bunda, maaf atas kurangnya waktu dan perhatian buat kalian selama bunda menjalani masa pendidikan, semoga kelak kalian bisa meraih ilmu yang lebih tinggi dari bunda.

14. Orang tua penulis: Ilyas Mahmud dan Rosmanidar (almh), terima kasih atas doa, dukungan dan bimbingan selama ini.
15. Semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan pendidikan dan pembuatan tesis ini dan tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, semoga Allah SWT akan membalas semua kebaikan itu. Semoga tesis ini dapat membawa manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan dan kemajuan bidang periodonsia di masa yang akan datang.

Jakarta, 28 Juni 2012

Penulis

**LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

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

Nama : Dewi Saputri
NPM : 0906601115
Program Studi : Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Periodonsia
Departemen : Periodonsia
Fakultas : Kedokteran Gigi
Jenis karya : Tesis

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui dan memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif (Non-exclusive Royalti Free Right)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

Kuantifikasi serta Distribusi Serotipe *Streptococcus mutans*
dan *Streptococcus sobrinus* dari sampel Plak dan Saliva.
Analisis pada Penderita Resesi Gingiva dengan
Dentin Hipersensitif menggunakan *Real Time PCR*.

beserta perangkat yang ada (bila diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Non Eksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalih media/format-kan, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data (database), mendistribusikannya dan menampilkan/mempublikasikannya di Internet atau media lain untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta. Segala bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran Hak Cipta dalam karya ilmiah ini menjadi tanggung jawab saya pribadi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Jakarta
Pada Tanggal : 28 Juni 2012
Yang membuat pernyataan,



(Dewi Saputri)

ABSTRAK

Nama : Dewi Saputri
Program Studi : Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Periodonsia
Judul : Kuantifikasi serta Distribusi Serotipe *Streptococcus mutans* dan *Streptococcus sobrinus* dari Sampel Plak dan Saliva. Analisis pada Penderita Resesi Gingiva dengan Dentin Hipersensitif menggunakan *Real Time PCR*

Latar Belakang : Resesi gingiva penyebab dentin hipersensitif (DH). *Streptococcus mutans* dan *Streptococcus sobrinus* pada plak menghasilkan asam. Produk asam menyebabkan demineralisasi akar gigi.

Tujuan: Menganalisis jumlah serta distribusi *S. mutans* dan *S. sobrinus* dari plak dan saliva penderita resesi gingiva dengan DH dan non sensitif.

Metode: Dari sampel saliva dan plak subjek DH dan non sensitif diperiksa jumlah *S. mutans* dan *S. sobrinus* menggunakan *real-time PCR* dengan *SYBR Green*.

Hasil: Jumlah *S. mutans* lebih banyak pada plak DH daripada non sensitif, *S. sobrinus* lebih banyak pada saliva non sensitif.

Kesimpulan: Jumlah *S. mutans* lebih banyak pada plak penderita DH.

Kata Kunci: Resesi Gingiva, Dentin Hipersensitif dan Non Sensitif, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *real-time PCR*

ABSTRACT

Name : Dewi Saputri
Study Program : Specialist Dentistry Educational Program on Periodontology
Title : Quantification and serotype distribution of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* from dental plaque and saliva samples.
Analysis in patients gingival recession with dentine hypersensitivity using real-time PCR

Background : Gingival recession cause of dentine hypersensitivity (DH). *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in dental plaque will produce of acid. Acid can cause demineralization that involved in hypersensitivity.

Objectives : To analyze the amount and distribution of *S. mutans* and *S. sobrinus* from plaque and saliva in patients with DH and non sensitive.

Methods : *S. mutans* and *S. sobrinus* from saliva and plaque samples was quantify by real-time PCR using SYBR Green.

Results : The number of *S. mutans* is higher in plaque of DH and *S. sobrinus* is higher in saliva of non sensitive.

Conclusion : Patients with DH had higher level of *S. mutans* in plaque.

Key words : Gingival Recession, Dentine Hypersensitivity and Non sensitive, *S. mutans*, *S. sobrinus*, Real-time PCR

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINILITAS	iii
LEMBAR PENGESAHAN	iv
UCAPAN TERIMA KASIH	v
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	viii
ABSTRAK	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah Penelitian	4
1.2.1 Masalah Umum	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Manfaat untuk Ilmu Pengetahuan	5
1.4.2 Manfaat Secara Klinis	5
1.4.3 Manfaat untuk Masyarakat	5
1.4.4 Manfaat untuk Institusi Pendidikan	6

2 TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Dentin Hipersensitif	7
2.1.1 Definisi Dentin Hipersensitif	7
2.1.2 Prevalensi Dentin Hipersensitif	7
2.1.3 Etiologi Dentin Hipersensitif	8
2.1.4 Mekanisme terjadinya Dentin Hipersensitif	8
2.1.5 Teori Hipersensitivitas	10
2.2 Plak Gigi	12
2.3 Saliva	14
2.4 <i>Streptococcus mutans</i>	15
2.5 <i>Streptococcus sobrinus</i>	16
2.6 Resesi Gingiva	17
2.7 <i>Real-time PCR</i>	18
2.8 Kerangka Teori	21
3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS	22
3.1 Kerangka Konsep	22
3.2 Hipotesis	22
3.2.1 Hipotesis Mayor	22
3.2.2 Hipotesis Minor	22
4 METODE PENELITIAN	24
4.1 Jenis Penelitian	24
4.2 Alur Penelitian	24
4.3 Lokasi dan Waktu Penelitian	25
4.4 Subjek dan Sampel Penelitian	25
4.5 Kriteria Subjek Penelitian	25
4.5.1 Kriteria Inklusi	25
4.5.2 Kriteria Eksklusi	25
4.6 Besar Sampel Penelitian	26
4.7 Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional	26
4.8 Bahan dan Alat Penelitian	28
4.9 Cara Kerja	30
4.9.1 Pembuatan Agar TYS20B	30
4.9.2 Pemeriksaan Dentin Hipersensitif dan Dentin non Sensitif	30
4.9.3 Pemeriksaan Skor Plak	31
4.9.4 Pengambilan Sampel Plak Gigi	31
4.9.5 Pengambilan Sampel Saliva	31

4.9.6 Pembiakan Bakteri	32
4.9.7 Pembuatan Serial Dilusi	32
4.9.8 Ekstrak DNA	33
4.9.9 Spektrofotometri	33
4.9.10 Amplifikasi Bakteri Menggunakan <i>Real-Time PCR</i>	34
4.9.11 Penghitungan Jumlah Bakteri	35
4.10 Analisis Data	37
4.11 Masalah Etika	38
5 HASIL PENELITIAN	39
6 PEMBAHASAN	50
7 KESIMPULAN DAN SARAN	55
DAFTAR REFERENSI	57
LAMPIRAN	62

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1	Definisi Operasional	26
Tabel 4.2	Primers yang digunakan pada <i>Real-Time PCR</i>	35
Tabel 5.1	Jumlah Bakteri Total, <i>S. mutans</i> dan <i>S. sobrinus</i> dari Sampel Plak pada Penderita Dentin Hipersensitif dan Non Sensitif	39
Tabel 5.2	Jumlah <i>S. mutans</i> Serotipe <i>c</i> , <i>e</i> dan <i>f</i> dari Sampel Plak Penderita Dentin Hipersensitif dan Non Sensitif	42
Tabel 5.3	Jumlah Bakteri Total, <i>S. mutans</i> dan <i>S. sobrinus</i> dari Sampel Saliva pada Penderita Dentin Hipersensitif, Non Sensitif dan Gabungan keduanya	44
Tabel 5.4	Jumlah <i>S. mutans</i> Serotipe <i>c</i> , <i>e</i> dan <i>f</i> dari Sampel saliva Penderita Dentin Hipersensitif, Non Sensitif dan Gabungan keduanya	47

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Gambaran Etiologi dan Mekanisme Terjadinya Dentin Hipersensitif	9
Gambar 2.2	Deskripsi Teori Hidrodinamik Menurut Brannstrom	11
Gambar 2.3	Ilustrasi Mekanisme Teori Hidrodinamik	11
Gambar 2.4	Koloni <i>S. sobrinus</i>	17
Gambar 2.5	Kurva Amplifikasi <i>Real time PCR</i>	20
Gambar 2.6	Kerangka Teori	21
Gambar 3.1	Kerangka Konsep	22
Gambar 4.1	Alur Penelitian	24
Gambar 4.2	Cara Pemeriksaan Plak	31
Gambar 4.3	Kurva Standar dari Bakteri <i>S. mutans</i> Serotipe <i>f</i>	36
Gambar 4.4	Amplifikasi GtfI (<i>S. sobrinus</i>)	37
Gambar 5.1	Jumlah Bakteri Total, <i>S. mutans</i> dan <i>S. sobrinus</i> dari Sampel Plak Penderita Dentin Hipersensitif dan Non Sensitif	40
Gambar 5.2	Rasio <i>S. mutans</i> dan <i>S. sobrinus</i> Terhadap Bakteri Total dari Sampel Plak Penderita Dentin Hipersensitif dan Non Sensitif	40
Gambar 5.3	Rasio <i>S. sobrinus</i> Terhadap <i>S. mutans</i> dari Sampel Plak Penderita Dentin Hipersensitif dan Non Sensitif	42
Gambar 5.4	Jumlah <i>S. mutans</i> serta <i>S. mutans</i> Serotipe <i>c</i> , <i>e</i> dan <i>f</i> dari Sampel Plak Penderita Dentin Hipersensitif dan Non Sensitif	43
Gambar 5.5	Rasio <i>S. mutans</i> Serotipe <i>c</i> , <i>e</i> dan <i>f</i> terhadap <i>S. mutans</i> dari Sampel Plak Penderita Dentin Hipersensitif dan Non Sensitif	43
Gambar 5.6	Jumlah Bakteri Total, <i>S. mutans</i> dan <i>S. sobrinus</i> dari Sampel Saliva Penderita Dentin Hipersensitif, Non Sensitif dan Gabungan keduanya	45
Gambar 5.7	Rasio <i>S. mutans</i> dan <i>S. sobrinus</i> terhadap Bakteri Total dari Sampel Saliva Penderita Dentin Hipersensitif, Non Sensitif dan Gabungan keduanya	45
Gambar 5.8	Rasio <i>S. sobrinus</i> terhadap <i>S. mutans</i> dari Sampel Saliva Penderita Dentin Hipersensitif, Non Sensitif dan Gabungan keduanya	46
Gambar 5.9	Jumlah <i>S. mutans</i> serta <i>S. mutans</i> Serotipe <i>c</i> , <i>e</i> dan <i>f</i>	

dari Sampel Saliva Penderita Dentin Hipersensitif, Non Sensitif dan Gabungan keduanya	48
Gambar 5.10 Rasio <i>S. mutans</i> Serotipe <i>c</i> , <i>e</i> dan <i>f</i> terhadap <i>S. mutans</i> dari Sampel Saliva Penderita Dentin Hipersensitif, Non Sensitif dan Gabungan keduanya	48



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Surat Keterangan Komisi Etik Penelitian FKG UI	62
Lampiran 2	Lembar Pengumuman	63
Lampiran 3	Penjelasan bagi Subjek Penelitian	65
Lampiran 4	Lembar Persetujuan	68
Lampiran 5	Lembar Pemeriksaan Klinis	69
Lampiran 6	Hasil Penghitungan Konsentrasi dan Kemurnian DNA Sampel	70
Lampiran 7	Analisis Data	71



BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Dentin hipersensitif merupakan masalah yang sering dijumpai dengan insidensi antara 8% hingga 57% dari populasi.¹ Penelitian yang dilakukan oleh Chabanski dkk., menunjukkan bahwa 72,5% hingga 98% pasien dengan penyakit periodontal mengeluhkan dentin hipersensitif, selain itu tidak ada perbedaan dalam gender.² Prevalensi dentin hipersensitif yang tinggi pada pasien penyakit periodontal mungkin menggambarkan etiologi yang berbeda, bakteri dilaporkan berpenetrasi kedalam dentin hingga jauh sekali. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Orchardson dan Collins, dentin hipersensitif dapat dijumpai pada semua jenis gigi, tapi yang paling sering adalah pada gigi kaninus (25%) dan premolar pertama (24%), terutama pada permukaan bukal (93%),³ sedangkan menurut Bartold, gigi yang paling sering terlibat adalah gigi premolar pada rahang atas.⁴

Dentin hipersensitif adalah rasa sakit yang timbul pada dentin yang terbuka, akibat respon terhadap rangsang kimia, termal, taktil atau osmotik dan reda secara cepat ketika rangsang dihilangkan serta tidak dihubungkan dengan kerusakan gigi.^{5, 6} Sensitivitas yang berasal dari rangsangan termal yaitu panas dan dingin merupakan hal yang paling sering dikeluhkan. Individu dengan dentin hipersensitif akan merasa sangat tidak nyaman selama prosedur perawatan gigi serta aktivitas sehari-hari seperti makan, minum, menyikat gigi dan kadangkala saat bernafas. Kondisi ini dapat mempengaruhi kualitas hidup dari pasien.^{5, 7} Pasien dengan gigi yang sensitif terhadap dingin akan menghindari penyikatan gigi pada daerah yang sensitif sehingga mengurangi efektifitas dalam pembersihan plak dan hal ini berperan dalam terjadinya penyakit periodontal.⁶ Walaupun demikian, pasien dengan dentin terbuka pada daerah servikal tidak selalu mengeluhkan terjadinya dentin hipersensitif.

Etiologi dentin hipersensitif multifaktorial, diantaranya adalah kehilangan enamel akibat erosi atau abrasi, pengaruh biofilm pada permukaan gigi,

permukaan akar yang kehilangan struktur sementumnya akibat penyikatan gigi atau perawatan periodontal serta resesi gingiva yang terjadi karena penuaan, penyakit periodontal dan kebiasaan buruk pasien, dimana semua ini mempengaruhi terjadinya demineralisasi sehingga menyebabkan tubulus dentin terbuka.^{8,9} Dentin dapat mengalami demineralisasi pada derajat keasaman paling tinggi 6,5 dan terjadinya mineralisasi kembali sangat kecil.¹⁰ Dentin hipersensitif umumnya didahului oleh terjadinya resesi gingiva. Ketika gingiva tidak lagi menutupi bagian akar gigi dan terjadi kehilangan sementum maka dentin akan terbuka dan selanjutnya permukaan akar gigi yang terbuka memudahkan terjadinya hipersensitifitas.⁵ Akar gigi yang terbuka dapat diperburuk oleh asam yang dihasilkan oleh bakteri yang mampu membuka tubulus dentin.⁹

Streptococcus mutans (*S. mutans*) dan *Streptococcus sobrinus* (*S. sobrinus*) merupakan agen penyebab utama terjadinya karies gigi karena potensi kariogeniknya yang tinggi dan berperan dalam membentuk biofilm yang dikenal sebagai plak gigi pada permukaan gigi.¹¹ *Streptococcus mutans* didalam plak gigi akan menghasilkan sejumlah besar asam selama metabolisme karbohidrat. Sifat toleran terhadap asam memudahkannya bertahan pada lingkungan pH plak yang rendah dan dihubungkan dengan virulensi *S. mutans*.¹² Bakteri ini bersifat asidogenik yaitu menghasilkan asam dan asidurik yaitu mampu hidup pada lingkungan asam.^{13,14} Bakteri ini mampu merusak tubulus dentin.¹⁵ Produk asam yang dihasilkan oleh bakteri dapat menyebabkan demineralisasi pada akar gigi yang berperan dalam terjadinya sensitivitas.⁶

Streptococcus mutans terdiri dari tiga serotipe, yaitu serotipe *c*, *e* dan *f*, dimana serotipe *c* lebih asidurik dibandingkan yang lain. Serotipe *c* jika diinkubasi pada pH 7,0 dapat mengubah sukrosa dan karbohidrat lain menjadi asam. *Streptococcus sobrinus* terdiri dari dua serotipe yaitu serotipe *d* dan *g*.¹³

Teori yang berhubungan dengan sensitivitas dentin ada dua, yaitu teori hidrodinamik dan teori neural. Menurut teori hidrodinamik, stimulus dari luar permukaan dentin dihantar oleh mekanisme hidrodinamik berupa pergerakan cairan yang cepat di dalam tubulus dentin sampai ke prosesus odontoblas untuk kemudian diteruskan ke ujung saraf pada pulpa gigi sehingga menyebabkan sensasi sakit. Menurut teori neural, dentin mengandung saraf-saraf interdentin

yang merupakan saraf aferen yang terlibat dalam timbulnya nyeri sakit, dimana ujung saraf memanjang dari pulpa dan berakhir dekat sel odontoblas.^{6,8}

Usaha untuk memperbaiki dentin hipersensitif telah banyak dilakukan dengan berbagai cara, tetapi keluhan akan gigi sensitif masih terus dijumpai diklinik gigi. LeGeros dan Gu Haijin menemukan cara baru yang lebih menjanjikan dalam merawat dentin hipersensitif yaitu dengan mencegah bakteri *S. mutans* menyebabkan kerusakan yang lebih lanjut. Pada penelitian ini, pelapis yang dibuat dari fluorida dan ion zink dalam matriks kalsium fosfat ternyata efektif dalam mengurangi kerusakan pada tubulus yang disebabkan oleh *S. mutans*. Pemberian bahan pelapis ini selain menyebabkan tubulus yang terbuka menjadi tertutup kembali, juga mencegah *S. mutans* menyebabkan kerusakan.¹⁵

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Kawasaki dkk., kontrol plak yang tidak adekuat menyebabkan bertambahnya hipersensitifitas pada dentin dalam waktu singkat. Hal ini masuk akal untuk dipertimbangkan karena plak pada tubulus dentin sulit untuk dihilangkan.¹⁶ Hal ini berlawanan dengan penelitian yang dilakukan oleh Addy dkk., bahwa terdapat hubungan yang negatif antara akumulasi plak pada daerah bukal dengan terjadinya sensitivitas sehingga mengesankan bahwa dentin hipersensitif tidak berhubungan dengan akumulasi plak.⁸

Namun demikian, belum pernah dilakukan penelitian mengenai jumlah serta distribusi *S. mutans* dan *S. sobrinus* yang dijumpai pada dentin hipersensitif. Berdasarkan hal ini penulis tertarik untuk meneliti masalah dentin hipersensitif dalam hubungannya terhadap jumlah serta distribusi *Streptococcus mutans* serotipe *c*, *e*, *f* dan *Streptococcus sobrinus* serotipe *d* yang dijumpai pada penderita resesi gingiva.

1.2 Rumusan Masalah Penelitian

Berdasarkan pertanyaan penelitian tersebut, maka rumusan masalah penelitian ini adalah sebagai berikut :

1.2.1 Masalah Umum

Apakah ada perbedaan jumlah serta distribusi serotipe *S. mutans* dan *S. sobrinus* dari sampel plak dan saliva antara penderita resesi gingiva dengan dentin hipersensitif dan non sensitif ?

1.2.2 Masalah Khusus

- 1.2.2.1 Apakah ada perbedaan jumlah serta distribusi *S. mutans* dari sampel plak antara penderita resesi gingiva dengan dentin hipersensitif dan non sensitif ?
- 1.2.2.2 Apakah ada perbedaan jumlah serta distribusi *S. sobrinus* dari sampel plak antara penderita resesi gingiva dengan dentin hipersensitif dan non sensitif ?
- 1.2.2.3 Apakah ada perbedaan jumlah serta distribusi *S. mutans* serotipe *c*, *e* dan *f* dari sampel plak antara penderita resesi gingiva dengan dentin hipersensitif dan non sensitif ?
- 1.2.2.4 Apakah ada perbedaan jumlah serta distribusi *S. mutans* dari sampel saliva antara penderita resesi gingiva dengan dentin hipersensitif, non sensitif dan gabungan keduanya ?
- 1.2.2.5 Apakah ada perbedaan jumlah serta distribusi *S. sobrinus* dari sampel saliva antara penderita resesi gingiva dengan dentin hipersensitif, non sensitif dan gabungan keduanya ?
- 1.2.2.6 Apakah ada perbedaan jumlah serta distribusi *S. mutans* serotipe *c*, *e* dan *f* dari sampel saliva antara penderita resesi gingiva dengan dentin hipersensitif, non sensitif dan gabungan keduanya?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Menganalisis jumlah serta distribusi serotipe *S. mutans* dan *S. sobrinus* dari sampel plak dan saliva antara penderita resesi gingiva dengan dentin hipersensitif dan non sensitif.

1.3.2 Tujuan Khusus

- 1.3.2.1 Menganalisis jumlah serta distribusi *S. mutans* dari sampel plak antara penderita resesi gingiva dengan dentin hipersensitif dan non sensitif
- 1.3.2.2 Menganalisis jumlah serta distribusi *S. sobrinus* dari sampel plak antara penderita resesi gingiva dengan dentin hipersensitif dan non sensitif
- 1.3.2.3 Menganalisis jumlah serta distribusi *S. mutans* serotipe *c*, *e* dan *f* dari sampel plak antara penderita resesi gingiva dengan dentin hipersensitif dan non sensitif
- 1.3.2.4 Menganalisis jumlah serta distribusi *S. mutans* dari sampel saliva antara penderita resesi gingiva dengan dentin hipersensitif, non sensitif dan gabungan keduanya.
- 1.3.2.5 Menganalisis jumlah serta distribusi *S. sobrinus* dari sampel saliva antara penderita resesi gingiva dengan dentin hipersensitif, non sensitif dan gabungan keduanya
- 1.3.2.6 Menganalisis jumlah serta distribusi *S. mutans* serotipe *c*, *e* dan *f* dari sampel saliva antara penderita resesi gingiva dengan dentin hipersensitif, non sensitif dan gabungan keduanya

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat untuk ilmu pengetahuan

Menambah khasanah pengetahuan mengenai serotipe *S. mutans* dan *S. sobrinus* yang berperan dalam terjadinya dentin hipersensitif dan non sensitif.

1.4.2 Manfaat secara klinis

Bila dijumpai adanya perbedaan jumlah serta distribusi dari serotipe *S. mutans* dan *S. sobrinus* dari plak gigi dan saliva dentin hipersensitif serta non sensitif, maka dapat dilakukan perawatan yang tepat untuk mengobati dentin hipersensitif.

1.4.3 Manfaat untuk masyarakat

Memberi informasi bahwa bakteri *S. mutans* dan *S. sobrinus* berperan dalam terjadinya dentin hipersensitif.

1.4.4 Manfaat untuk institusi pendidikan

Penelitian ini dapat dijadikan sebagai dasar untuk mengembangkan ilmu pengetahuan dan penelitian lebih lanjut.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Dentin Hipersensitif

2.1.1 Definisi Dentin Hipersensitif

Dentin atau akar gigi yang sensitif seringkali diistilahkan dengan dentin hipersensitif. Dentin hipersensitif merupakan rasa sakit sementara yang timbul dari dentin yang terbuka karena respon terhadap rangsang kimia, termal, taktil atau osmotik. Dentin hipersensitif memenuhi semua kriteria untuk diklasifikasikan sebagai sindrom *true pain*.¹⁷ Pasien umumnya mengeluhkan rasa sakit yang timbul dari dentin hipersensitif berupa onset yang cepat, tajam dan durasinya singkat, meskipun kadangkala rasa sakit menetap berupa sensasi yang samar/tidak jelas pada gigi yang terlibat.¹⁸

2.1.2 Prevalensi Dentin Hipersensitif

Dilaporkan bahwa 8% hingga 30% dari populasi dewasa mengalami dentin hipersensitif dan prevalensi tertinggi dilaporkan pada populasi dengan penyakit periodontal. Gigi dengan resesi gingiva lebih sering mengalami dentin hipersensitif.¹⁹

Sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Orchardson dan Collins, dentin hipersensitif dapat dijumpai pada semua jenis gigi tapi yang paling sering adalah pada gigi kaninus (25%) dan premolar pertama (24%) terutama pada permukaan bukal (93%). Umur atau jenis kelamin pasien tidak begitu berperan terhadap prevalensi dentin hipersensitif, meskipun Curro melaporkan bahwa insiden dentin hipersensitif terlihat meningkat sekitar usia 30-an.¹⁷ Insiden yang paling besar adalah antara umur 20 hingga 50 tahun.^{19, 20} Mekanisme alami desensitisasi seperti sklerosis dan deposisi dentin sekunder dapat terjadi karena pertambahan usia.

2.1.3 Etiologi Dentin Hipersensitif

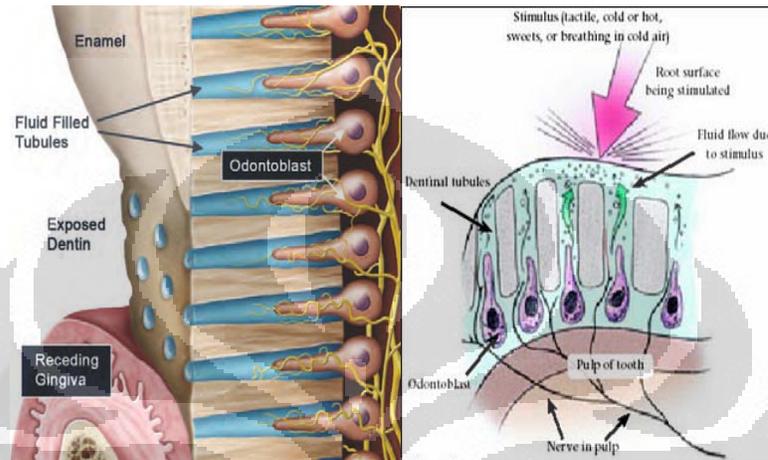
Dentin hipersensitif dapat terjadi ketika dentin terbuka yang disebabkan karena kehilangan enamel (abrasi, erosi atau korosi) atau karena permukaan akar kehilangan struktur sementum disebabkan oleh penyikatan gigi atau perawatan periodontal. Bisa juga disebabkan karena resesi gingiva yang terjadi karena penuaan, penyakit periodontal kronis dan kebiasaan buruk pasien misalnya karena penyikatan gigi.⁹ Penyakit periodontal lebih sering menyebabkan resesi gingiva jika dihubungkan dengan penyikatan gigi.²¹ Berdasarkan literatur, selain hal diatas, sejumlah orang yang memiliki risiko mengalami dentin hipersensitif adalah pasien bulimia, orang dengan serostomia, mengkonsumsi makanan atau minuman dengan kadar asam yang tinggi serta merokok dengan pipa.¹⁸ Enamel lebih sedikit kemungkinannya untuk mengalami demineralisasi jika dibandingkan dengan sementum karena mengandung kadar mineral yang lebih tinggi. Ada sejumlah faktor predisposisi yang berperan dalam terjadinya hipersensitivitas tetapi jarang sekali hipersensitif disebabkan oleh satu penyebab.¹⁹

2.1.4 Mekanisme terjadinya Hipersensitif¹⁹ :

Untuk memahami mekanisme hipersensitif maka harus diketahui terlebih dahulu mengenai struktur biologis gigi yang berperan dalam terjadinya hipersensitif, yaitu dentin dan pulpa. Dentin merupakan bagian dari gigi yang ditutupi oleh enamel pada mahkota dan sementum pada akar. Dentin tersusun atas rangkaian tubulus yang terisi oleh cairan seperti cairan plasma, dengan diameter yang semakin kecil dan bercabang serta memanjang dari pulpa hingga batas dentin-enamel. Tubulus dentin merupakan pintu gerbang bagi stimulus yang memancar hingga ke pulpa. Dimasuki oleh serabut saraf dari kamar pulpa dengan prosesus odontoblas yang meluas hanya sedikit kedalam tubulus dentin.¹⁹ Diameter tubulus menjadi lebih kecil sesuai dengan penambahan usia.⁶

Pulpa akan dimasuki oleh ujung serabut saraf yang meluas hanya melewati pulpa dentin yang menghubungkan tubulus dentin dimana serabut saraf terjalin disekitar prosesus odontoblas. Odontoblas (sel pembentuk dentin) berada disekitar pulpa dan prosesus nya meluas dari batas dentinopulpa kira-kira sepertiga dari jarak tubulus dentin. Prosesus ini tidak menimbulkan respon dari penjalaran rasa

sakit dari stimulus ke serabut saraf pulpa karena panjangnya yang terbatas. Saraf dapat dirangsang melalui mekanisme depolarisasi neural (pompa sodium-potassium), yang digolongkan sebagai respon saraf terhadap stimulus.¹⁹



Gambar 2.1 Gambaran Etiologi dan Mekanisme terjadinya Dentin Hipersensitif.²²

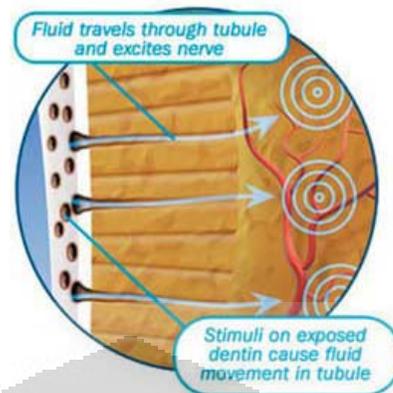
Ada dua jenis utama serat saraf yang memicu terjadinya rasa sakit pada gigi. Serat-serat ini digolongkan berdasarkan jenis rasa sakit, jika rasa sakit tajam dengan durasi yang singkat maka yang berperan adalah serat tipe A sedangkan rasa sakit yang tumpul dengan durasi lama yang berperan adalah serat tipe C. Sensasi ini akan membantu dalam membedakan antara pulpa sensitif dan dentin sensitif.⁶ Serat tipe A : 1). Bermielin, dengan kecepatan hantar yang cepat, 2). Diaktivasi oleh rangsangan pada tubulus dentin yang terbuka sehingga menyebabkan pergerakan cairan dalam tubulus dentin, 3). Menghasilkan rasa sakit yang tajam, terlokalisir dan bersifat sementara, yang merupakan ciri dari dentin hipersensitif. Serat tipe C : 1). Tidak bermielin dengan kecepatan hantar yang lambat, 2). Diaktivasi oleh mediator kimia inflamasi, tidak bereaksi terhadap rangsangan pada dentin, 3). Rasa sakit tumpul dan lokasi tidak diketahui dengan jelas.

2.1.5 Teori terjadinya Dentin Hipersensitif¹⁹

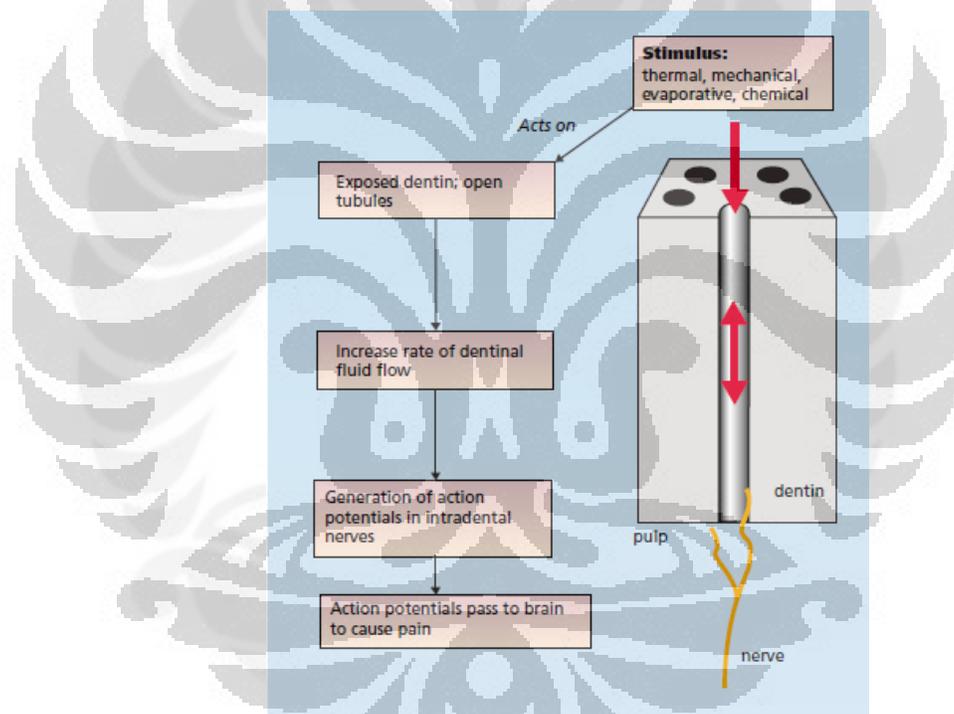
Mekanisme yang tepat mengenai penjalaran rasa sakit dari permukaan gigi ke pulpa tidak bisa dijelaskan secara sempurna. Ada dua teori yang paling dapat diterima dalam terjadinya dentin hipersensitif yaitu teori neural dan teori hidrodinamik.

Teori Neural / *Neural Activity*. Menurut teori ini, rasa sakit terjadi melalui mekanisme pelepasan depolarisasi pada semua aktifitas saraf. Pompa potassium-sodium bertanggung-jawab terhadap depolarisasi saraf ketika potassium keluar dari sel saraf dan sodium memasuki sel saraf.

Teori Hidrodinamik. Menurut teori ini, stimulus yang berasal dari luar dentin akan menyebabkan pergerakan cairan didalam tubulus dentin, yang memberi sinyal kepada saraf didalam pulpa. Teori ini didukung oleh sejumlah besar tubulus dentin yang melebar pada gigi hipersensitif dibandingkan dengan gigi non sensitif. Secara singkat, dentin dapat menjadi sensitif ketika tubulus dentin terbuka. Tubulus melintas secara langsung pada ruang pulpa gigi dan terisi oleh cairan. Prosesus odontoblas meluas ke tubulus pada dasar pulpa. Stimulus berupa dingin, manis, asam (termasuk asam plak), udara dan goresan dengan instrumen metal dapat menyebabkan aliran yang cepat dan tiba-tiba dari isi tubulus kearah luar, menstimulasi prosesus odontoblas dan menyebabkan rasa sakit. Serat saraf A delta berada disekitar odontoblas sehingga stimulus saja dapat menyebabkan rasa sakit. Stimulus panas menyebabkan masuknya cairan kedalam ruang pulpa sehingga mengganggu serat saraf. Reaksi sakit ini berasal dari serat C didalam pulpa dan mengakibatkan rasa sakit yang tumpul serta sakit pada rahang. Sakit karena rangsang panas tidak dianggap sebagai dentin sensitif, tapi mengindikasikan adanya perubahan pulpa yang *irreversible*.²³



Gambar 2.2 Deskripsi Teori Hidrodinamik menurut Brannstrom.²⁴



Gambar 2.3 Ilustrasi Mekanisme Teori Hidrodinamik (dari adanya Rangsangan terhadap Syaraf Intradental hingga Menimbulkan Rasa Sakit)¹⁷

Penelitian berdasarkan *Scanning Electron Microscopy (SEM)* terhadap gigi yang dicabut dan biopsi dentin terlihat ada perbedaan antara dentin hipersensitif dan non sensitif, dimana tubulus dentin lebih terbuka (diameter orifisi lebih besar)

pada dentin hipersensitif. Penemuan ini sesuai dengan teori hidrodinamik yang dikemukakan oleh Brannstroms, dimana pengiriman stimulus melalui dentin.¹⁸

Penilaian terhadap dentin hipersensitif adalah dengan mengevaluasi respon terhadap tiga stimulus, yaitu suhu, osmotik dan taktil. 1). Stimulus termal/suhu, suhu yang dingin dalam pemeriksaan klinis dapat menggunakan semprotan angin (*air syringe*) pada dental unit. 2). Stimulus osmotik, air disemprotkan dengan menggunakan semprotan air (*water syringe*) pada dental unit ke permukaan gigi pasien. Pasien diinstruksikan untuk memberitahu jika merasa sakit dan derajat intensitas rasa sakit (Gillam & Newman, Kanapka & Colucci) adalah 0 = tidak ada respon; 1= respon sedikit tapi tidak sakit; 2= rasa sakit hanya ketika stimulus diaplikasikan; 3= rasa sakit hebat dengan respon yang cepat dan bertahan setelah stimulus dihilangkan. Skor 0 dan 1 diklasifikasikan sebagai dentin non sensitif, sedangkan skor 2 dan 3 diklasifikasikan sebagai dentin hipersensitif. 3). Stimulus taktil/mekanik, menggunakan prob yang tajam, yang digerakkan pada daerah dentin yang terbuka. Respon dicatat berupa negatif atau positif. Beri rentang waktu 2-3 menit antara aplikasi tiga stimulus yang berbeda ini.²⁵⁻²⁸

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Veddytarro, frekwensi dentin hipersensitif paling banyak ditemukan dengan pemberian stimulus semprotan angin (53,3%), diikuti oleh goresan sonde (28,3%) dan semprotan air (18,4%). Hal ini memperlihatkan bahwa penderita dentin hipersensitif lebih merasakan sensasi ngilu dengan stimulus semprotan angin. Angin yang dingin dapat lebih mudah memasuki celah tubulus dentin yang terekspos sehingga menstimulasi sensasi nyeri melalui pergerakan cairan di dalam tubulus dentin.²⁷

2.2 Plak Gigi

Plak gigi merupakan biofilm yang melekat kuat pada permukaan gigi, restorasi dan piranti protesa. Pembentukan biofilm gigi dimulai pada saat bakteri melekat pada pelikel dan mulai berkolonisasi. Pelikel menyediakan sumber makanan bagi bakteri. Pembentukan plak awal dikarakteristikkan dengan jumlah dan jenis bakteri yang mengkoloni pelikel. Bakteri yang mengkoloni adalah kokus positif Gram dan batang pendek, termasuk *S. mutans* dan *S. sanguis*.²⁹

Pola pembentukan biofilm pada permukaan gigi dapat dibagi kedalam tiga fase, yaitu: perlekatan awal bakteri pada permukaan keras; pembentukan mikrokoloni dan pembentukan biofilm subgingiva yang matur.³⁰

1). Perlekatan awal bakteri pada permukaan keras. a). Pembentukan pelikel. Pelikel merupakan lapisan tipis dari protein saliva yang melekat pada permukaan gigi dalam hitungan menit setelah pembersihan secara profesional untuk melindungi enamel dari aktivitas asam. b). Kolonisasi awal pada permukaan gigi. Dalam beberapa jam setelah pembentukan pelikel, bakteri mulai melekat pada permukaan luar pelikel. Bakteri terhubung dengan pelikel dan satu sama lain melalui fimbriae. Segera setelah bakteri melekat akan dihasilkan bahan yang mendorong bakteri lain untuk bergabung. Pada saat ini bakteri yang mengkoloni terutama adalah positif Gram fakultatif yang berbentuk kokus terutama spesies streptokokus. c). Pembentukan lapisan tipis ekstraseluler. Bakteri mengeluarkan bahan seperti lem yang membantunya untuk melekat pada permukaan dan memberi perlindungan bagi bakteri yang melekat.

2). Pembentukan Mikrokoloni. a). Pertumbuhan bakteri. Segera sesudah permukaan gigi ditutupi oleh bakteri yang melekat, pertumbuhan biofilm terutama pada bagian sel bakteri yang ada, terjadi proliferasi bakteri. Plak berkembang dua kali lebih cepat pada awal pembentukan dan lebih lambat pada biofilm yang lebih matur. b). Koagregasi kedalam mikrokoloni bentuk jamur. Gelombang kedua koloni bakteri melekat pada bakteri yang sudah melekat sebelumnya pada pelikel.

3). Pembentukan biofilm plak subgingiva yang matur. a). Pendalaman sulkus gingiva. Beberapa hari setelah pembentukan plak, margin gingiva mengalami inflamasi dan membengkak. Inflamasi akan mengubah kedalaman sulkus gingiva. Biofilm meluas hingga daerah subgingiva. b). Komposisi mikroba. Inflamasi gingiva tidak terlihat hingga biofilm yang sebagian besar terdiri dari bakteri anaerob negatif Gram terbentuk pada sulkus gingiva antara 3-12 minggu setelah pembentukan plak supragingiva dimulai.

Salah satu faktor yang berperan penting sebagai penyebab dentin hipersensitif adalah akumulasi plak. Menurut beberapa peneliti (Hiatt & Johansen, 1972; Trowbridge & Silver, 1990; Cox, 1994), pasien dengan permukaan akar yang ditutupi oleh plak lebih memiliki masalah dengan dentin hipersensitif.

Organisme plak mungkin mengeluarkan produk bakteri yang menyebar melintasi saraf pulpa dentin yang sensitif.¹⁶

Hal yang sederhana tapi penting dilakukan untuk mengurangi hipersensitivitas adalah meningkatkan kontrol plak pasien. Pasien dengan kontrol plak yang buruk lebih sering mengalami dentin hipersensitif dan seringkali enggan untuk membersihkan daerah hipersensitif. Dokter gigi sebagai pemberi layanan kesehatan dapat mengedukasi pasien bahwa asam dari plak bakteri dapat berperan untuk terjadinya hipersensitif dan penguatan *oral hygiene (OH)* wajib dilakukan setiap hari.³¹

Peran plak gigi sebagai faktor etiologi dentin hipersensitif masih kontroversi. Beberapa penulis mengatakan bahwa mungkin plak dan kontaminasi bakteri berperan dalam terjadinya dentin hipersensitif sedangkan sebagian yang lain menyangkal pengaruh tersebut.²¹

2.3 Saliva

Secara keseluruhan saliva merupakan campuran yang kompleks, terutama berasal dari sekresi kelenjar saliva, cairan gingiva, sel epitel, bakteri, leukosit dan sisa makanan. Saliva berperan penting dalam menjaga kesehatan jaringan mulut yaitu sebagai pelindung mukosa mulut dan melawan iritasi, bentuk lingkungan anion bagi remineralisasi gigi, membantu dalam penelanan dan memiliki aksi antimikroba. Sekarang ini sampel saliva dipertimbangkan sebagai alat diagnostik yang penting untuk mendeteksi risiko pasien terhadap beberapa penyakit.³²

Saliva merupakan barisan pertama dari pertahanan spesifik dan non spesifik rongga mulut dalam melawan penyakit infeksi, erosi, atrisi dan lesi trauma pada mukosa rongga mulut. Saliva memiliki bermacam-macam fungsi dalam melindungi integritas rongga mulut dari sisa makanan, debris dan bakteri. Fungsi tersebut antara lain bahwa saliva memiliki efek buffer dalam melawan basa dan asam kuat; saliva menyediakan ion yang dibutuhkan untuk remineralisasi gigi; dan saliva memiliki kapasitas antibakteri, antijamur dan antivirus. Volume normal saliva yang dihasilkan setiap hari oleh kelenjar saliva sekitar 0,5 hingga 1,0 L dan hanya sekitar 2% hingga 10% yang dihasilkan selama tidur. Sekitar

90% dari total volume dihasilkan oleh tiga pasang kelenjar saliva yaitu kelenjar parotid, kelenjar sublingualis dan kelenjar submandibularis.³³

Saliva memegang peranan penting dalam mengurangi dentin hipersensitif secara alami. Saliva menyediakan kalsium dan fosfat yang dapat memasuki tubulus dentin yang terbuka dan menutup tubulus dari rangsangan luar. Saliva yang berkurang (hiposalivasi), merupakan faktor risiko terjadinya karies dan demineralisasi gigi yang dapat memperburuk sensitivitas.¹⁰ Saliva berperan dalam mencegah terjadinya demineralisasi dan juga meningkatkan remineralisasi.⁸

Jumlah *Mutans streptococci* (*MS*) pada saliva dihubungkan dengan jumlah permukaan gigi yang dikoloni, hal ini merupakan dasar bagi tes saliva untuk *MS*. Jumlah yang tinggi pada saliva (lebih dari 1 juta CFU/ml saliva) mengindikasikan bahwa sebagian besar gigi dikoloni oleh bakteri ini.¹⁴

2.4 *Streptococcus mutans*

Mutans streptococci memiliki tujuh spesies, yaitu : 1). *S. mutans*, serotipe *c, e, f* ; 2). *S. sobrinus*, serotipe *d, g* ; 3). *S. cricetus*, serotipe *a* ; 4). *S. rattus*, serotipe *b* ; 5). *S. ferus*, 6). *S. macacae* dan 7). *S. downei*, serotipe *h*. Delapan serotipe (*a - h*) dikenal berdasarkan kekhususan serologis dari lokasi antigen pada dinding sel. Spesies yang paling sering diisolasi dari plak gigi manusia adalah *S. mutans* yang memiliki serotipe *c, e* dan *f*, selanjutnya adalah *S. sobrinus* (serotipe *d* dan *g*) tetapi tidak begitu diketahui mengenai peran *S. sobrinus* dalam menyebabkan penyakit di rongga mulut dibandingkan *S. mutans* karena beberapa penelitian tidak berhasil membedakan antara spesies ini.³⁴ Berdasarkan penelitian menggunakan *PCR*, prevalensi *S. sobrinus* yang diisolasi dari plak gigi didalam rongga mulut sedikit lebih rendah jika dibandingkan dengan *S. mutans*.³⁵

Mutans streptococci dapat menghasilkan polisakarida intraselular dan ekstraselular (glukan dan fruktan) dari sukrosa yang dihubungkan dengan pembentukan plak dan karies.³⁴ Polisakarida intraselular secara umum dapat menurun pada saat suplai nutrisi rendah, menandakan polisakarida ini meningkatkan virulensi spesies *MS*.¹⁴

Streptococcus mutans pertama sekali diisolasi dari lesi karies oleh Clarke pada tahun 1924. *Streptococcus mutans* merupakan organisme anaerobik

fakultatif, membentuk rantai kokus pada medium *broth* dan *coccobacili* pada medium agar glukosa. Bakteri ini tumbuh secara optimal pada suhu 37°C dan memiliki pH optimum antara 7,4-7,6. Secara normal, bakteri ini dijumpai pada daerah plak yang padat dimana lingkungannya bersifat anaerob dan mengandung ammonia.³⁶

Streptococcus mutans merupakan agen penyebab utama terjadinya karies gigi, yang memiliki sifat asidogenik (asam) dan asidurik (toleran terhadap asam) serta dapat mengalami glikolisis ketika pH lingkungan 4,0. Bakteri ini lebih asidurik dibandingkan streptokokus lain pada rongga mulut dan bermacam serotipe dari *S. mutans* memiliki *level asiduricity* yang berbeda.¹³ Serotipe *c* lebih asidurik dibandingkan yang lain.^{13, 14.}

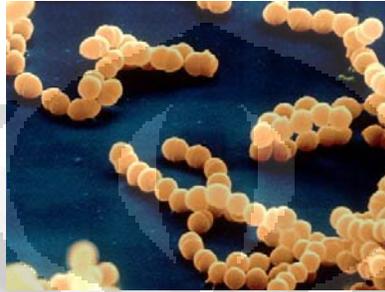
Togelius dkk. (1984) dan Matee dkk. (1985) menemukan bahwa *level S. mutans* pada saliva tidak semuanya dipengaruhi oleh waktu pada saat sampel diambil dan oleh pengukuran *OH*, tetapi Wikner (1986) mengamati bahwa jumlah *S. mutans* pada saliva turun dengan cepat setelah pembersihan semua plak.³⁷ Menurut penelitian yang dilakukan oleh Emilson bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara plak dan *level S. mutans* pada saliva, hal ini memperlihatkan bahwa sampel saliva dapat digunakan pada praktek klinis untuk menggambarkan prevalensi dan proporsi organisme ini pada plak gigi.³⁸

Streptococcus mutans memiliki kemampuan untuk membentuk biofilm yang dikenal dengan plak gigi pada permukaan gigi. Di dalam plak gigi, *S. mutans* menghasilkan sejumlah besar asam selama metabolisme karbohidrat.¹² Produk asam yang dihasilkan oleh bakteri dapat menyebabkan demineralisasi akar yang berperan dalam terjadinya sensitivitas.⁶

2.5 *Streptococcus sobrinus*

Streptococcus sobrinus merupakan bakteri anaerob, positif Gram, berbentuk bulat, tersusun secara berpasangan atau membentuk rantai. Bakteri *S. Sobrinus* biasanya hidup pada lubang gigi manusia. Suhu pertumbuhan yang optimal bagi *S. Sobrinus* adalah 37°C dan dapat bertahan hidup pada lingkungan pH yang rendah. Lingkungan mulut merupakan habitat yang ideal bagi *S. sobrinus* karena mempunyai suasana yang asam dengan sumber makanan yang banyak

yang berbentuk glukosa atau sukrosa. *Streptococcus sobrinus* diklasifikasikan sebagai bakteri asam laktat, selain hidup dilingkungan asam bakteri ini menghasilkan asam laktat yang dihasilkan dari metabolisme anaerob glukosa. *S. sobrinus* biasanya berinteraksi dengan *S. mutans* dalam hubungan simbiosis ketika pembentukan biofilm dari koloni kedua bakteri.



Gambar 2.4 Koloni *Streptococcus sobrinus*

2.6 Resesi Gingiva

Secara normal, jaringan gingiva memberi perlindungan dengan menutupi semua permukaan akar. Jika gingiva tidak lagi menutupi akar, permukaan sementum mudah terkikis dan menyebabkan dentin terekspos. Proses resesi gingiva, kehilangan sementum dan tereksposnya dentin menjadi tahapan dalam berkembangnya hipersensitivitas.¹⁹

Resesi gingiva adalah suatu keadaan dimana permukaan akar gigi terbuka akibat migrasi margin gingiva kearah apikal. Beberapa faktor risiko terjadinya resesi gingiva yaitu ; 1). Trauma, terutama disebabkan karena penyikatan gigi yang terlalu kuat, 2). Faktor anatomis, misalnya tinggi apikokoronal yang terlalu pendek dan berkurangnya ketebalan gingiva cekat dalam dimensi bukolingual sehingga resesi lebih sering terjadi pada permukaan bukal gigi. Kedalaman vestibulum yang rendah serta perlekatan frenulum yang terlalu tinggi, 3). Gigi yang malposisi, 4). Setelah perawatan ortodonsia, pergerakan gigi kearah labial dapat menyebabkan gigi keluar dari plat tulang labial. Resesi gingiva juga dapat disebabkan karena proses penuaan.¹⁹

2.7 Real - Time Polymerase Chain Reaction

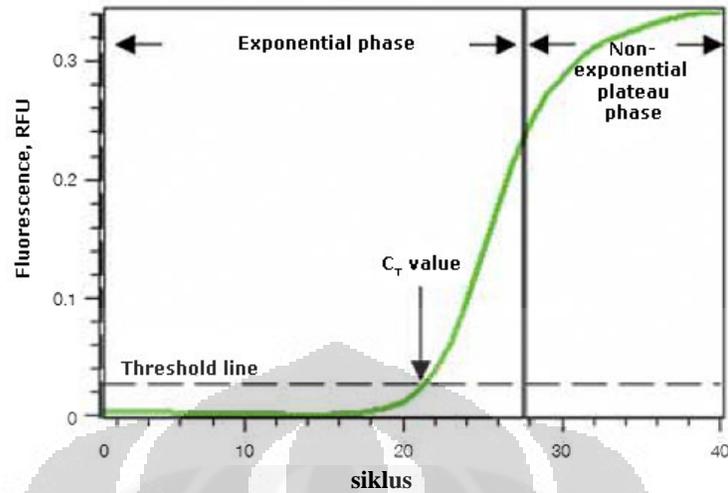
Teknik diagnostik menggunakan *Polymerase Chain Reaction (PCR)* dewasa ini sangat populer karena kecepatan dan sensitivitasnya. *Polymerase Chain Reaction* konvensional digunakan untuk analisis kualitatif sehingga sulit untuk melihat jumlah bakteri secara akurat. *Polymerase Chain Reaction* konvensional sulit digunakan bagi diagnosis rutin karena waktu yang dibutuhkan bagi penanganan sampel dan analisis setelah *PCR* yang agak lama.

Real-Time Polymerase Chain Reaction atau disebut juga sebagai *PCR* kuantitatif merupakan metode analisis kuantitatif yang digunakan untuk monitoring jumlah sel dan atau rasio bakteri pada spesimen rongga mulut, misalnya plak gigi atau saliva.³⁹ Ada dua jenis *real-time PCR*, yaitu metode berbasis interkalator dan metode berbasis *probe*. Metode berbasis interkalator dikenal juga sebagai metode SYBR *Green*. SYBR *green* yang berikatan dengan DNA rantai ganda baru akan disintesis menghasilkan *PCR fluorescence* yang disebut amplicon *PCR*. Metode berbasis *probe* atau *TaqMan PCR*, lebih spesifik karena menggunakan *probe fluorogenic* yang mengikat hanya urutan yang lengkap dari amplicon *PCR* yang dihasilkan.⁴⁰ Tingkat ekspresi dari semua gen yang diuji bagi *real-time PCR* biasanya menggunakan gen *S. mutans* 16S rRNA sebagai standar internal.⁴¹

Prosedur *real-time PCR* mengikuti prinsip umum dari *PCR* konvensional. *PCR* merupakan reaksi penggandaan daerah tertentu dari DNA cetakan (*template*) dengan bantuan enzim DNA *polymerase*. *Polymerase Chain Reaction* dilakukan dengan menggunakan mesin *Thermal cycler* yang dapat menaikkan dan menurunkan suhu dalam waktu cepat sesuai kebutuhan siklus *PCR*. Komponen lain yang dibutuhkan dalam reaksi *PCR* adalah: *primer*, *dNTP*, *buffer* dan ion logam. *Primer* adalah sepasang DNA utas tunggal atau oligonukleotida pendek yang menginisiasi sekaligus membatasi reaksi pemanjangan rantai atau polimerisasi DNA. *Primer* dirancang untuk memiliki sekuen yang komplemen dengan DNA *template*, jadi dirancang agar menempel mengapit daerah tertentu yang kita inginkan. *Deoxynucleoside triphosphate (dNTP)* merupakan *building blocks* penyusun DNA yang baru. *Deoxynucleoside triphosphate* terdiri atas 4 macam sesuai dengan basa penyusun DNA, yaitu *dATP*, *dCTP*, *dGTP* dan *dTTP*.

Buffer terdiri dari bahan-bahan kimia yang mengkondisikan reaksi agar berjalan optimum dan menstabilkan enzim DNA *polymerase*. Ion logam terdiri dari: 1). Ion logam bivalen, umumnya Mg^{++} yang berfungsi sebagai kofaktor bagi enzim DNA *polymerase*, tanpa ion ini enzim DNA *polymerase* tidak dapat bekerja ; 2). Ion logam monovalen (K^+).⁴²

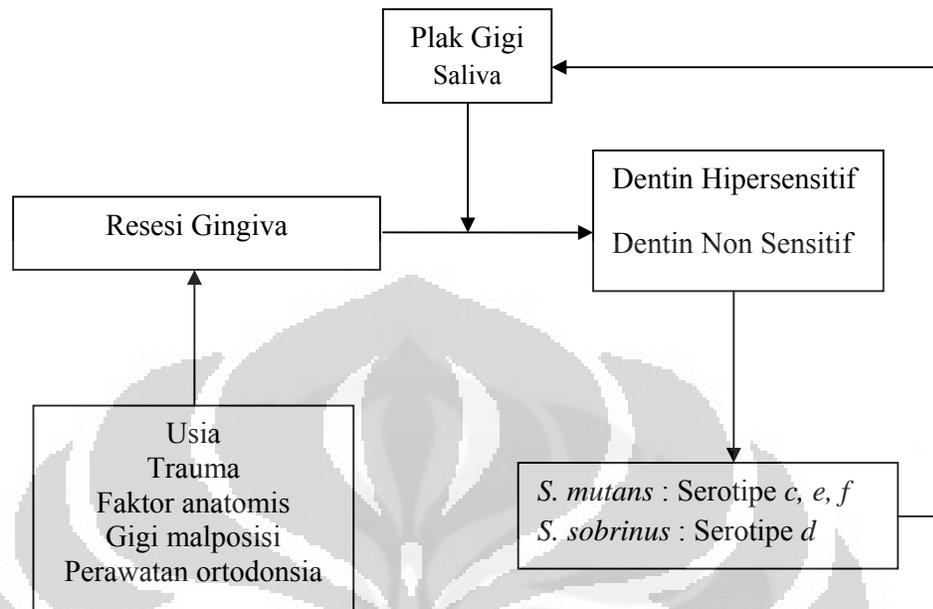
Siklus reaksi *PCR* terdiri dari 3 tahap, yaitu : 1). Denaturasi, dilakukan dengan pemanasan hingga $96^{\circ}C$ selama 30-60 detik. Pada suhu ini DNA utas ganda akan memisah menjadi utas tunggal, 2). *Annealing*, setelah DNA menjadi utas tunggal, suhu diturunkan ke kisaran $40-60^{\circ}C$ selama 20-40 detik untuk memberikan kesempatan bagi *primer* menempel pada DNA *template* di tempat yang komplemen dengan sekuen *primer*, 3). Ekstensi/ *elongasi*, dilakukan dengan menaikkan suhu ke kisaran suhu kerja optimum enzim DNA *polymerase*, biasanya $70-72^{\circ}C$. Pada tahap ini DNA *polymerase* akan memasangkan *dNTP* yang sesuai pada pasangannya, jika basa pada *template* adalah A, maka akan dipasang *dNTP*, begitu seterusnya (pasangan A adalah T, dan C dengan G, begitu pula sebaliknya). Pada tahap ini SYBR *Green* akan berikatan dengan DNA rantai ganda yang baru terbentuk dan memancarkan fluoresens. Intensitas fluoresens yang dihasilkan oleh SYBR *Green* adalah berupa nilai C_T yang akan digunakan untuk menghitung jumlah rantai ganda DNA yang baru dihasilkan. C_T didapatkan ketika DNA target teramplifikasi. Semakin besar jumlah DNA target, semakin cepat muncul pancaran fluoresens sehingga nilai C_T akan lebih rendah. Nilai C_T akan digunakan untuk menghitung hasil penelitian.



Gambar 2.5 Kurva Amplifikasi dari Mesin *Real Time PCR*.⁴³

Sumbu horizontal pada gambar 2.5 diatas menggambarkan siklus dari *real time PCR* sedangkan sumbu vertikal menggambarkan proporsi fluorensis dari reaksi yang teramplifikasi. Ada 2 fase terjadinya amplifikasi DNA pada *real time PCR*, yaitu fase eksponensial dan fase non eksponensial plateau. Selama fase eksponensial, *real time PCR* dapat mengkuantifikasi produk secara tepat dan akurat, oleh karena itu *real time PCR* lebih akurat dibandingkan *PCR* konvensional yang mengkuantifikasi produk saat fase plateau. Ketika memasuki fase plateau, reaksi akan melambat hingga akhirnya berhenti (siklus 28-40 pada gambar). Pada siklus awal *real time PCR*, fluorensis tidak terdeteksi dan tetap berada di dasar kurva (garis hijau) namun jika produk yang teramplifikasi sudah cukup banyak untuk dapat terdeteksi maka terjadilah siklus yang disebut dengan *threshold cycle* (C_T). Nilai C_T akan digunakan untuk kuantifikasi produk pada *real time PCR*.⁴³

2.8 Kerangka Teori

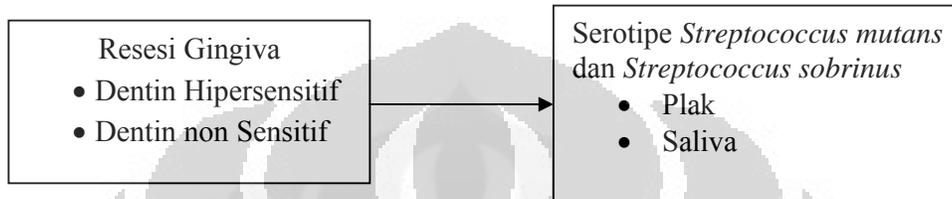


Gambar 2.6 Kerangka Teori

Resesi gingiva merupakan suatu keadaan dimana permukaan akar gigi terbuka akibat migrasi margin gingiva kearah apikal. Resesi gingiva bisa disebabkan karena: 1). Usia yaitu proses penuaan yang terjadi secara fisiologis, 2). Trauma terutama yang disebabkan oleh penyikatan gigi yang terlalu kuat, 3). Faktor anatomis yaitu tebal gingiva cekat yang tidak adekuat, vestibulum yang rendah, perlekatan frenulum yang terlalu tinggi, 4). Gigi malposisi, 5). Perawatan ortodonsia, dimana pergerakan gigi kearah labial dapat menyebabkan gigi keluar dari plat tulang labial. Resesi gingiva akan menyebabkan dentin terekspos, diduga bakteri *S. mutans* dan *S. sobrinus* yang ada pada plak gigi dan saliva akan mengeluarkan produk asam yang menyebabkan demineralisasi pada dentin sehingga mengakibatkan tubulus dentin menjadi terbuka. Keadaan ini berperan dalam menyebabkan terjadinya dentin hipersensitif. Meskipun demikian, pada keadaan gigi dengan resesi gingiva ternyata tidak semuanya mengalami dentin hipersensitif, sehingga akan dilihat jumlah dan distribusi dari serotipe *S. mutans* dan *S. sobrinus* pada penderita dentin hipersensitif dan non sensitif.

BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konsep

3.2. Hipotesis Penelitian

3.2.1 Hipotesis Mayor

3.2.1.1 Jumlah dan distribusi *S. mutans* dari sampel plak dan saliva lebih banyak dijumpai pada penderita resesi gingiva dengan dentin hipersensitif dibandingkan dentin non sensitif

3.2.2 Hipotesis Minor

3.2.2.1 Jumlah serta distribusi *S. mutans* dari sampel plak lebih banyak pada penderita resesi gingiva dengan dentin hipersensitif daripada dentin non sensitif

3.2.2.2 Jumlah serta distribusi *S. sobrinus* dari sampel plak lebih banyak pada penderita resesi gingiva dengan dentin non sensitif daripada dentin hipersensitif

3.2.2.3 Jumlah serta distribusi *S. mutans* serotipe *c* dari sampel plak lebih banyak pada penderita resesi gingiva dengan dentin hipersensitif daripada dentin non sensitif

3.2.2.4 Jumlah serta distribusi *S. mutans* dari sampel saliva lebih banyak pada penderita resesi gingiva dengan dentin hipersensitif daripada dentin non sensitif dan gabungan keduanya

- 3.2.2.5 Jumlah serta distribusi *S. sobrinus* dari sampel saliva lebih banyak pada penderita resesi gingiva dengan dentin non sensitif daripada dentin non sensitif dan gabungan keduanya
- 3.2.2.6 Jumlah serta distribusi *S. mutans* serotipe *c* dari sampel saliva lebih banyak pada penderita resesi gingiva dengan dentin hipersensitif daripada dentin non sensitif dan gabungan keduanya

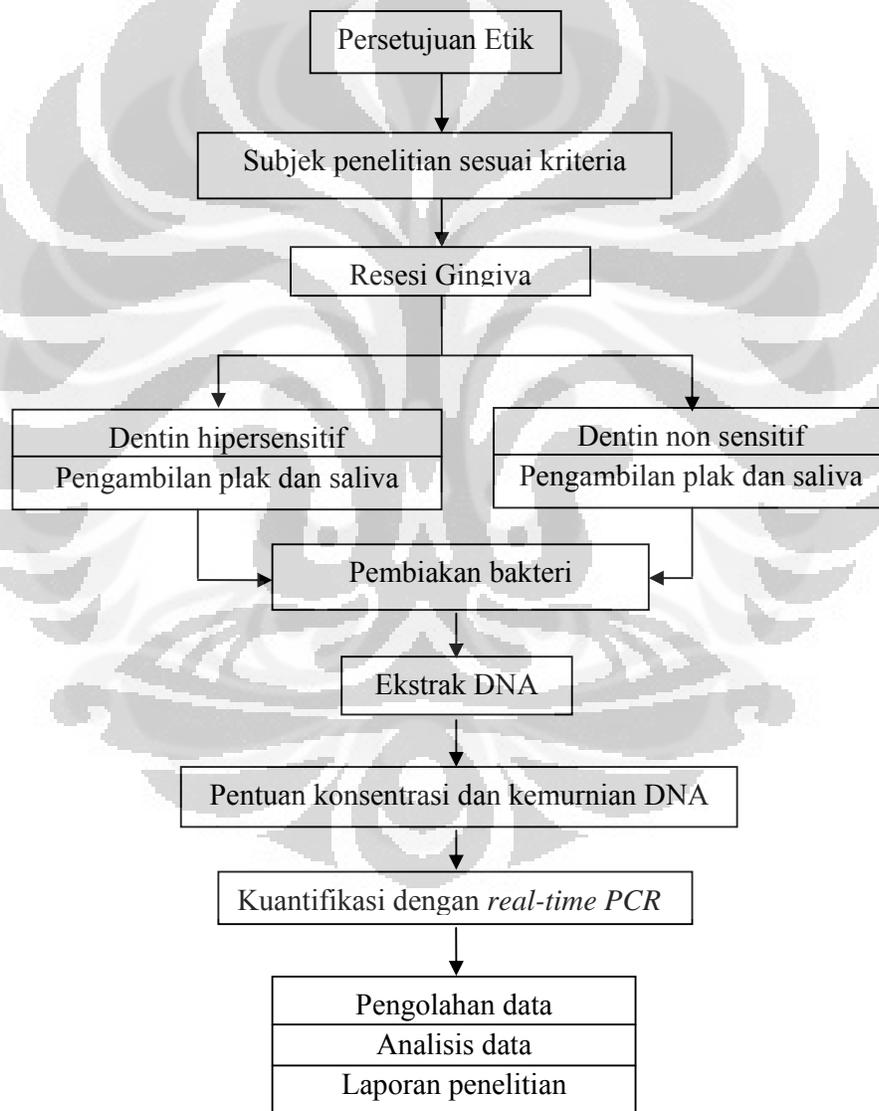


BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian

Penelitian observasi secara laboratoris

4.2 Alur Penelitian



Gambar 4.1 Alur Penelitian

4.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Klinik Spesialis Periodonsia dan Laboratorium Biologi Oral, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia.

Waktu penelitian 3 bulan selama bulan Januari – Maret 2012

4.4 Subjek dan Sampel Penelitian

4.4.1 Subjek Penelitian

Gigi kaninus atau premolar pertama pada rahang atas atau rahang bawah yang mengalami resesi gingiva dengan atau tanpa dentin hipersensitif

4.4.2 Sampel Penelitian

S. mutans dan *S. sobrinus* yang diisolasi dari plak gigi dan saliva penderita dentin hipersensitif dan non sensitif

4.5 Kriteria Subjek Penelitian

4.5.1 Kriteria Inklusi

- a. Usia subjek antara 20 – 50 tahun
- b. Adanya resesi gingiva, gigi tanpa abrasi
- c. Tidak sedang menggunakan pasta gigi yang mengandung bahan desensitisasi atau pernah mendapat perawatan desensitisasi
- d. Bersedia untuk ikut dalam penelitian dan menandatangani *informed-consent*

4.5.2 Kriteria Eksklusi

- a. Ada karies, restorasi atau enamel yang retak pada gigi yang dijadikan sampel
- b. Menderita inflamasi gingiva
- c. Menderita penyakit/kelainan sistemik seperti gastritis, diabetes melitus, bulimia
- d. Suka mengonsumsi makanan yang mengandung kadar asam tinggi (misalnya minuman dan buah yang asam, minuman berkarbonat, *wine*, minuman energi, sari buah apel dll)
- e. Individu dengan kebiasaan *bruxism* dan klensing

- f. Wanita yang sedang hamil
- g. Tidak komunikatif dan tidak kooperatif

4.6 Besar Sampel Penelitian

Jumlah sampel dari tiap kelompok perlakuan akan dihitung menggunakan rumus Federer.

Rumus Federer : $(n-1)(t-1) \geq 15$ dengan

t = jumlah kelompok perlakuan = 4

n = jumlah sampel tiap kelompok perlakuan

maka didapatkan :

$$(n-1)(4-1) \geq 15$$

$$(n-1)(3) \geq 15$$

$$3(n-1) \geq 15$$

$$n - 1 \geq 5$$

$$n \geq 6 \rightarrow \text{minimal jumlah sampel} = 6$$

Berdasarkan hasil perhitungan diatas, maka jumlah sampel yang digunakan adalah enam sampel per kelompok, karena jumlah kelompok adalah 4 maka jumlah sampel seluruhnya adalah 24 sampel.

4.7 Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional Variabel Penelitian

4.7.1 Identifikasi Variabel Penelitian

Variabel independen : resesi gingiva, dentin hipersensitif, dentin non sensitif

Variabel dependen : serotipe *S. mutans* dan serotipe *S. sobrinus*

4.7.2 Definisi Operasional

Tabel 4.1 Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi Operasional	Cara mengukur	Hasil ukur	Skala
1	Resesi Gingiva Yang dimaksud pada penelitian ini adalah				
1.1	Resesi gingiva	Berkurangnya tinggi margin gingiva kearah apikal terhadap batas	Pemeriksaan klinis pada gigi C atau P1 RA/RB	Ada resesi	Nominal

No	Variabel	Definisi Operasional	Cara mengukur	Hasil ukur	Skala
1.2	Dentin non sensitif	Gigi dengan resesi gingiva dan ketika diberi stimulus tidak merasa sakit/ngilu	Evaluasi respon terhadap tiga stimulus, 1. Stimulus taktil = sonde digoreskan pada dentin yang terbuka, 2. Stimulus suhu = menggunakan semprotan angin pada dental unit, 3. Stimulus osmotik = menggunakan semprotan air pada dental unit	0 = tidak ada respon 1 = respon sedikit tapi tidak sakit	Nominal
1.3	Dentin Hipersensitif	Gigi dengan resesi gingiva dan ketika diberi stimulus terasa sakit/ngilu	Evaluasi respon terhadap tiga stimulus, 1. Stimulus taktil = sonde digoreskan pada dentin yang terbuka, 2. Stimulus suhu = menggunakan semprotan angin pada dental unit, 3. Stimulus osmotik = menggunakan semprotan air pada dental unit	2 = rasa sakit hanya saat stimulus diaplikasikan 3 = rasa sakit hebat dengan respon yang cepat & bertahan setelah stimulus dihilangkan	Nominal
2	<i>Streptococcus mutans</i> Yang dimaksud pada penelitian ini adalah:				
2.1	<i>S. mutans</i> dari plak gigi	<i>S. mutans</i> yang diambil dari plak gigi penderita dentin hipersensitif	Identifikasi dan kuantifikasi dengan <i>real time PCR</i>	Serotipe <i>c</i> Serotipe <i>e</i> Serotipe <i>f</i>	Nominal

No	Variabel	Definisi Operasional	Cara mengukur	Hasil ukur	Skala
		dan non sensitive			
2.2	<i>S. mutans</i> saliva	dari <i>S. mutans</i> yang diambil dari saliva penderita dentin hipersensitif, non sensitif dan gabungan dari dua keadaan ini	Identifikasi dan kuantifikasi dengan <i>real time PCR</i>	Serotipe <i>c</i> Serotipe <i>e</i> Serotipe <i>f</i>	Nominal
3	<i>Streptococcus sobrinus</i> Yang dimaksud pada penelitian ini adalah:				
3.1	<i>S. sobrinus</i> plak gigi	dari <i>S. sobrinus</i> yang diambil dari plak gigi penderita dentin hipersensitif dan non sensitive	Identifikasi dan kuantifikasi dengan <i>real time PCR</i>	Serotipe <i>d</i>	Nominal
3.2	<i>S. sobrinus</i> saliva	dari <i>S. sobrinus</i> yang diambil dari saliva penderita dentin hipersensitif, non sensitif dan gabungan dari dua keadaan ini	Identifikasi dan kuantifikasi dengan <i>real time PCR</i>	Serotipe <i>d</i>	Nominal

4.8 Bahan dan Alat Penelitian

4.8.1 Bahan

- a. Batu es
- b. *S. mutans* OMZ175 serotipe *f*
- c. Media perbenihan *Trypticase Soy with Sucrose and Bacitracin* (TYS20B)

- d. Primers untuk identifikasi dan kuantifikasi *S. mutans*, *S. mutans* serotipe *c*, *e*, *f*, *S. sobrinus* serotipe *d*
- e. Primers *universal* 16sRNA untuk kuantifikasi bakteri total
- f. PBS steril
- g. MilliQ
- h. SYBR *Green*

4.8.2 Alat

- a. Kaca mulut, sonde, pinset dan prob periodontal
- b. Sarung tangan sekali pakai, masker
- c. Kotak pendingin berisi es
- d. Cawan petri
- e. Tusuk gigi steril
- f. Tabung ependorf steril
- g. Sengkelit kaca
- h. *Anaerobic jar*
- i. Tabung *Erlenmeyer*, gelas ukur
- j. Pipet dan tip
- k. Inkubator, inkubator *waterbath*
- l. Lampu bunsen, Jarum inokulum/ ose
- m. Vortexer dan sentrifugasi mini
- n. Alat sentrifugasi
- o. *Floating boat*
- p. Mesin *real time-PCR*
- q. Kit *PCR*
- r. Spektrofotometer
- s. *MicroAmp Fast Reaction Tubes*
- t. *MicroAmp Optical 8-cap Strip*
- u. 48 *PCR Well Plate*

4.9 Cara Kerja

4.9.1 Pembuatan Agar TYS20B

Adapun formulasi agar TYS20B dalam 500 ml adalah dengan memasukkan Tripticase soya agar sebanyak 20 mg, Yeast extract 5 mg, Bacto agar 2,5 mg dan Sucrosa 100 mg kedalam tabung, tambahkan aquabides sampai dengan 500 ml kedalam tabung tersebut, aduk sampai homogen menggunakan *stirer*. Masukkan kedalam autoclave selama $\pm 1,5 - 2$ jam supaya steril lalu diamkan sampai dengan suhu $\pm 55^{\circ}\text{C}$. Masukkan Bacitracin sebanyak 10 ml kedalam tabung tersebut, tuang kedalam cawan petri steril *disposable* ± 20 ml kemudian dinginkan dalam suhu kamar, apabila tidak langsung digunakan dapat disimpan dalam *refrigerator* dengan suhu $- 4^{\circ}\text{C}$.

4.9.2 Pemeriksaan Dentin Hipersensitif dan Dentin Non Sensitif

Pemilihan sampel dilakukan sesuai dengan kriteria inklusi penelitian, sisi yang mengalami resesi diidentifikasi dan subjek menandatangani *informed consent*. Gigi yang akan dites sensitivitasnya diisolasi menggunakan gulungan kapas kemudian dilakukan tes menggunakan tiga stimulus dimulai dengan stimulus dengan rasa sakit yang paling sedikit. Tes taktil dilakukan pertama sekali, diikuti oleh semprotan udara dan selanjutnya semprotan air.⁴⁴ Diantara ketiga tes yang dilakukan diberi jeda waktu selama 2- 3 menit.

1. Tes taktil : sonde digerakkan secara perlahan pada permukaan gigi yang mengalami resesi
2. Stimulus suhu / semprotan udara : menggunakan *3-way dental syringe* dari dental unit, dimana udara disemprot selama 1 detik dengan jarak antara *air syringe* dan gigi sebesar ± 1 cm
3. Stimulus osmotik / semprotan air : menggunakan *water syringe* dari dental unit, air disemprot selama 1 detik dengan jarak ± 1 cm

Subjek ditanya mengenai skor rasa sakit berdasarkan intensitas rasa sakit menurut Gillam & Newman, Kanapka & Colucci. Skor 0 dan 1 diklasifikasikan sebagai dentin non sensitif sedangkan skor 2 dan 3 diklasifikasikan sebagai dentin hipersensitif.¹⁸

4.9.3 Pemeriksaan Skor Plak

Gigi dikeringkan dengan semprotan udara lalu diperiksa secara kasat mata dibawah lampu dental unit dengan bantuan kaca mulut dan sonde. Telusuri sepertiga permukaan gigi bagian servikal dan sulkus gingiva. Hasil pengukurannya adalah 0 = tidak ada plak; 1 = ada plak tapi plak hanya bisa dilihat dengan menggunakan *disclosing agent* atau dengan menggoreskan sonde ke permukaan gigi; 2 = ada plak dan plak dapat terlihat dengan mata pada gigi dan tepi gingiva; 3 = plak terlihat sangat banyak pada poket gingiva dan/atau pada gigi dan tepi gingiva.

Grade		Abbreviation	Grades/Codes
0	No plaque		
1	Thin film of plaque at the gingival margin, visible only when scraped with an explorer		
2	Moderate amount of plaque along the gingival margin; interdental space free of plaque; plaque visible with the naked eye		
3	Heavy plaque accumulation at the gingival margin; interdental space filled with plaque	PI	0-3

Gambar 4.2 Cara Pemeriksaan Plak⁴⁵

4.9.4 Pengambilan Sampel Plak Gigi

Pengambilan sampel plak gigi subjek penelitian pada gigi kaninus atau premolar pertama dibagian bukal dengan menggunakan tusuk gigi steril dan dimasukkan dalam tabung endorf 1,5 ml berisi cairan PBS steril, ditutup serta diberi label nama dan kode. Sampel plak disimpan dalam kotak pendingin yang berisi batu es. Jika tidak langsung ditanam, sampel plak disimpan pada -20°C .

4.9.5 Pengambilan Sampel Saliva

Sampel saliva diambil dari subjek dengan cara tanpa distimulasi sebanyak ± 1 ml menggunakan corong steril dan ditampung dalam tabung endorf steril, ditutup serta diberi label nama dan kode. Sampel saliva disimpan

didalam kotak pendingin yang berisi es batu. Jika tidak langsung ditanam, sampel saliva disimpan pada -20°C .

4.9.6 Pembiakan Bakteri

Setelah tersedia medium selektif *S. mutans* maka semua sampel yang bersumber dari plak dan saliva dipipeting dan divorteks kemudian sebanyak 50 μl sampel disebar diatas medium selektif TYS20B menggunakan sengkeli kaca, selanjutnya semua cawan dimasukkan kedalam *anaerob jar* dan disalurkan gas anaerob selama ± 1 menit. Komposisi gas anaerob terdiri atas 80% N_2 , 10% CO_2 dan 10% H_2 (sertifikasi BOC Jakarta). Setiap cawan diinkubasi pada suhu 37°C selama 3 hari. Pada tahap akhir ini tersedia subjek plat agar yang berisi koloni bakteri yang bersumber dari plak gigi dan saliva.

4.9.7 Pembuatan Serial Dilusi dan Bakteri Kontrol *S. mutans* Serotipe *f*

Plat agar yang berisi bakteri *S. mutans* yang diperoleh dari Prof. Yamashita, Faculty of Dentistry, Kyushu University dengan identitas bakteri adalah *S. mutans* OMZ175 (serotipe *f*) dikerok dengan menggunakan jarum ose sampai tidak ada koloni yang tersisa kemudian dimasukkan dalam tabung endorf yang telah diisi 1 ml PBS lalu divorteks (beri kode 10^{11}). Siapkan 10 tabung endorf lain yang diisi dengan 900 μl PBS (beri kode 10^{10} hingga 10^1). Dari tabung endorf pertama ambil 100 μl masukkan ke tabung endorf kedua kemudian divorteks. Dari endorf kedua ambil 100 μl masukkan ke endorf ketiga kemudian divorteks, demikian seterusnya hingga tabung terakhir. Dari masing-masing endorf diambil 20 μl dan disebar diatas media agar. Dari setiap endorf dibuat duplo plat agar. Nantinya akan didapat 22 plat agar yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 hari. Semua endorf dan plat agar diberi kode. Bakteri kontrol *S. mutans* serotipe *f* dihitung untuk mendapatkan nilai CFU/ml.

Nilai CFU/ml yang didapat pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

$$10^1 = 4 \text{ CFU/ml}, 10^2 = 4 \times 10^1 \text{ CFU/ml}, 10^3 = 4 \times 10^3 \text{ CFU/ml}, 10^4 = 4 \times 10^5 \text{ CFU/ml}, 10^5 = 4 \times 10^7 \text{ CFU/ml}, 10^6 = 4 \times 10^9 \text{ CFU/ml}, 10^7 = 4 \times 10^{11} \text{ CFU/ml}, 10^8 = 4 \times 10^{12} \text{ CFU/ml}, 10^9 = 4 \times 10^{13} \text{ CFU/ml}, 10^{10} = 4 \times 10^{14} \text{ CFU/ml}$$

4.9.8 Ekstrak DNA

Ekstrak DNA bakteri menggunakan GeneJET™ genomic DNA Purification Kit (Fermentas®)

Tahapan ekstrak DNA meliputi :

1. Semua bakteri sampel yang tumbuh pada plat agar dikerok menggunakan jarum ose sampai tidak ada yang bersisa lalu dimasukkan dalam ependorf yang berisi 1 ml PBS, vorteks kemudian sentrifugasi selama 10 menit pada 5000 G, supernatan dibuang
2. Masukkan 180 µl *Lysis Buffer* kedalam tabung ependorf yang berisi pelet lalu inkubasi selama 30 menit pada 37°C
3. Tambahkan 200 µl *Lysis Solution* dan 20 µl Proteinase K.Mix, vorteks
4. Inkubasi sampel pada suhu 56°C selama 30 menit
5. Tambahkan 20 µl *RNase A Solution*, vorteks lalu inkubasi pada suhu ruang selama 10 menit
6. Tambahkan 400 µl ethanol 50%, pipeting lalu vorteks
7. Pindahkan sampel kedalam *spin column*, sentrifugasi *column* selama 1 menit pada 6000 G, buang tabung yang berisi cairan lalu *column* dimasukkan kedalam tabung baru (2 ml *collection tube*)
8. Tambahkan 500 µl *Wash Buffer I*, sentrifugasi selama 1 menit pada 8000 G, buang cairan lalu tempatkan kembali *column* pada *collection tube*
9. Tambahkan 500 µl *Wash Buffer II* kedalam *column*, sentrifugasi selama 3 menit pada kecepatan maksimum (≥ 12.000 G). Buang *collection tube* yang berisi larutan cair dan pindahkan *column* kedalam tabung ependorf 1,5 ml
10. Tambahkan 200 µl *Elution Buffer* tepat melalui bagian tengah membran *column* untuk menyaring genom DNA. Inkubasi pada suhu kamar selama 2 menit lalu sentrifugasi pada 8000 G selama 1 menit
11. Buang *spin column*, DNA sekarang berada dalam tabung ependorf. Gunakan langsung DNA yang sudah diekstrak atau simpan pada suhu -20°C

4.9.9 Spektrofotometri

DNA yang telah diekstrak diambil sebanyak 5 µl, masukkan dalam kuvet yang sebelumnya telah diisi dengan air miliQ sebanyak 495 µl, sehingga total

volume menjadi 500 μl , sementara didalam kuvet kontrol dimasukkan 500 μl air miliQ. Masukkan kuvet dalam spektrofotometer dengan panjang gelombang 280 kemudian sampel DNA di *running*. Satuan konsentrasi DNA adalah $\text{ng}/\mu\text{l}$ dan kebutuhan minimal untuk dilakukan *PCR* adalah 100 $\text{ng}/\mu\text{l}$.⁴⁶ Kegunaan dari spektrofotometri adalah untuk menentukan konsentrasi dan kemurnian DNA yang diperlukan pada kuantifikasi dengan *real time PCR* (Lampiran 6)

4.9.10 Amplifikasi Bakteri Menggunakan *Real-Time PCR*

Proses amplifikasi menggunakan mesin *real-time PCR* dengan primers sesuai yang tertera pada tabel 4.2 dibawah ini, dengan tahapan sebagai berikut:

1. Siapkan *master mix* untuk kurva standar (6 sampel) dengan menggunakan *universal primers* (16sRNA). Komposisi tiap *well* adalah SYBR *Green* 5 μl , *Forward Primers* 16sRNA 1 μl , *Reverse Primers* 16 sRNA 1 μl dan DNA template 3 μl (*S. mutans* serotipe *f*). Volume akhir pada masing-masing *well* adalah 10 μl . Setiap sampel dibuat duplikat.
2. Siapkan *master mix* untuk sampel (17 sampel) dengan menggunakan primers SM.F untuk deteksi *S. mutans* serotipe *f*, primers SC untuk deteksi *S. mutans* serotipe *c*, primers SM.E untuk deteksi *S. mutans* serotipe *e*, primers GTF-I untuk deteksi *S. sobrinus* serotipe *d* dan primers GTF-B untuk deteksi *S. mutans*.
Komposisi tiap *well* adalah SYBR *Green* 5 μl , *Forward Primers* 1 μl , *Reverse Primers* 1 μl dan DNA sampel 3 μl . Volume akhir pada masing-masing *well* adalah 10 μl . Setiap sampel dibuat duplikat. Untuk *well* sebagai kontrol negatif ditambahkan *nuclease free water* 3 μl .
3. *MicroAmp Fast Reaction Tubes* (8 *Tubes/strip*) diletakkan pada 48-*PCR well plate* kemudian diisi dengan *master mix* kontrol untuk mendapatkan kurva standar dan *master mix* sampel lalu ditutup menggunakan *MicroAmp Optical 8-cap Strip* kemudian di *running* pada mesin *real-time PCR*.
4. Deteksi dan amplifikasi dilakukan menggunakan mesin *real time PCR* (Applied Biosystems) pada 95°C selama 3 menit diikuti oleh 40 *cycles* pada 94°C selama 15 detik, 55°C selama 30 detik dan 72°C selama 30 detik.

Tabel 4.2 Primers yang Digunakan Pada *RT-PCR*

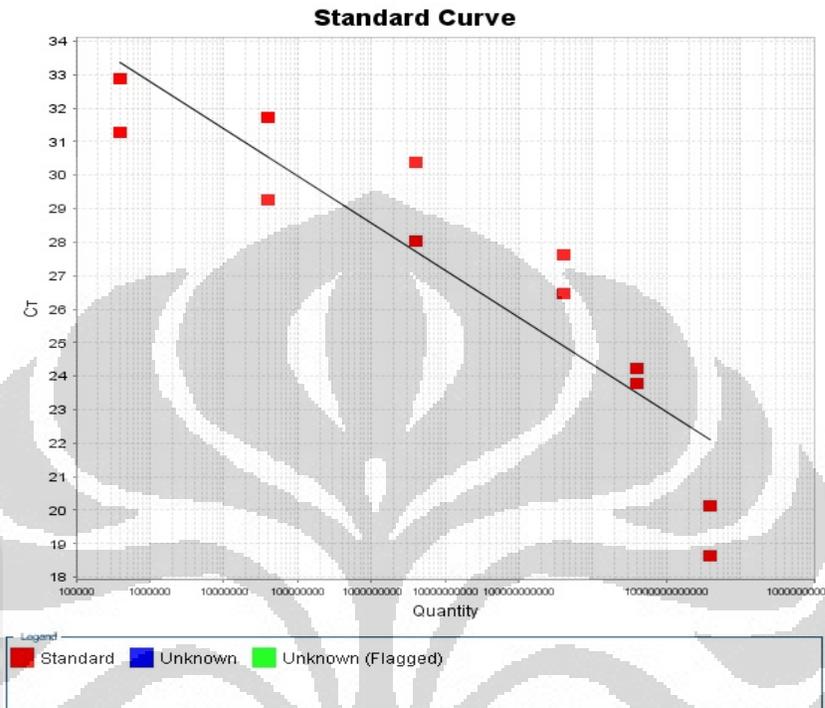
Primers	Sequence (5'-3')	Amplicon Size (bp)	Serotipe	Referensi
SC-F SC-R	CGGAGTGCTTTTACAAGTGCTGG AACCACGGCCAGCAAACCCTTAT	727	<i>c</i>	47
SE-F SE-R	CCTGCTTTTCAAGTACCTTTCGCC CTGCTTGCCAAGCCCTACTAGAAA	517	<i>e</i>	47
SF-F SF-R	CCCACAATTGGCTTCAAGAGGAGA TGCGAAACCATAAGCATAGCGAGG	316	<i>f</i>	47
GTFI-F GTFI-R	GATAACTACCTGACAGCTGACT AAGCTGCCTTAAGGTAATCACT	712	<i>d</i>	48
GTFB-F GTFB-R	ACTACACTTTCGGGTGGCTTGG CAGTATAAGCGCCAGTTTCATC	517	<i>S. mutans</i>	48
16sRNA-F 16sRNA-R	TGGAGCATGTGGTTTAATTCGA TGCGGGACTTAACCCAACA	160	<i>whole bacteria</i>	49

4.9.11 Penghitungan Jumlah Bakteri

Jumlah bakteri dari masing-masing serotipe dihitung berdasarkan korelasi antara C_T (*critical threshold cycles*) dan CFU (*colony forming unit*). *Critical threshold cycles* adalah jumlah siklus yang dibutuhkan untuk sinyal fluoresens memotong garis *threshold*.⁴³ Kurva standar untuk setiap organisme direncanakan bagi setiap primers dengan menggunakan nilai C_T yang diperoleh dari amplifikasi ekstrak DNA genom dari sampel yang berisi 4×10^1 hingga 4×10^{14} CFU/ml *S. mutans* serotipe *f*. (Gambar 4.3) Jumlah CFU/ml didapatkan dari dilusi kultur *S. mutans* serotipe *f* yang ditanam pada media agar TYS20B.

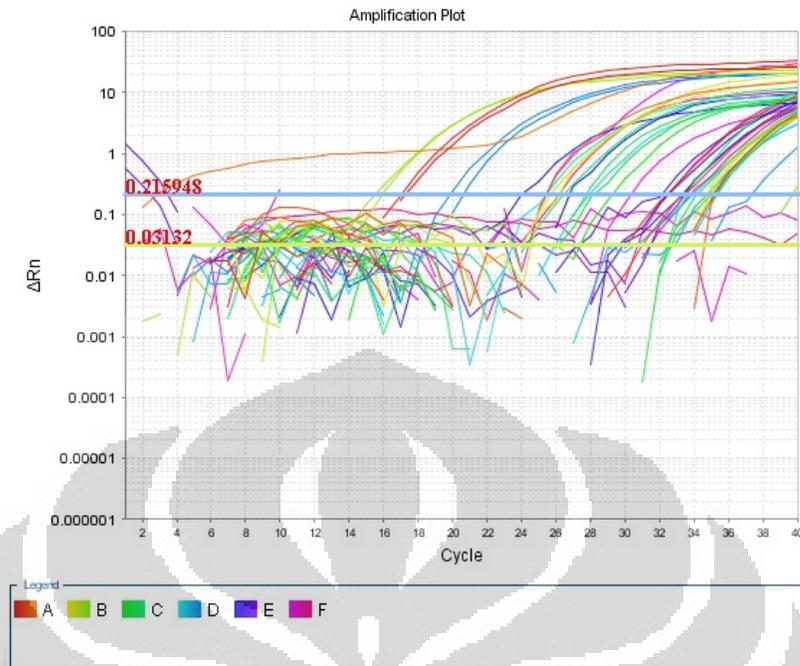
Untuk menentukan garis lurus dan menemukan batas pengujian, dalam penelitian ini larutan *S. mutans* serotipe *f* diamplifikasi pada dilusi kelipatan 10 secara berurutan pada rangkaian *real time PCR*. Deteksi dan kuantifikasi berada pada garis lurus dengan kisaran dari 4×10^5 hingga 4×10^{13} CFU/ml per campuran reaksi bagi *S. mutans* serotipe *c*, *e*, *f* dan *S. sobrinus* serotipe *d*. Nilai bakteri yang didapat dibagi dengan 10^5 untuk mengurangi eksponen yang terlalu tinggi. Untuk mendapatkan proporsi dan jumlah bakteri, nilai CFU/ml diubah kedalam bentuk

log₁₀ CFU/ml. Pada penelitian ini amplifikasi DNA menggunakan *real-time PCR* dilakukan dengan pengulangan sebanyak dua kali (duplikat)



Gambar 4.3 Kurva Standar dari Bakteri *S. mutans* Serotipe *f*

Pada penelitian ini kurva standar untuk kuantifikasi bakteri dibuat menggunakan serial dilusi dengan kelipatan 10 dari strain laboratoris yang murni yaitu *S. mutans* serotipe *f*. Sumbu horizontal menunjukkan jumlah bakteri sedangkan sumbu vertikal menunjukkan *threshold cycles* (C_T) yaitu jumlah siklus ketika fluoresens mencapai garis *threshold*. Semakin tinggi nilai C_T maka jumlah bakteri semakin sedikit.⁴³



Gambar 4.4 Amplifikasi Gtfl (*S. sobrinus*)

Gambar 4.4 memperlihatkan gambaran salah satu contoh amplifikasi DNA pada penelitian ini. Primers spesifik yang digunakan yaitu Gtfl untuk deteksi dan kuantifikasi *S. sobrinus*. DNA laboratoris murni dari *S. mutans* serotipe *f* digunakan pada *template* untuk melihat jumlah *S. sobrinus*. Nilai C_T diwakili antara 15 hingga 36 dimana besarnya sinyal fluoresens yang ditangkap (ΔRn) oleh garis *threshold* horizontal berwarna biru muda menggambarkan nilai C_T dari sampel.⁴³

4.10 Analisis Data

Seluruh data dianalisis menggunakan *Step One Real-time PCR Systems Software*. Uji statistik menggunakan *one way ANOVA* untuk melihat tingkat signifikan dari variabel penelitian. Hasil uji dinyatakan dalam nilai *p*. Apabila nilai $p < 0,05$ maka dinyatakan terdapat perbedaan yang bermakna. Apabila nilai $p > 0,05$, maka dinyatakan tidak terdapat perbedaan yang bermakna.

4.11 Masalah Etika

Subjek yang memenuhi kriteria penelitian diberi informasi mengenai manfaat, keuntungan dan ketidaknyamanan yang dialami selama prosedur penelitian. Subjek yang bersedia mengikuti penelitian akan menandatangani lembar persetujuan sebagai subjek penelitian (lampiran 3). Penelitian ini telah mendapat persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia dengan nomor: 48/Etichal Clearance/FKGUI/XI/2011/26 September 2011 (lampiran1).



BAB 5 HASIL PENELITIAN

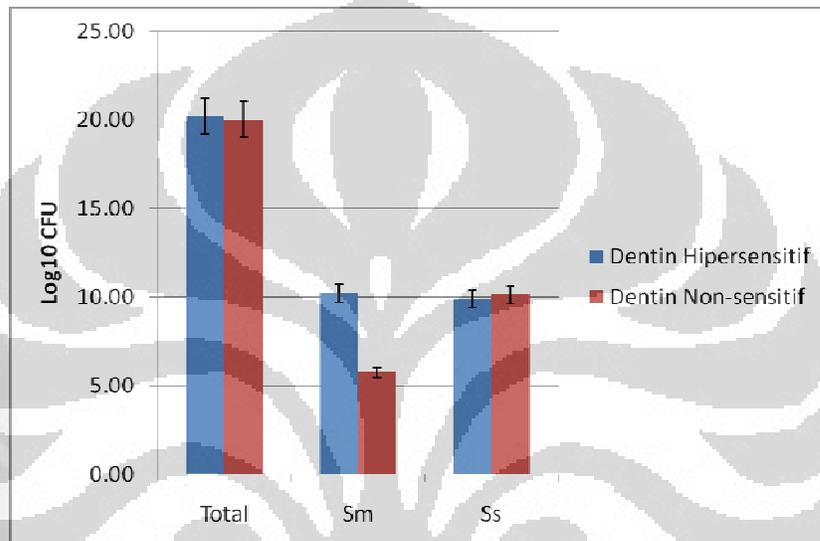
Penelitian dilakukan sejak bulan Januari hingga Maret 2012 di klinik Periodonsia RSGMP FKG UI dan laboratorium Biologi Oral FKG UI. Pengumpulan data primer didapatkan melalui pemeriksaan klinis berupa akumulasi plak, resesi gingiva dan sensitifitas gigi serta pemeriksaan laboratorium berupa serotipe *S. mutans* dan *S. sobrinus* yang diperiksa dari sampel plak gigi dan saliva. Jumlah subjek yang diperiksa adalah 10 subjek yang terdiri dari lima subjek yang mengalami resesi gingiva dengan dentin hipersensitif dan lima subjek yang mengalami resesi gingiva dengan dentin non sensitif serta tujuh sampel saliva dari lingkungan mulut yang mengalami dentin hipersensitif, dentin non sensitif dan gabungan dari kedua kondisi ini. Jumlah sampel penelitian belum sesuai dengan perhitungan besar sampel yang direncanakan karena penelitian ini masih merupakan penelitian pendahuluan.

Tabel 5.1 Jumlah Bakteri Total, *S. mutans* dan *S. sobrinus* dari Sampel Plak pada Penderita Dentin Hipersensitif dan Non Sensitif

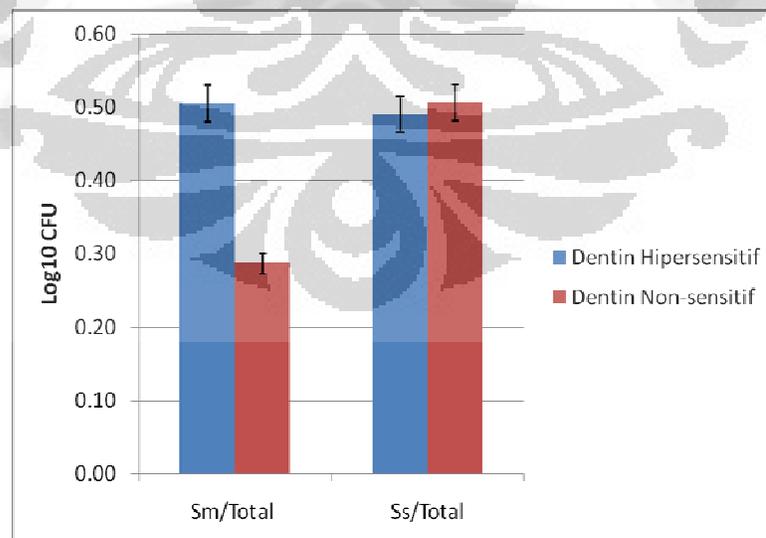
Kondisi dentin/ No. Sampel	Bakteri Total (CFU/ml)	<i>S. mutans</i> (CFU/ml)	<i>S. sobrinus</i> (CFU/ml)	Nilai p
Dentin Hipersensitif				0,000
1	4×10^{14}	$2,8 \times 10$	4×10^{10}	
2	4×10^{20}	$1,2 \times 10^3$	$3,2 \times 10^2$	
3	$1,2 \times 10^{18}$	3×10^2	$2,6 \times 10^2$	
4	4×10^{17}	$2,2 \times 10^3$	$2,8 \times 10^2$	
5	4×10^{20}	8×10^{10}	$3,6 \times 10^6$	
Dentin non sensitif				
6	$1,2 \times 10^{20}$	4×10^2	4×10^2	
7	4×10^{18}	$3,6 \times 10^2$	$1,8 \times 10^2$	
8	4×10^{20}	$2,8 \times 10^2$	8×10^4	
9	ND	ND	$2,8 \times 10^{10}$	
10	2×10^{18}	$2,8 \times 10^6$	4×10^{10}	

Keterangan : *One Way Anova test*; ND = Not detected, $p < 0,05$ bermakna; 1 s/d 5 = nomor sampel dari dentin hipersensitif, 6 s/d 10 = nomor sampel dari dentin non sensitif

Tabel 5.1 memperlihatkan jumlah bakteri total, *S. mutans* dan *S. sobrinus* dari sampel plak pada penderita dentin hipersensitif dan dentin non sensitif yang dihitung berdasarkan hasil dari metode *real-time PCR*. Uji statistik dari jumlah bakteri *S. mutans* dan *S. sobrinus* dari sampel plak pada penderita resesi gingiva dengan dentin hipersensitif dan non sensitif memperlihatkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)



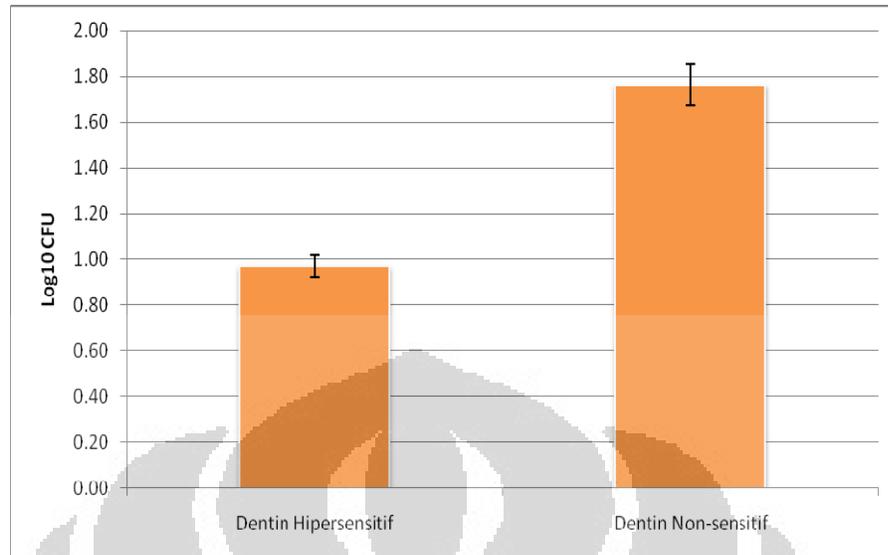
Gambar 5.1 Jumlah Bakteri Total, *S. mutans* (Sm) dan *S. sobrinus* (Ss) dari Sampel Plak pada Penderita Dentin Hipersensitif dan Non Sensitif



Gambar 5.2 Rasio *S. mutans* (Sm) dan *S. sobrinus* (Ss) terhadap Bakteri Total dari Sampel Plak Penderita Dentin Hipersensitif dan Non Sensitif

Tabel 5.1 dan gambar 5.1 memperlihatkan bahwa jumlah *S. mutans* pada penderita dentin hipersensitif lebih banyak dibandingkan jumlah *S. mutans* pada dentin non sensitif. Berdasarkan uji statistik menunjukkan perbedaan yang bermakna dari jumlah *S. mutans* pada dentin hipersensitif dan dentin non sensitif. Gambar 5.2 memperlihatkan proporsi *S. mutans* sebesar 51% pada penderita dentin hipersensitif sedangkan pada penderita dentin non sensitif proporsi *S. mutans* sebesar 29%. **Dengan demikian hipotesis minor 3.2.2.1 yang menyatakan bahwa jumlah serta distribusi *S. mutans* dari sampel plak lebih banyak pada penderita resesi gingiva dengan dentin hipersensitif daripada dentin non sensitif diterima.**

Tabel 5.1 dan gambar 5.1 diatas juga terlihat bahwa jumlah *S. sobrinus* lebih banyak pada penderita dentin non sensitif dibandingkan jumlah *S. sobrinus* pada penderita dentin hipersensitif. Berdasarkan uji statistik menunjukkan perbedaan yang bermakna dari jumlah *S. sobrinus* pada penderita dentin hipersensitif dan penderita dentin non sensitif. Gambar 5.2 memperlihatkan proporsi *S. sobrinus* sebesar 49% pada penderita dentin hipersensitif sedangkan pada penderita dentin non sensitif proporsi *S. sobrinus* sebesar 51%. **Dengan demikian Hipotesis minor 3.2.2.2 yang menyatakan bahwa jumlah serta distribusi *S. sobrinus* dari sampel plak lebih banyak pada penderita resesi gingiva dengan dentin non sensitif daripada dentin hipersensitif diterima**



Gambar 5.3 Rasio *S. sobrinus* terhadap *S. mutans* dari Sampel Plak pada Penderita Dentin Hipersensitif dan Non Sensitif

Gambar 5.3 memperlihatkan bahwa proporsi *S. sobrinus* terhadap *S. mutans* lebih rendah pada keadaan dentin hipersensitif, yaitu sebesar 97%.

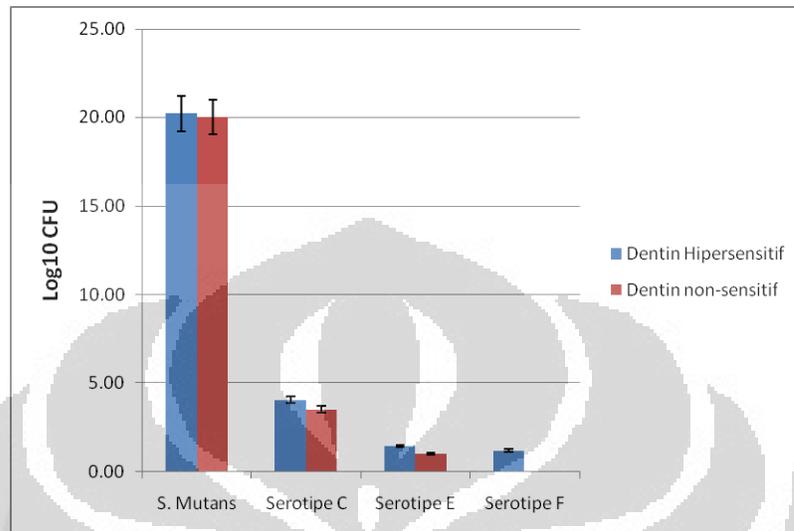
Tabel 5.2 Jumlah *S. mutans* Serotipe *c*, *e* dan *f* dari Sampel Plak pada Penderita Dentin Hipersensitif dan Non Sensitif

Kondisi dentin/ No. sampel	<i>S. mutans</i> (CFU/ml)			Nilai p
	Serotipe <i>c</i>	Serotipe <i>e</i>	Serotipe <i>f</i>	
Dentin hipersensitif				0,291
1	4	4	ND	
2	8×10^3	4	ND	
3	6×10^3	$1,2 \times 10^2$	8×10	
4	8×10^2	4	ND	
5	4×10^4	4	ND	
Dentin non sensitif				
6	2×10^3	4	ND	
7	4×10^3	4	ND	
8	8×10^3	4×10	ND	
9	4	ND	ND	
10	2×10^3	6	ND	

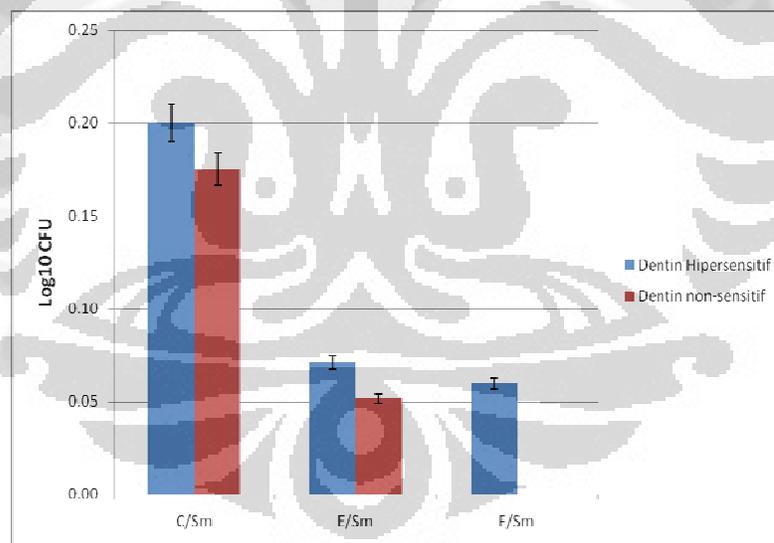
Keterangan : *One Way Anova Test*; ND = *Not Detected*, $p > 0,05$ tidak bermakna

Tabel 5.2 memperlihatkan jumlah *S. mutans* serotipe *c*, *e*, *f* dari sampel plak pada penderita dentin hipersensitif dan dentin non sensitif yang dihitung dengan menggunakan metode *real-time PCR*. Uji statistik dari jumlah *S. mutans* serotipe *c*, *e*, *f* dari sampel plak pada penderita resesi gingiva dengan dentin

hipersensitif dan dentin non sensitif memperlihatkan perbedaan yang tidak bermakna ($p>0,05$)



Gambar 5.4 Jumlah *S. mutans* serta *S. mutans* Serotipe *c*, *e* dan *f* dari Sampel Plak Penderita Dentin Hipersensitif dan Non Sensitif



Gambar 5.5 Rasio *S. mutans* Serotipe *c*, *e* dan *f* terhadap *S. mutans* dari Sampel Plak pada Penderita Dentin Hipersensitif dan Non Sensitif

Tabel 5.2 dan gambar 5.4 memperlihatkan bahwa dari sampel plak, *S. mutans* serotipe *c* lebih banyak dijumpai pada penderita dentin hipersensitif daripada penderita dentin non sensitif. *S. mutans* serotipe *e* lebih banyak dijumpai pada dentin hipersensitif daripada dentin non sensitif. *S. mutans* serotipe *f* hanya

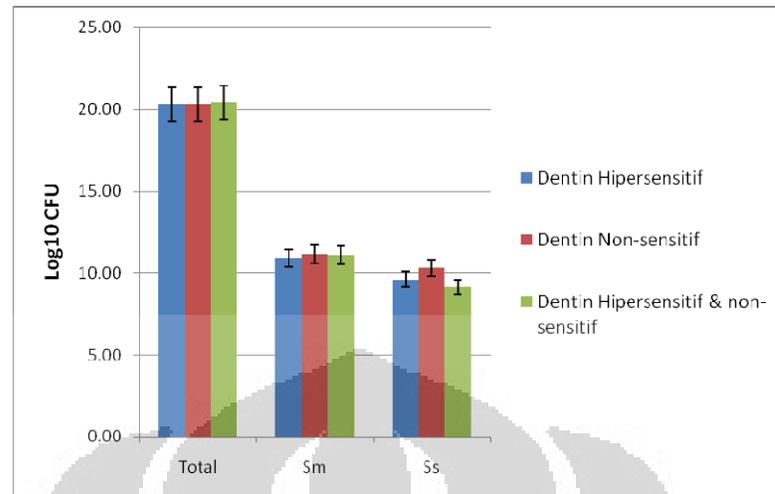
dijumpai pada dentin hipersensitif. Jadi pada dentin hipersensitif, *S. mutans* serotipe *c* lebih banyak dijumpai daripada serotipe *e* dan *f*. Berdasarkan uji statistik menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna ($p>0,05$) dari jumlah *S. mutans* serotipe *c* antara penderita resesi gingiva dengan dentin hipersensitif dan dentin non sensitif. Gambar 5.5 memperlihatkan bahwa pada penderita dentin hipersensitif, proporsi *S. mutans* serotipe *c*, *e* dan *f* terhadap *S. mutans* berturut-turut adalah sebesar 20%, 7% dan 6%. Pada dentin non sensitif, proporsi *S. mutans* serotipe *c*, *e* dan *f* terhadap *S. mutans* berturut-turut adalah 18%, 5% dan 0%. **Dengan demikian hipotesis minor 3.2.2.3 yang menyatakan bahwa jumlah serta distribusi *S. mutans* serotipe *c* dari sampel plak lebih banyak pada penderita dentin hipersensitif daripada dentin non sensitif ditolak.**

Tabel 5.3 Jumlah Bakteri Total, *S. mutans* dan *S. sobrinus* dari Sampel Saliva pada Penderita Dentin Hipersensitif, Non Sensitif dan Gabungan keduanya

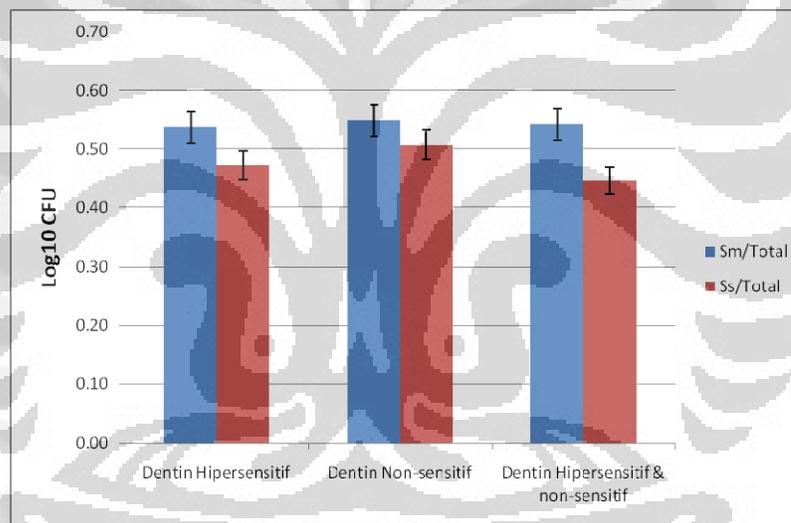
Kondisi dentin/ No. sampel	Bakteri total (CFU/ml)	<i>S. mutans</i> (CFU/ml)	<i>S. sobrinus</i> (CFU/ml)	Nilai p
Dentin Hipersensitif				0,06
1	ND	4	8×10^9	
4	4×10^{20}	$1,6 \times 10^{11}$	4×10^2	
Dentin non sensitif				
6	4×10^{20}	$2,8 \times 10^{11}$	$2,2 \times 10^6$	
9	4×10^{17}	$1,6 \times 10^5$	4×10^{10}	
Dentin Hipersensitif dan non sensitif				
2 & 7	$3,6 \times 10^{20}$	$3,2 \times 10^8$	$3,2 \times 10^2$	
3 & 8	4×10^{20}	$3,4 \times 10^{11}$	2×10^7	
5 & 10	$3,2 \times 10^{19}$	$1,6 \times 10^{10}$	4×10^9	

Keterangan : *One Way Anova test*; ND = Not Detected, $p<0,05$ bermakna

Tabel 5.3 memperlihatkan jumlah bakteri total, *S. mutans* dan *S. sobrinus* dari sampel saliva pada penderita dentin hipersensitif, dentin non sensitif dan gabungan keduanya yang dihitung dengan menggunakan metode *real-time PCR*. Uji statistik dari jumlah bakteri *S. mutans* dan *S. sobrinus* dari sampel saliva pada penderita resesi gingiva dengan dentin hipersensitif, non sensitif dan gabungan keduanya memperlihatkan perbedaan yang bermakna ($p<0,05$)



Gambar 5.6 Jumlah Bakteri Total, *S. mutans* dan *S. sobrinus* dari Sampel Saliva pada Penderita Dentin Hipersensitif, Non Sensitif dan Gabungan keduanya

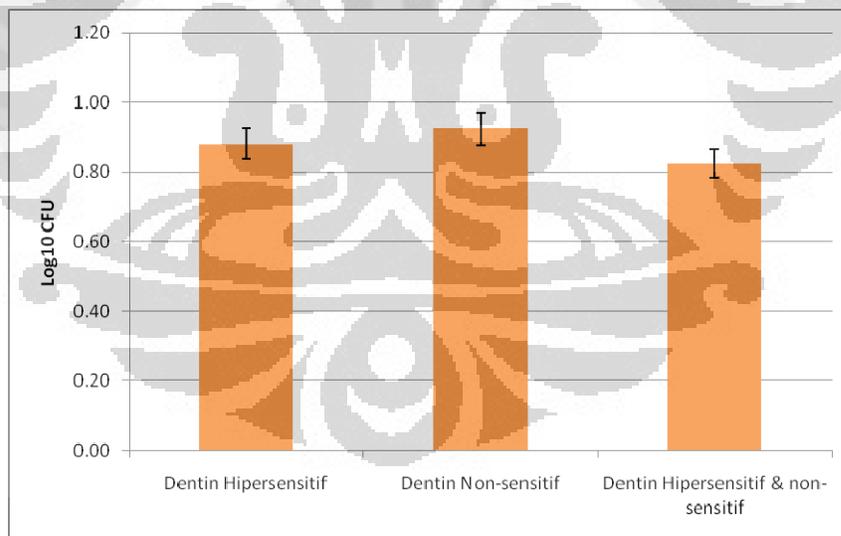


Gambar 5.7 Rasio *S. mutans* dan *S. sobrinus* terhadap Bakteri Total dari Sampel Saliva Penderita Dentin Hipersensitif, Non Sensitif dan Gabungan keduanya

Tabel 5.3 dan gambar 5.6 memperlihatkan bahwa dari sampel saliva jumlah *S. mutans* lebih banyak ditemukan pada penderita dentin non sensitif daripada penderita dentin hipersensitif dan penderita gabungan keduanya. Berdasarkan uji statistik menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) dari jumlah *S. mutans* antara penderita dentin hipersensitif, dentin non sensitif dan gabungan keduanya. Gambar 5.7 memperlihatkan bahwa proporsi *S. mutans* pada penderita dentin hipersensitif sebesar 54%, pada penderita dentin non sensitif

sebesar 55% dan pada penderita dengan gabungan keduanya sebesar 54%. **Dengan demikian hipotesis minor 3.2.2.4 yang menyatakan bahwa jumlah dan distribusi *S. mutans* dari sampel saliva lebih banyak pada penderita resesi gingiva dengan dentin hipersensitif daripada dentin non sensitif dan gabungan keduanya ditolak.**

Tabel 5.3 dan gambar 5.6 juga memperlihatkan jumlah *S. sobrinus* lebih banyak ditemukan pada penderita dentin non sensitif daripada penderita dentin hipersensitif dan penderita dengan gabungan keduanya. Berdasarkan uji statistik menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) dari jumlah *S. sobrinus* antara penderita dentin hipersensitif, dentin non sensitif dan gabungan keduanya. Gambar 5.7 memperlihatkan bahwa proporsi *S. sobrinus* pada penderita dentin hipersensitif sebesar 47%, pada penderita dentin non sensitif sebesar 51% dan pada penderita dengan gabungan keduanya sebesar 45%. **Dengan demikian hipotesis minor 3.2.2.5 yang menyatakan bahwa jumlah serta distribusi *S. sobrinus* dari sampel saliva lebih banyak pada penderita resesi gingiva dengan dentin non sensitif daripada keadaan lain diterima.**



Gambar 5.8 Rasio *S. sobrinus* terhadap *S. mutans* dari Sampel Saliva pada Penderita Dentin Hipersensitif, Non Sensitif dan Gabungan keduanya

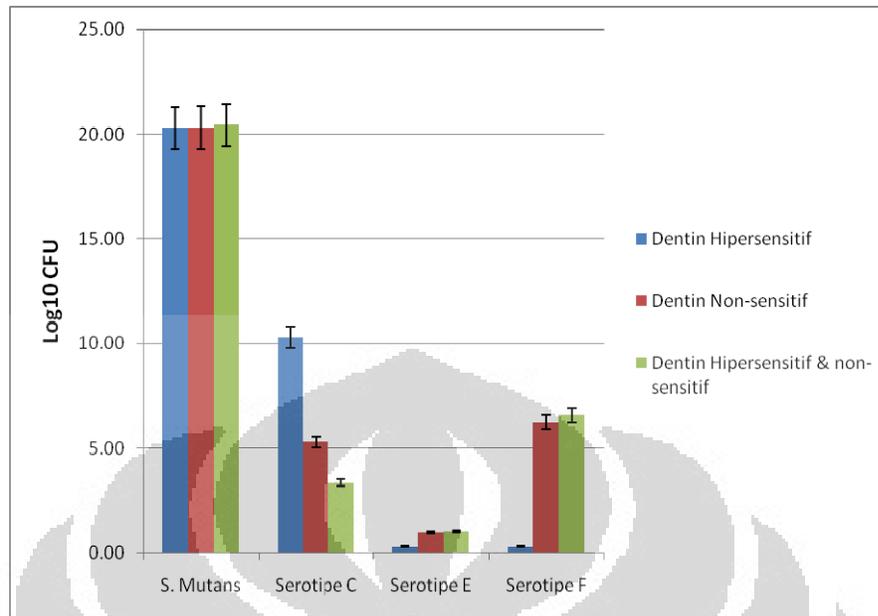
Gambar 5.8 memperlihatkan proporsi *S. sobrinus* terhadap *S. mutans* pada penderita dentin hipersensitif sebesar 88%, pada penderita dentin non sensitif sebesar 92% dan pada penderita gabungan keduanya sebesar 81%.

Tabel 5.4 Jumlah *S. mutans* serotipe *c*, *e* dan *f* dari Sampel Saliva pada Penderita Dentin Hipersensitif, Non Sensitif dan Gabungan keduanya

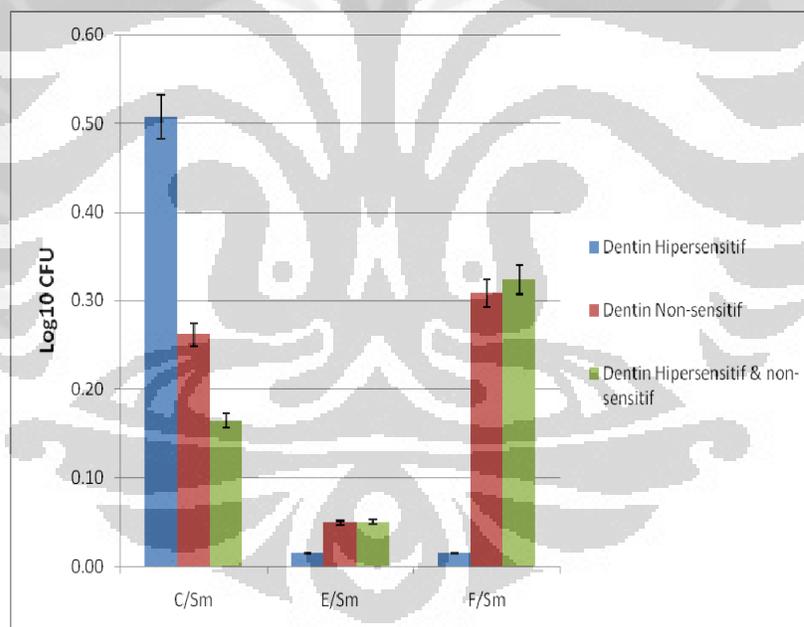
Kondisi dentin/ No. sampel	<i>S. mutans</i> (CFU/ml)			Nilai p
	Serotipe <i>c</i>	Serotipe <i>e</i>	Serotipe <i>f</i>	
Dentin hipersensitif				0,000
1	4×10^{10}	ND	ND	
4	$1,6 \times 10^3$	4	4	
Dentin non sensitif				
6	4×10^5	$1,6 \times 10$	$3,6 \times 10^6$	
9	$3,6 \times 10^2$	4	ND	
Dentin hipersensitif dan non sensitif				
2 & 7	2×10^3	$1,6 \times 10$	$1,6 \times 10$	
3 & 8	2×10^3	4	$1,2 \times 10^7$	
5 & 10	$2,8 \times 10^3$	$1,2 \times 10$	ND	

Keterangan : *One Way Anova Test*; ND = *Not Detected*, $p < 0,05$ bermakna

Tabel 5.4 memperlihatkan jumlah *S. mutans* serotipe *c*, *e*, *f* dari sampel saliva pada penderita dentin hipersensitif, dentin non sensitif dan gabungan keduanya yang dihitung berdasarkan hasil dari metode *real-time PCR*. Uji statistik jumlah *S. mutans* serotipe *c*, *e*, *f* dari sampel saliva pada penderita resesi gingiva dengan dentin hipersensitif, dentin non sensitif dan gabungan keduanya memperlihatkan ada perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)



Gambar 5.9 Jumlah *S. mutans* serta *S. mutans* Serotipe *c*, *e* dan *f* dari Sampel Saliva pada Penderita Dentin Hipersensitif, Non sensitif dan Gabungan keduanya



Gambar 5.10 Rasio *S. mutans* Serotipe *c*, *e* dan *f* terhadap *S. mutans* dari Sampel Saliva pada Penderita Dentin Hipersensitif, Non Sensitif dan Gabungan keduanya

Tabel 5.4 dan gambar 5.9 memperlihatkan bahwa dari sampel saliva, jumlah *S. mutans* serotipe *c* lebih banyak dijumpai pada penderita dentin hipersensitif daripada penderita dentin non sensitif dan penderita gabungan

keduanya. *S. mutans* serotipe *e* lebih banyak dijumpai pada penderita dentin non sensitif dan penderita gabungan keduanya kemudian diikuti oleh penderita dentin hipersensitif. *S. mutans* serotipe *f* lebih banyak dijumpai pada penderita dengan gabungan keduanya diikuti oleh penderita dentin non sensitif dan paling sedikit dijumpai pada penderita dentin hipersensitif. Berdasarkan uji statistik menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) dari jumlah *S. mutans* serotipe *c* antara penderita dentin hipersensitif, dentin non sensitif dan gabungan keduanya. Gambar 5.10 memperlihatkan bahwa proporsi *S. mutans* serotipe *c*, *e* dan *f* terhadap *S. mutans* pada penderita dentin hipersensitif berturut-turut adalah sebesar 51%, 1% dan 1%. Pada penderita dentin non sensitif, proporsi *S. mutans* serotipe *c*, *e* dan *f* terhadap *S. mutans* berturut-turut adalah 26%, 5% dan 31%. Pada penderita dengan gabungan keduanya, proporsi *S. mutans* serotipe *c*, *e* dan *f* berturut-turut adalah 16%, 5% dan 32%. **Dengan demikian hipotesis minor 3.2.2.6 yang menyatakan bahwa jumlah serta distribusi *S. mutans* serotipe *c* dari sampel saliva lebih banyak pada penderita dentin hipersensitif daripada keadaan lainnya diterima.**

BAB 6

PEMBAHASAN

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk melihat distribusi dan kuantifikasi bakteri *S. mutans* dan *S. sobrinus* pada penderita resesi gingiva dengan dentin hipersensitif dan dentin non sensitif. Pengambilan sampel dari subjek penelitian dilakukan pada bulan Januari 2012 di klinik Periodonsia Rumah Sakit Gigi dan Mulut Pendidikan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia. Subjek penelitian adalah gigi kaninus/ premolar pertama pada rahang atas atau rahang bawah yang mengalami resesi gingiva baik dengan dentin hipersensitif atau dentin non sensitif. Kaninus dan premolar sering mengalami masalah dentin hipersensitif karena posisinya pada lengkung rahang sering mendapat perhatian lebih selama proses penyikatan gigi.¹ Dengan demikian kedua gigi ini digunakan sebagai sumber sampel plak. Tidak semua gigi yang mengalami resesi gingiva mengalami masalah dentin hipersensitif. Hal ini mungkin disebabkan adanya proses reparasi alami.⁵⁰ Subjek penelitian berjumlah 10 yang terdiri dari lima subjek pada kelompok yang mengalami resesi dengan dentin hipersensitif dan lima subjek pada kelompok yang mengalami resesi tanpa disertai dentin hipersensitif. Sumber saliva diambil dari dua penderita dentin hipersensitif, dua penderita dentin non sensitif dan tiga orang penderita yang pada rongga mulutnya dijumpai dentin hipersensitif dan dentin non sensitif secara bersamaan (gabungan keduanya).

Rentang usia pasien pada penelitian ini adalah 34-48 tahun. Insiden dentin hipersensitif dilaporkan paling sering terjadi pada usia 30-40 tahun. Menurut laporan dari literatur, dentin hipersensitif rata-rata terjadi pada usia 20-50 tahun.²⁰ Rentang usia pada penelitian ini dibatasi karena dibawah usia 20 tahun dianggap belum terjadi resesi gingiva sedangkan diatas usia 50 tahun terjadinya dentin hipersensitif berkurang karena adanya sklerosis sebagai desensitisasi alami dan pembentukan dentin sekunder.⁴

Gigi yang mengalami atrisi dan abrasi tidak dimasukkan kedalam penelitian ini karena proses trauma yang berlangsung terus menerus dapat merangsang perlindungan alami misalnya pembentukan dentin sekunder dan

sklerosis.¹⁹ Pasien yang mengalami gangguan pada lambung, hamil (*morning sickness*) atau bulimia merupakan kriteria eksklusi dari penelitian ini karena lingkungan mulut suasananya sangat asam.¹⁹

Pada penelitian ini kami memilih *real time PCR* untuk identifikasi dan kuantifikasi bakteri karena alat ini lebih akurat dan dapat dipercaya untuk menentukan konsentrasi bakteri dari sampel klinis. Keuntungan lain menggunakan *real time PCR* adalah bakteri tidak harus dalam keadaan hidup dan sampel tetap stabil untuk penyimpanan jangka panjang jika dibekukan.⁵¹ Kemampuan alat *real time PCR* untuk kuantifikasi bakteri dari sampel lebih menguntungkan karena penemuan jumlah bakteri dapat dihubungkan dengan kondisi klinis, berbeda dengan *PCR* konvensional yang hanya melihat ada atau tidaknya bakteri.⁵²

Real time PCR dengan primers yang spesifik akan menghasilkan metode yang akurat juga sensitif untuk identifikasi serta kuantifikasi spesies bakteri dan populasi bakteri yaitu bakteri total secara keseluruhan yang dijumpai dari sampel penelitian.⁵³ Pada penelitian ini digunakan primers universal 16S RNA untuk menghitung jumlah bakteri total (tabel 4.2)

Metode kuantifikasi yang digunakan untuk menghitung jumlah bakteri pada penelitian ini adalah kuantifikasi absolut, yaitu jumlah bakteri hasil kuantifikasi *real time PCR* yang mengacu pada kurva standar, yang diperoleh berdasarkan pengenceran DNA bakteri strain laboratoris.³⁹ Bakteri standar yang digunakan adalah strain laboratoris yang murni. *Level S. mutans* serotipe *c, e, f*, dan *S. sobrinus* serotipe *d* serta bakteri total dari sampel plak dan saliva dihitung berdasarkan konversi terhadap nilai C_T .

Pada penelitian ini, jumlah *S. mutans* dari sampel plak lebih banyak ditemukan pada penderita resesi gingiva dengan dentin hipersensitif dibandingkan dentin non sensitif dengan proporsi 51%. Jumlah *S. sobrinus* dari sampel plak lebih banyak ditemukan pada penderita resesi gingiva dengan dentin non sensitif daripada dentin hipersensitif dengan proporsi 51%. Penelitian serupa menggunakan *real-time PCR* untuk melihat jumlah *S. mutans* dan *S. sobrinus* pada sampel plak pernah dilaporkan oleh Choi dkk., yang dihubungkan dengan karies dini pada anak-anak. Hasilnya memperlihatkan bahwa anak-anak dengan karies dini memiliki *level S. mutans* dan *S. sobrinus* yang tinggi pada sampel plak.

Pada kelompok bebas karies *S. sobrinus* hampir tidak terdeteksi.⁵² Perbedaan ini mungkin disebabkan karena plak diambil dari kondisi subjek yang berbeda, pada penelitian ini plak diambil dari subjek dengan dentin hipersensitif atau non sensitif, sementara penelitian yang dilakukan oleh Choi dkk., sampel plak diambil dari subjek karies dan bebas karies. Meskipun derajat keasaman berhubungan dengan patogenesis karies dan dentin hipersensitif, dalam penelitian ini tidak dilakukan pengukuran derajat keasaman sampel penelitian.

Jumlah *S. mutans* dan *S. sobrinus* dari sampel saliva lebih banyak ditemukan pada penderita dentin non sensitif daripada penderita dentin hipersensitif dan penderita gabungan keduanya dengan proporsi *S. mutans* 55% dan *S. sobrinus* 51%. Hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa proporsi *S. mutans* lebih tinggi daripada proporsi *S. sobrinus* pada penderita dentin non sensitif. Penelitian yang dilakukan oleh Nurelhuda dkk., melalui kuantifikasi *S. mutans* dan *S. sobrinus* dari saliva anak sekolah di Sudan menggunakan *real time PCR*, ditemukan bahwa pada kelompok karies aktif proporsi *S. sobrinus* lebih tinggi daripada *S. mutans* dan pada kelompok bebas karies proporsi *S. mutans* lebih tinggi daripada *S. sobrinus*.⁵⁴ Proporsi *S. mutans* yang lebih tinggi dari sampel saliva pada kelompok dentin non sensitif dan kelompok bebas karies mungkin menggambarkan bahwa *S. mutans* tidak berperan dalam terjadinya dentin hipersensitif dan karies pada kedua penelitian ini. Saliva sering dijadikan media sampel karena dapat dipercaya dalam memperkirakan prevalensi bakteri rongga mulut dan saliva selalu berkontak dengan permukaan gigi sehingga menggambarkan koloni *Mutans streptococci* yang lebih baik pada permukaan dentin.³⁸

Pada penelitian ini dijumpai adanya perbedaan jumlah serta distribusi serotipe *S. mutans* dari sampel plak dan saliva pada penderita resesi gingiva dengan dentin hipersensitif dan dentin non sensitif. Berdasarkan uji statistik tidak terdapat perbedaan bermakna dari jumlah serotipe *S. mutans* dari sampel plak antara penderita dentin hipersensitif dan penderita dentin non sensitif ($p>0,05$), sementara dari sampel saliva terdapat perbedaan bermakna jumlah serotipe *S. mutans* antara penderita dentin hipersensitif, penderita dentin non sensitif dan penderita dengan gabungan keduanya ($p<0,05$).

Pada sampel plak, jumlah *S. mutans* serotipe *c* lebih banyak ditemukan pada penderita dentin hipersensitif daripada dentin non sensitif. Demikian juga dengan *S. mutans* serotipe *e* dan *f* yang lebih banyak ditemukan pada penderita dentin hipersensitif daripada dentin non sensitif. Jadi pada penelitian ini tidak ada perbedaan bermakna dari jumlah dan proporsi *S. mutans* serotipe *c* antara penderita dentin hipersensitif dan dentin non sensitif dari sampel plak. Menurut penelitian yang dilaporkan oleh Rizal, dari sampel plak ditemukan distribusi *S. mutans* serotipe *f* yang lebih banyak dari serotipe lain pada anak-anak yang mempunyai kebiasaan minum susu botol.⁴⁶ Perbedaan serotipe ini mungkin disebabkan sumber plak pada penelitian Rizal berasal dari gigi anak-anak yang mengkonsumsi susu botol. Stres pada lingkungan rongga mulut seperti konsumsi sukrosa dapat menyebabkan perubahan lingkungan biofilm gigi yang merangsang perubahan komposisi bakteri biofilm terutama spesies yang bersifat asidogenik dan asidurik.⁵⁵

Pada sampel saliva, jumlah *S. mutans* serotipe *c* lebih banyak ditemukan pada penderita dentin hipersensitif dengan proporsi 51% diikuti *S. mutans* serotipe *f* yang ditemukan pada penderita gabungan keduanya dengan proporsi 32%. Pada penelitian ini *S. mutans* serotipe *c* dari sampel saliva mungkin berperan dalam terjadinya dentin hipersensitif ($p < 0,05$) Berdasarkan literatur diketahui bahwa *S. mutans* serotipe *c* lebih asidurik yaitu lebih dapat bertahan hidup dalam suasana asam dibandingkan serotipe yang lain.^{13, 14}

Penelitian yang dilakukan oleh Kawasaki dkk. menemukan bahwa biofilm gigi dapat mengakibatkan ukuran orofisi tubulus dentin menjadi tiga kali lebih besar dibandingkan ukuran normal, tetapi tindakan mengontrol biofilm dengan cara penyikatan gigi dan penggunaan obat kumur chlorheksidin mengakibatkan ukuran orifisi tubulus dentin berkurang sebesar 20% sehingga peranan asam dari biofilm gigi sebagai penyebab dentin hipersensitif menjadi terganggu.¹⁶ Kemungkinan bahwa *S. mutans* serotipe *c* berperan dalam terjadinya dentin hipersensitif perlu penelitian eksperimen yang lebih lanjut karena perlu dihubungkan dengan keadaan klinis.

Keterbatasan dalam penelitian ini adalah kami tidak melakukan pengukuran derajat keasaman sampel yang dihubungkan dengan jumlah *S. mutans*

dan *S. sobrinus* pada penderita dentin hipersensitif serta dentin non sensitif. Selain itu, keterampilan peneliti dalam prosedur pengerjaan sampel yang terbatas sementara *real-time PCR* merupakan alat yang sangat sensitif mungkin akan mempengaruhi hasil identifikasi dan kuantifikasi.



BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 KESIMPULAN

- 7.1.1 Jumlah *S. mutans* dari sampel plak lebih banyak pada penderita resesi gingiva dengan dentin hipersensitif daripada dentin non sensitif, dengan proporsi 51%
- 7.1.2 Jumlah *S. sobrinus* dari sampel plak lebih banyak pada penderita resesi gingiva dengan dentin non sensitif daripada dentin hipersensitif, dengan proporsi 51%
- 7.1.3 Jumlah *S. mutans* serotipe *c* dari sampel plak tidak berbeda antara penderita resesi gingiva dengan dentin hipersensitif ataupun dentin non sensitif, dengan proporsi 20%
- 7.1.4 Jumlah *S. mutans* dari sampel saliva lebih banyak pada penderita resesi gingiva dengan dentin non sensitif daripada dentin hipersensitif dan gabungan keduanya, dengan proporsi 55%
- 7.1.5 Jumlah *S. sobrinus* dari sampel saliva lebih banyak pada penderita resesi gingiva dengan dentin non sensitif daripada dentin hipersensitif dan gabungan keduanya, dengan proporsi 51%
- 7.1.6 Jumlah *S. mutans* serotipe *c* dari sampel saliva lebih banyak pada penderita resesi gingiva dengan dentin hipersensitif daripada dentin non sensitif dan gabungan keduanya, dengan proporsi 51%

7.2 SARAN

Saran dari penelitian ini:

- 7.2.1 Dilakukan kembali penelitian ini dengan jumlah sampel yang lebih banyak dan dengan pengulangan pada mesin *real time PCR* sebanyak tiga kali agar hasil penelitian dapat lebih diterima untuk pengembangan dan kemajuan ilmu pengetahuan

- 7.2.2 Dilakukan pengukuran derajat keasaman sampel yang dihubungkan dengan terjadinya dentin hipersensitif dan dentin non sensitif
- 7.2.3 Dilakukan penelitian lebih lanjut dengan memberi perlakuan secara klinis pada pasien penderita resesi gingiva dengan dentin hipersensitif



DAFTAR PUSTAKA

1. Dababneh RH, Khouri AT, Addy M. Dentin Hypersensitivity - An Enigma? A Review of Terminology, Epidemiology, Mechanisms, Aetology and Management. *British Dental J* 1999;187(11):606-11.
2. Chabanski MB, Gillam DG, Bulman JS, Newman HN. Clinical Evaluation of Cervical Dentine Sensitivity in A Population of Patients Referred to A Specialist Periodontology Department: A Pilot Study. *J Oral Rehab* 1997;24:666-72.
3. Orchardson R, Collins WJN. Clinical Features of Hypersensitive Teeth. *British Dental J* 1987;162:253-56.
4. Bartold P. Dentinal Hypersensitivity: A Review. *Australian Dental J* 2006;51(3):212-18.
5. Demi M, Delme KIM, Moor RJGD. Hypersensitive Teeth: Conventional vs Laser Treatment. Part II: Laser Treatment of Dentin Hypersensitivity. *J Oral Laser Appl* 2009;9:75-92.
6. Wilkins EM. Dentin Sensitivity. *Clinical Practice of the Dental Hygienist*. 8th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 1999:595-602.
7. Prasad K, Sohoni R, Tikare S, Yalamalli M, Rajesh G, Javali S. Efficacy of Two Commercially Available Dentifrices In Reducing Dentinal Hypersensitivity. *Indian J Dent Res* 2010;21(2):224-30.
8. Wolff MS. Dentin Hypersensitivity, the Biofilm and Remineralization: What is the Connection? *Adv Dent Res* 2009;21:21-24.
9. Porto ICCM, Andrade AKM, Montes MAJR. Diagnosis and Treatment of Dentinal Hypersensitivity. *J Oral Science* 2009;51:323-32.
10. Kasper D. Hypersensitivity Exposed. A Variety of Solutions are Available Following Diagnosis: www.rdhmag.com 2010: Juni
11. Chan B. Streptococcus sobrinus: [Microbewiki.kenyon.edu/.../Streptococcus sobrinus](http://Microbewiki.kenyon.edu/.../Streptococcus_sobrinus);16 September 2010.

12. Kawada-Matsuo M, Shibata Y, Yamashita Y. Role of Two Component Signaling Response Regulators in Acid Tolerance of *Streptococcus mutans*. *Oral Microbiol Immunol* 2009;24:173-76.
13. Lau KA, Kral TA. Isolation and Characterization of Low-Ph Fluoride-Resistant Mutants of *Streptococcus mutans*. *Oral Microbiol Immunol* 1987;2:136-38.
14. Axelsson P. Role of Specific Cariogenic Microflora. *Diagnosis and Risk Prediction of Dental Caries*. Illinois: Quintessence; 2000:18-29.
15. LeGeros RZ. New Approach for Treating Tooth Hypersensitivity. *New York Science Dental J* 2010:47.
16. Kawasaki A, Ishikawa K, Suge T, Shimizu H, Suzuki K, Matsuo T, et al. Effects of Plaque Control on the Patency and Occlusion of Dentine Tubules *in Situ*. *J Oral Rehabilitation* 2001;28:439-49.
17. Demi M, Delme KIM, Moor RJGD. Hypersensitive Teeth: Conventional vs Laser Treatment. Part I: Conventional Treatment of Dentin Hypersensitivity. *J Oral Laser Appl* 2009;9:7-20.
18. Gillam DG. The Management of Dentine Hypersensitivity. *Dental Nursing* 2009;5:451-56.
19. Tilliss TSI, Keating JG. Dentin Hypersensitivity. *Clinical Practice of the Dental Hygienist. 9th ed.* Philadelphia: Lippincott William & Wilkins; 2005:711-25.
20. Karunakar P, Solomon RV, Swetha B. Evaluating the Effect of Three Different Desensitizing Agents in Short Term Reduction of Dentin Hypersensitivity - An In vivo Study. *JIDA* 2011;5(9):962-65.
21. Taani DQ, Awartani F. Prevalence and Distribution of Dentin Hypersensitivity and Plaque in A Dental Hospital Population. *Quintessence Int* 2001;32:372-76.
22. Strassler H, Drisko C. [http:// www.insidedentalassisting.com](http://www.insidedentalassisting.com) (23 Juni 2010).
23. Perry DA, Beemsterboer P, Taggart EJ. Nonsurgical Periodontal Therapy. *Periodontology for the Dental Hygienist. 2nd ed.* Philadelphia: W.B. Saunders; 2001:219-40.

24. Walters P. Dentinal Hypersensitivity; A Review. *J Contemp Dent Pract* 2005;6(2):2.
25. Absi EG, Addy M, Adams D. Dentine Hypersensitivity. A study of the Patency of Dentinal Tubules in Sensitive and Non-sensitive Cervical Dentine. *J Clin Periodontol* 1987;14:280-84.
26. Rimondini L, Baroni C, Carrassi A. Ultrastructure of Hypersensitive and Non-sensitive Dentine. A Study on Replica Models. *J Clin Periodontol* 1995;22:899-902.
27. Veddytarro A. Pengaruh *Dental Health Education (DHE)* terhadap Penurunan Hipersensitivitas Dentin pada Mahasiswa FKG UI Angkatan 2004. Jakarta: Universitas Indonesia; 2007:32-33
28. West NX. Dentine Hypersensitivity : Preventive and Therapeutic Approaches to Treatment. *Periodontology 2000* 2008;48:31-41.
29. Yukna RA, Mason JD. Dental Biofilms: Microbiology of the Periodontal Diseases. *Comprehensive Periodontics for the Dental Hygienist. 2nd ed.* New Jersey: Pearson Prentice Hall; 2006:63-73.
30. Nield-Gehrig JS, Willmann DE. The Dental Plaque Biofilm. *Foundations of Periodontics for the Dental Hygienist.* Philadelphia: Lippincott William & Wilkins; 2002:71-79.
31. Low M-AL. Dentin Hypersensitivity in the Periodontal Maintenance Population. *Periodontology for the Dental Hygienist. 2nd ed.* Philadelphia: W.B. Saunders; 2001:317-22.
32. Loyola-Rodriguez JP, Martinez RE, Flores-Ferreyra BI, Patino-Marin N. Distribution of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in Saliva of Mexican Preschool Caries-free and Caries-active Children by Microbial and Molecular (PCR) Assays. *J Clin Pediatr Dent* 2007;32(2):121-26.
33. Axelsson P. Internal Modifying Factors Involved in Dental Caries. *Diagnosis and Risk Prediction of Dental Caries.* Illinois: Quintessence; 2000:91-150.
34. Marsh P, Martin MV. The Resident Oral Microflora. *Oral Microbiology. 4th ed.* Oxford: Wright; 1999:17-33.

35. Igarashi T, Yamamoto A, Goto N. PCR for Detection and Identification of *Streptococcus sobrinus*. *J Med Microbiol* 2000;49:1069-74.
36. Nolte WA. Dental Plaque Microflora. *Oral Microbiology*. New York: CV Mosby; 1973:21-24.
37. Schaeken MJM, Creugers TJ, Hoeven JSVD. Relationship Between Dental Plaque Indices and Bacteria in Dental Plaque and those in Saliva. *J Dent Res* 1987;66(9):1499-502.
38. Emilson CG. Prevalence of *Streptococcus mutans* with Different Colonial Morphologies in Human Plaque and Saliva. *Scand J Dent Res* 1983;91:26-32.
39. Suzuki N, Yoshida A, Nakano Y. Quantitative Analysis of Multi-Species Oral Biofilms by TaqMan Real-Time PCR. *Clinical Medicine & Research* 2005;3:176-85.
40. Paster BJ, Dewhirst FE. Molecular Microbial Diagnosis. *Periodontology* 2000 2009;51:38-44.
41. Shemesh M, Tam A, Aharoni R, Steinberg D. Genetic Adaptation of *Streptococcus mutans* during Biofilm Formation on Different Types of Surfaces. *BMC Microbiology* 2010;10.
42. Sciencebiotech.net. mengenai-pcr-polymerase-chain-reaction. Mengenai PCR (Polymerase Chain Reaction) cited 7 Mei 2009
43. <http://www.bio-rad.com/.../gotopage.do?...do.../Real-...> How does Real time PCR Work ? - Support - Bio-Rad Laboratories cited 3 Desember 2011
44. Setty SA, Thakur S. Comparative Efficacy of Two Treatment Modalities for Dentinal Hypersensitivity : A Clinical Trial. *Indian J Dent Res* 2010;21(4):544-48.
45. Klaus H, Rateitschak EM, Wolf HF, Hassell TM. Epidemiology and Indices. *Color Atlas of Dental Medicine Periodontology*. New York: Thieme Medical Publishers. Inc 1989:35
46. Rizal MF. Identifikasi Serotipe *Mutans Streptococci* dan Level Mucin MG2 Saliva sebagai Indikator Karies pada Anak Usia 3-5 tahun yang

- mempunyai Kebiasaan Minum Susu botol . Jakarta: Universitas Indonesia; 2009:59-60 989:35.
47. Shibata Y, Ozaki K, Seki M, Kawato T, Tanaka H, Nakano Y. Analysis of Loci Required for Determination of Serotype Antigenicity in *Streptococcus mutans* and Its Clinical Utilization. *J Clin Microbiol* 2003;41(9):4107-12.
 48. Oho T, Y.Yamashita, Shimazaki Y, Kushiya M, Koga T. Simple and Rapid Detection of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in Human Saliva by Polymerase Chain Reaction. *Oral Microbiol Immunol* 2000;15:258-62.
 49. Sinsimer D, Leekha S, Park S. Use of a Multiplex Molecular Beacon Platform for Rapid Detection of Methicillin and Vancomycin Resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 2005;43:4585-91.
 50. Absi EG, Addy M, Adams D. Dentin Hypersensitivity. The Effects in Vitro of Acid and Dietary Substances on Root-Planed and Burred Dentine. *J Clin Perio* 1987;14:274-79.
 51. Yano A, Noboru K, Ida H, Yamaguchi T, Hanada N. Real-time PCR for Quantification of *Streptococcus mutans*. *FEMS Microbiol Lett* 2002;217:23-30.
 52. Choi EJ, Lee SH, Kim YJ. Quantitative Real-Time Polymerase Chain Reaction for *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in Dental Plaque Samples and its Association with Early Childhood Caries. *International Journal of Pediatric Dentistry* 2009;19:141-47.
 53. Corless C, Guiver M, Borrow R, Edward-Jones V, Kaczmarek E, Fox A. Contamination and Sensitivity Issues with a Real-time Universal 16S rRNA PCR. *J Clin Microbiol* 2000;38:1747-52.
 54. Nurelhuda NM, Al-Haroni M, Trovik TA, Bakken V. Caries Experience and Quantification of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in Saliva of Sudanese Schoolchildren. *Caries Research* 2010;44:402-04.
 55. Marsh P. Are Dental Diseases Examples of Ecological Catastrophes ? *Microbiology* 2003;149:279-94.

Lampiran 1 : Surat Keterangan Komisi Etik Penelitian FKG UI



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: 48/Ethical Clearance/FGKUI/XI/2011

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

Judul "Distribusi Serotipe *Streptococcus mitans* pada Penderita Resesi Gingiva dengan Dentin Hipersensitif"

Nama Peneliti : Drg. Dewi Saputri 0906601115

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

Mengetahui:
 Dekan FKGUI,


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

Jakarta, 26 September 2011
 Ketua Komisi Etik Penelitian FKGUI,


 drg. Anton Rahardjo, MKM, PhD
 NIP. 195406021983031002

Lampiran 2 : Lembar Pengumuman

PENGUMUMAN

Kepada Yth,
Bpk/Ibu/Sdr _____
di Tempat

Dengan Hormat,

Bersama ini saya mohon kesediaan Bapak/Ibu/Sdr untuk berpartisipasi sebagai subjek penelitian saya yang berjudul :

KUANTIFIKASI SERTA DISTRIBUSI SEROTIPE *STREPTOCOCCUS MUTANS* DAN *STREPTOCOCCUS SOBRINUS* DARI SAMPEL PLAK DAN SALIVA

Analisis pada penderita resesi gingiva dengan dentin hipersensitif menggunakan *real-time PCR*

Dengan tujuan untuk mengetahui jumlah dan distribusi serotipe *Streptococcus mutans* dan *Streptococcus sobrinus* antara penderita resesi gingiva dengan dentin hipersensitif dan dentin non sensitif. Dalam penelitian ini kepada Bpk/Ibu/Sdr akan dilakukan :

1. Wawancara
2. Pemeriksaan klinis dan tes sensitifitas gigi
3. Pengambilan sampel plak dengan menggunakan tusuk gigi steril pada permukaan gigi kaninus (taring) atau premolar pertama (geraham kecil) serta pengambilan sampel saliva (air liur)

Adapun ketidaknyamanan yang akan dialami selama prosedur penelitian tersebut adalah waktu kunjungan yang diperlukan adalah 20-30 menit untuk wawancara, pemeriksaan klinis dan tes sensitifitas gigi serta pengambilan sampel plak dan saliva yang akan diperiksa di laboratorium. Pengambilan sampel plak dan saliva ini tidak menimbulkan rasa sakit dan tidak ada efek samping.

Keuntungan menjadi subjek penelitian ini yaitu mendapatkan pemeriksaan gigi dan konsultasi masalah kesehatan gigi secara cuma-cuma, mendapatkan data

(Lanjutan)

kondisi gigi hipersensitif secara laboratorik dan untuk pemeriksaan laboratorium tidak dikenakan biaya apapun. Diharapkan hasil penelitian ini secara keseluruhan dapat membantu solusi perawatan dentin hipersensitif di masa yang akan datang.

Jika Bpk/Ibu/Sdr bersedia, surat Pernyataan Kesediaan Menjadi Subjek Penelitian terlampir harap ditandatangani dan dikembalikan kepada drg.Dewi Saputri (08126990887). Perlu Bpk/Ibu/Sdr ketahui bahwa surat kesediaan tersebut tidak mengikat dan Bpk/Ibu/Sdr dapat mengundurkan diri dari penelitian ini kapan saja selama penelitian berlangsung.

Demikian, semoga keterangan saya di atas dapat dimengerti dan atas kesediaan Bpk/Ibu/Sdr untuk berpartisipasi dalam penelitian ini saya ucapkan terima kasih.

Jakarta, September 2011

Peneliti,

Drg. Dewi Saputri

Peserta Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Periodonsia

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia

Jalan Salemba Raya No.4

Jakarta Pusat

PENJELASAN BAGI SUBJEK PENELITIAN

Penelitian:

KUANTIFIKASI SERTA DISTRIBUSI SEROTIPE *STREPTOCOCCUS MUTANS* DAN *STREPTOCOCCUS SOBRINUS* DARI SAMPEL PLAK DAN SALIVA

Analisis pada penderita resesi gingiva dengan dentin hipersensitif menggunakan *real-time PCR*

Peneliti : **drg. Dewi Saputri**

Saya mengucapkan terima kasih atas kesediaan Bpk/Ibu/Sdr meluangkan waktu untuk menjadi subjek dalam penelitian ini. Gigi yang mengalami dentin hipersensitif sangat sering dijumpai dalam masyarakat. Kondisi dentin hipersensitif ini sangat mengganggu dan menimbulkan perasaan tidak nyaman dalam prosedur perawatan gigi dan aktivitas sehari-hari seperti makan, minum atau menyikat gigi. Usaha untuk memperbaiki keadaan dentin hipersensitif telah banyak dilakukan dengan berbagai cara, tetapi keluhan ini masih terus dijumpai diklinik gigi.

Pada kesempatan ini, saya ingin Bpk/Ibu/Sdr mengetahui dan memahami tujuan serta manfaat penelitian, sehingga memahami apa yang akan dilakukan, diperiksa dan didapatkan sebagai hasil penelitian ini. Saya berharap Bpk/Ibu/Sdr bersedia ikut dalam penelitian sebagai relawan/ subjek penelitian dan semoga partisipasi ini dapat memberikan andil besar dalam perawatan terhadap dentin hipersensitif dan merupakan amalan Bpk/Ibu/Sdr khususnya bagi penderita dentin hipersensitif dan bagi masyarakat Indonesia pada umumnya.

Apakah yang dimaksud dengan dentin hipersensitif?

Dentin hipersensitif adalah rasa sakit yang timbul pada dentin yang terbuka, akibat respon terhadap rangsang kimia, termal, taktil atau osmotik dan

(Lanjutan)

reda secara cepat ketika rangsang dihilangkan dan tidak dihubungkan dengan kerusakan gigi.

Apa akibatnya jika dentin hipersensitif tidak dirawat?

Kondisi ini akan mempengaruhi kualitas hidup dari pasien karena menimbulkan gangguan dalam aktivitas sehari-hari seperti makan, minum atau menyikat gigi. Pasien dengan gigi yang sensitif terhadap dingin akan menghindari penyikatan pada daerah yang sensitif sehingga mengurangi efektifitas dalam pembersihan plak dan hal ini berperan dalam terjadinya penyakit periodontal.

Apa saja penyebab terjadinya dentin hipersensitif?

Penyebab dentin hipersensitif multifaktorial, diantaranya adalah kehilangan enamel akibat erosi atau abrasi, pengaruh biofilm plak, permukaan akar yang kehilangan struktur sementumnya akibat penyikatan gigi atau perawatan periodontal serta resesi gingiva yang terjadi karena penuaan, penyakit periodontal dan kebiasaan buruk pasien, dimana semua ini mempengaruhi terjadinya demineralisasi sehingga menyebabkan tubulus dentin terbuka.

Apa yang dimaksud dengan bakteri *Streptococcus mutans* dan *Streptococcus sobrinus*?

S. mutans dan *S. sobrinus* merupakan agen penyebab utama terjadinya karies gigi karena potensi kariogeniknya yang tinggi dan berperan dalam membentuk biofilm yang dikenal sebagai plak gigi pada permukaan gigi. Bakteri ini bersifat asidogenik yaitu menghasilkan asam dan asidurik yaitu mampu hidup pada lingkungan asam. Bakteri ini mampu merusak tubulus dentin. Produk asam yang dihasilkan oleh bakteri dapat menyebabkan demineralisasi pada akar gigi yang berperan dalam terjadinya sensitivitas. *S. mutans* terdiri dari tiga serotipe, yaitu serotipe *c*, *e* dan *f* sedangkan *S. sobrinus* terdiri dari dua serotipe yaitu *d* dan *g*.

(Lanjutan)

Apa yang dimaksud dengan resesi gingiva?

Resesi gingiva adalah suatu keadaan dimana permukaan akar gigi terbuka akibat migrasi margin gingiva kearah apikal. Ada beberapa faktor risiko terjadinya resesi gingiva, misalnya trauma karena penyikatan gigi yang terlalu kuat, faktor anatomis gingiva, gigi malposisi dan setelah perawatan ortodonsia. Resesi gingiva juga dapat disebabkan karena proses penuaan

Apa tujuan dan manfaat penelitian ini?

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis distribusi serotipe *S.mutans* antara penderita resesi gingiva yang mengalami dentin hipersensitif dan non sensitif yang terdapat pada plak gigi dan saliva.

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk menambah pengetahuan mengenai serotipe *S.mutans* dan *S. sobrinus* yang berperan dalam terjadinya dentin hipersensitif dan bila dijumpai adanya perbedaan serotipe *S.mutans* antara penderita dentin hipersensitif dan dentin non sensitif, maka dapat dilakukan perawatan yang tepat untuk mengobati dentin hipersensitif. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar untuk mengembangkan pengetahuan dan penelitian lebih lanjut bagi dentin hipersensitif.

Pemeriksaan apa saja yang akan dilakukan?

Akan dilakukan wawancara seperti usia, pendidikan, pekerjaan, sudah berapa lama mengalami gigi sensitif, kemudian dilakukan pemeriksaan gigi dan mulut secara keseluruhan dan tes sensitifitas gigi. Persiapan untuk pemeriksaan laboratoris adalah pengambilan sampel plak dan saliva.

Berapa lama penelitian akan dilakukan?

Penelitian terhadap Bpk/Ibu/Sdr hanya akan dilakukan satu kali, memakan waktu pemeriksaan 20-30 menit.

Bagaimana mengenai biaya?

Semua biaya pemeriksaan klinis maupun laboratoris akan ditanggung oleh peneliti, sehingga terhadap Bpk/Ibu/Sdr tidak akan dikenakan biaya atau **gratis**.

Lampiran 4 : Lembar Persetujuan

LEMBAR PERSETUJUAN

Setelah membaca dan mendengar semua keterangan tentang risiko, keuntungan dan hak-hak saya sebagai subjek penelitian yang berjudul :

KUANTIFIKASI SERTA DISTRIBUSI SEROTIPE *STREPTOCOCCUS MUTANS* DAN *STREPTOCOCCUS SOBRINUS* DARI SAMPEL PLAK DAN SALIVA

Analisis pada penderita resesi gingiva dengan dentin hipersensitif menggunakan *real-time PCR*

Atas nama

Saya dengan sadar dan tanpa paksaan bersedia berpartisipasi dalam penelitian tersebut diatas.

Jakarta,2011

(.....)

Alamat :

No. Telepon/Hp :

Lampiran 5 : Lembar Pemeriksaan Klinis

LEMBAR PEMERIKSAAN KLINIS

Nama : Dentin Hipersensitif
 Umur : YA TIDAK
 Jenis Kelamin :

Pemeriksaan Indeks Plak dan Kalkulus

INDEKS PLAK						INDEKS KALKULUS					
RA			RB			RA			RB		
E	B	L	E	B	L	E	B	L	E	B	L
16			36			16			36		
12			34			26			33		
11			32						32		
21			31						31		
22			41						41		
24			42						42		
26			46						43		
									46		
SKOR =						SKOR =					

Pemeriksaan Skor Plak pada gigi yang dijadikan Sampel

RA			RB		
E	B	L	E	B	L
14			33		
13			34		
23			43		
24			44		

Pemeriksaan Resesi Gingiva

RA			RB		
E	B	L	E	B	L
14			33		
13			34		
23			43		
24			44		

Indeks plak Silness & Loe 1964

- 0 = Tidak ada plak
 1 = Terdapat plak pada probe (tidak terlihat mata)
 2 = Terdapat lapisan plak yang tipis hingga sedang dan terlihat oleh mata
 3 = Jumlah plak banyak

Indeks Kalkulus

- 0 = Tidak ada kalkulus
 1 = Kalkulus supragingiva
 2 = Kalkulus subgingiva
 3 = Kalkulus supragingiva + subgingiva

Lampiran 6 : Hasil Penghitungan Konsentrasi dan kemurnian DNA sampel

HASIL PENGHITUNGAN KONSENTRASI DAN KEMURNIAN DNA

No	Sampel	Konsentrasi DNA ng/ μ l	Kemurnian DNA	Konsentrasi DNA 100ng/ μ l
	Plak			
1	Dewi 1S	280	1,057	16,9
2	Dewi 3S	295	1,073	16,9
3	Dewi 4S	295	1,113	16,9
4	Dewi 6S	300	1,091	16,7
5	Dewi 7S	275	1,078	22,2
6	Dewi 2N	265	1,082	18,9
7	Dewi 3N	300	1,132	16,7
8	Dewi 4N	335	1,098	14,9
9	Dewi 5N	230	1,122	21,7
10	Dewi 7N	225	1,098	22,2
	Saliva			
1	Saliva 1S	295	1,073	16,9
2	Saliva 2N	260	1,083	19,2
3	Saliva 3S & 3N	320	1,085	15,6
4	Saliva 4S & 4N	300	1,091	16,7
5	Saliva 5N	330	1,082	15,2
6	Saliva 6S	265	1,104	18,9
7	Saliva 7S & 7N	295	1,113	16,9

Lampiran 7. Analisis Data

Reliability (Bakteri total, *S. mutans* dan *S. sobrinus* dari sampel plak)

Scale: All variables

Case Processing Summary

		N	%
Cases	Valid	10	90.9
	Excluded ^a	1	9.1
	Total	11	100.0

Reliability Statistics

Cronbach's Alpha ^a	Cronbach's Alpha Based on Standardized Items ^a	N of Items
-.165	-.014	3

a. The value is negative due to a negative average covariance among items. This violates reliability model assumptions. You may want to check item codings.

Inter-Item Correlation Matrix

	<i>S. mutans</i>	<i>S. sobrinus</i>	Kuantitas DH, NS
<i>S. mutans</i>	1.000	.061	.492
<i>S. sobrinus</i>	.061	1.000	-.566
Kuantitas DH, NS	.492	-.566	1.000

Scale Statistics

Mean	Variance	Std. Deviation	N of Items
25.9709	55.804	7.47022	3

ANOVA

		Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between People		167.413	9	18.601		
Within People	Between Items	1041.059	2	520.530	24.014	.000
	Residual	390.173	18	21.676		
	Total	1431.232	20	71.562		
Total		1598.645	29	55.126		

Grand Mean = 8.6570

Reliability (Bakteri Total, *S. mutans* dan *S. sobrinus* dari sampel saliva)

Scale: ALL VARIABLES

Case Processing Summary

		N	%
Cases	Valid	7	100.0
	Excluded ^a	0	.0
	Total	7	100.0

a. Listwise deletion based on all variables in the procedure.

Reliability Statistics

Cronbach's Alpha	Cronbach's Alpha Based on Standardized Items ^a	N of Items
.247	-.113	3

a. The value is negative due to a negative average covariance among items. This violates reliability model assumptions. You may want to check item codings.

Inter-Item Correlation Matrix

	<i>S. mutans</i>	<i>S. sobrinus</i>	Kuantitas DH, NS, DH+NS
<i>S. mutans</i>	1.000	-.521	.896
<i>S. sobrinus</i>	-.521	1.000	-.479
Kuantitas DH, NS, DH+ NS	.896	-.479	1.000

Scale Statistics

Mean	Variance	Std. Deviation	N of Items
32.4323	103.045	10.15113	3

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between People	206.091	6	34.348		
Within People					
Between Items	417.906	2	208.953	8.074	.006
Residual	310.567	12	25.881		
Total	728.474	14	52.034		
Total	934.564	20	46.728		

Grand Mean = 10.8108

Reliability (*S. mutans* serotipe *c, e* dan *f* dari sampel plak)

Case Processing Summary

		N	%
Cases	Valid	10	100.0
	Excluded ^a	0	.0
	Total	10	100.0

a. Listwise deletion based on all variables in the procedure.

Reliability Statistics

Cronbach's Alpha	Cronbach's Alpha Based on Standardized Items ^a	N of Items
.273	-.283	3

a. The value is negative due to a negative average covariance among items. This violates reliability model assumptions. You may want to check item codings.

Inter-Item Correlation Matrix

	<i>S. mutans</i> serotipe <i>c, e, f</i>	<i>S. sobrinus</i> Serotipe <i>d</i>	Serotipe <i>c, e, f</i> pada DH & NS
Sm serotipe <i>c, e, f</i>	1.000	-.616	-.615
Ss serotype <i>d</i>	-.616	1.000	.993
Serotipe DH dan NS	-.615	.993	1.000

Summary Item Statistics

	Mean	Minimum	Maximum	Range	Maximum / Minimum
Inter-Item Correlations	-.079	-.616	.993	1.610	-1.611

Summary Item Statistics

	Variance	N of Items
Inter-Item Correlations	.690	3

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig
Between People	104.515	9	11.613		
Within People					
Between Items	22.349	2	11.174	1.324	.291
Residual	151.875	18	8.437		
Total	174.223	20	8.711		
Total	278.738	29	9.612		

Grand Mean = 5.2244

Reliability (*S. mutans* serotipe *c, e* dan *f* dari sampel saliva)

Case Processing Summary

		N	%
Cases	Valid	7	100.0
	Excluded ^a	0	.0
	Total	7	100.0

a. Listwise deletion based on all variables in the procedure.

Reliability Statistics

Cronbach's Alpha	Cronbach's Alpha Based on Standardized Items	N of Items
.484	.795	3

Inter-Item Correlation Matrix

	<i>S. mutans</i> serotipe <i>c, e, f</i>	<i>S. sobrinus</i> serotipe <i>d</i>	Serotipe saliva DH, NS, DH+NS
Sm serotipe <i>c,e,f</i>	1.000	.391	.985
Ss serotipe <i>d</i>	.391	1.000	.317
Serotipe saliva DH, NS, DH+NS	.985	.317	1.000

Summary Item Statistics

	Mean	Minimum	Maximum	Range	Maximum / Minimum
Inter-Item Correlations	.564	.317	.985	.668	3.109

Summary Item Statistics

	Variance	N of Items
Inter-Item Correlations	.107	3

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig
Between People	52.853	6	8.809		
Within People					
Between Items	163.297	2	81.649	17.968	.000
Residual	54.530	12	4.544		
Total	217.827	14	15.559		
Total	270.681	20	13.534		

Grand Mean = 4.1968