



**INHIBISI EKSTRAK BIJI PINANG (*Areca catechu* L.)
TERHADAP PELEPASAN KALSIUM PADA
PROSES DEMINERALISASI GIGI YANG
DISTIMULASI *Streptococcus mutans***

SKRIPSI

Oleh

**Dwi Aditya Haryastuti
NIM. 071610101088**

**BAGIAN BIOMEDIK
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2012**



**INHIBISI EKSTRAK BIJI PINANG (*Areca catechu* L.)
TERHADAP PELEPASAN KALSIUM PADA
PROSES DEMINERALISASI GIGI YANG
DISTIMULASI *Streptococcus mutans***

SKRIPSI

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi syarat-syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Kedokteran Gigi (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi

Oleh

Dwi Aditya Haryastuti
NIM. 071610101088

**BAGIAN BIOMEDIK
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2012**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Orang tuaku tercinta, Bapak Agung Budi Susetyo, S.Pd. dan Ibu Haryanti, S.Pd. atas semua kasih sayang, dukungan, semangat, pengorbanan, serta doa yang tidak ada hentinya;
2. Kakakku Aditya Hary Wibowo dan Adikku Tri Aditya Hary Salsabila Putri yang selalu aku sayangi, yang selalu memberikan dukungan, semangat, kasih sayang serta doa yang tulus;
3. Dosen-Dosen pembimbing skripsi Dr. drg. Purwanto, M.Kes, drg. Desi Sandra Sari, M.Dsc, dan Dr. drg. I.D.A. Susilawati, M.Kes.
4. Almamaterku tercinta Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

MOTO

*Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan.
Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan.
(QS Al-Insyirah: 5-6)*

*Sesuatu yang belum dikerjakan , seringkali tampak mustahil,
kita baru yakin kalau kita telah berhasil melakukannya dengan
baik.
(Evelyn Underhill)*

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Dwi Aditya Haryastuti

NIM : 071610101088

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul: *Inhibisi Ekstrak Biji Pinang (Arecha catechu L.) terhadap Pelepasan Kalsium pada Proses Demineralisasi Gigi yang Distimulasi Streptococcus mutans* adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 1 Februari 2012

Yang menyatakan

Dwi Aditya Haryastuti

071610101088

SKRIPSI

**INHIBISI EKSTRAK BIJI PINANG (*Areca catechu* L.)
TERHADAP PELEPASAN KALSIUM PADA
PROSES DEMINERALISASI GIGI YANG
DISTIMULASI *Streptococcus mutans***

Oleh

Dwi Aditya Haryastuti

NIM. 071610101088

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : Dr. drg. Purwanto, M.Kes

Dosen Pembimbing Anggota : drg. Desi Sandra Sari, M.DSc

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Inhibisi Ekstrak Biji Pinang (*Arecha catechu L.*) terhadap Pelepasan Kalsium pada Proses Demineralisasi Gigi yang Distimulasi *Streptococcus mutans*” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada:

hari, tanggal : 1 Februari 2012

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Tim Penguji

Ketua,

Dr. Drg. Purwanto, M. Kes
NIP 195710241986031002

Anggota I

Anggota II

drg. Desi Sandra Sari, M. DSc
NIP 197512152003122005

Dr. drg. I Dewa Ayu Susilawati, M. Kes
NIP 196109031986022001

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Kedokteran Gigi,
Universitas Jember,

drg. Hj. Herniyati, M.Kes
NIP 195909061985032001

RINGKASAN

Inhibisi Ekstrak Biji Pinang (*Arecha catechu* L.) terhadap Pelepasan Kalsium pada Proses Demineralisasi Gigi yang Distimulasi *Streptococcus mutans*; Dwi Aditya Haryastuti 071610101088; 2012; 57 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember.

Karies adalah penyakit yang mengenai jaringan keras gigi, yaitu email, dentin, dan sementum, yang disebabkan oleh aktivitas suatu jasad renik dalam suatu karbohidrat yang dapat diragikan, yang ditandai adanya demineralisasi jaringan keras gigi yang kemudian diikuti oleh kerusakan bahan organiknya. Akibatnya, terjadi invasi bakteri dan kematian pulpa serta penyebaran infeksinya ke jaringan periapiks yang dapat menyebabkan nyeri.

Streptococcus mutans merupakan anggota dari grup *Streptococcus viridans*. *S. mutans* termasuk dalam kelompok eubakteria yakni kuman dengan sel ber dinding tebal, kaku, tidak bergerak (non motile) atau gerakan dengan flagel. *S. mutans* adalah bersifat asidogenik yaitu menghasilkan asam, asidodurik, mampu tinggal pada lingkungan asam, dan menghasilkan suatu polisakarida yang lengket disebut dextran. Oleh karena kemampuan ini, *S. mutans* bisa menyebabkan lengket dan mendukung bakteri lain menuju ke email gigi, mendukung pertumbuhan bakteri asidodurik yang lainnya, dan asam melarutkan email gigi.

Pinang merupakan tanaman famili *Areaceae*. Biji buah pinang juga mengandung alkaloid, seperti arekolin ($C_8H_{13}NO_2$), arekolidine, arekain, guvakolin, guvasine dan isoguvasine, tanin terkondensasi, tannin terhidrolisis, flavan, senyawa fenolik, asam galat, getah, lignin, minyak menguap dan tidak menguap, serta garam. Biji buah pinang mengandung proantosianidin, yaitu suatu tannin terkondensasi yang termasuk dalam golongan flavonoid yang mempunyai efek antibakteri.

Tujuan penelitian ini adalah menganalisis inhibisi ekstrak biji pinang terhadap pelepasan kalsium pada proses demineralisasi gigi yang distimulasi *S.*

mutans. Serta menentukan konsentrasi ekstrak biji pinang yang efektif dalam menghambat pelepasan kalsium pada proses demineralisasi gigi.

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian yang *the post test only control group design*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember, dan Laboratorium Tanah Fakultas Pertanian Universitas Jember. Pada penelitian ini digunakan sampel potongan gigi premolar-1 rahang atas yang dibagi menjadi empat kelompok yaitu kelompok kontrol (tidak diberi ekstrak biji pinang), kelompok yang diberi ekstrak biji pinang 100%, kelompok yang diberi ekstrak biji pinang 50%, dan kelompok yang diberi ekstrak biji pinang 25%. Pelepasan kalsium diukur dengan menggunakan alat SSA, hasilnya dalam satuan ppm.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah pelepasan kalsium dari yang paling tinggi adalah kelompok kontrol yang tidak diberi ekstrak biji pinang (36,14 ppm), kelompok yang diberi ekstrak biji pinang 100% (20,57 ppm), kelompok yang diberi ekstrak pinang 50% (14,71 ppm), dan kelompok yang diberi ekstrak biji pinang 25% (7,29 ppm). Analisis data menunjukkan bahwa terdapat perbedaan jumlah pelepasan kalsium yang signifikan ($p < 0,05$) pada keempat kelompok penelitian.

Kesimpulan hasil penelitian ini adalah inhibisi ekstrak biji pinang menghambat pelepasan ion kalsium pada proses demineralisasi gigi yang distimulasi *S. mutans*. Konsentrasi ekstrak biji pinang yang efektif dalam menghambat pelepasan ion kalsium pada proses demineralisasi gigi adalah konsentrasi 25%.

Saran setelah dilakukan penelitian ini antara lain ekstrak biji pinang bersifat asam sehingga perlu diperhatikan konsentrasi yang efektif dalam menghambat demineralisasi gigi, serta perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai bahan-bahan lain yang perlu ditambahkan dalam penggunaan biji pinang guna menetralkan pH asam dari biji pinang.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT, yang telah melimpahkan karunia dan hidayah-Nya sehingga skripsi yang berjudul Inhibisi Ekstrak Biji Pinang (*Arecha catechu* L.) terhadap Pelepasan Kalsium pada Proses Demineralisasi Gigi yang Distimulasi *Streptococcus mutans* dapat terselesaikan. Skripsi ini disusun guna memenuhi persyaratan untuk memperoleh gelar sarjana Kedokteran Gigi pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari dukungan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. drg. Hj. Herniyati, M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
2. drg. Rahardyan Pamaadji, M. Kes, Sp. Pros. Selaku pembantu Dekan I Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
3. Dr. drg. Purwanto, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Utama, yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini.
4. drg. Desi Sandra Sari, M.Dsc selaku Dosen Pembimbing Anggota, yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini.
5. Dr. drg. I Dewa Ayu Susilawati, M.Kes selaku sekretaris penguji, dan sebagai pembimbing penelitian yang telah memberikan ide penelitian ini, terima kasih atas waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini.
6. drg. Dessy Rachmawati, M.Kes selaku dosen pembimbing akademik.
7. drg. Nadie Fatimatuzzahro selaku dosen pembimbing akademik.
8. drg. Yenny Yustisia, M. Biotech selaku dosen pembimbing akademik.
9. Staf Laboratorium Mikrobiologi Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Mbak Indri dan Pak Setyo Pinardi, A.Md., staf Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember, Ibu Widi, dan staf Laboratorium Tanah Fakultas Pertanian Pak Koko.

10. Orang tuaku tercinta yang selalu aku banggakan, Bapak Agung Budi Susetyo, S.Pd. dan Ibu Haryanti, S.Pd. terimakasih atas semua kasih sayang, kesabaran, dukungan, semangat, pengorbanan, serta doa yang tidak ada hentinya;
11. Kakakku Aditya Hary Wibowo yang selalu aku banggakan dan Adikku Tri Aditya Hary Salsabila Putri yang selalu aku sayangi, yang senantiasa memberikan dukungan, semangat, kasih sayang serta doa yang tulus;
12. Bayu Mahardi Briyanto, terimakasih untuk dukungan, doa, dan semangatnya;
13. Sahabatku Tectona Eka Ningtyas, yang selalu memberikan dukungan dan semangat, yang menemaniku dalam suka dan duka;
14. Keluarga Mastrip 34 A, Yasinta, Tiwi, Cece, Fitri, Mbak Eksi, Mbak Vety, Aulia, Tika, Kiki, terima kasih telah menjadi keluarga baruku selama berada di Jember;
15. Teman seperjuangan penelitian, Annisa Rahma Chamima;
16. Seluruh Teman-teman FKG 2007 dan juga semua pihak yang telah membantu kelancaran penyusunan skripsi ini, yang tidak bisa saya sebutkan satu-persatu;

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dan ketidaksempurnaan dalam penulisan skripsi ini. Untuk itu, kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan demi kesempurnaan karya penulis selanjutnya.

Jember, Februari 2012

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBING	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR SINGKATAN	xiv
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Pinang	5
2.1.1 Klasifikasi	5
2.1.2 Morfologi	5
2.1.3 Kandungan Kimia dan Manfaat	7
2.1.4 Ekstraksi	8
2.2 Kalsium (Ca)	9

2.2.1 Kalsium pada Email Gigi	9
2.2.2 Fungsi Kalsium	9
2.3 Gigi	10
2.3.1 Struktur Gigi	10
2.3.2 Demineralisasi pada Email	10
2.3.3 Karies Gigi	11
2.4 Karbohidrat	14
2.4.1 Definisi	14
2.4.2 Klasifikasi	14
2.4.3 Sukrosa	15
2.4.3 Fermentasi Sukrosa	16
2.5 <i>Streptococcus mutans</i>	18
2.5.1 Taksonomi	18
2.5.2 Sejarah	19
2.5.3 Morfologi	19
2.6 Spektrofotometri Serapan Atom (SSA)	21
2.6.1 Definisi	21
2.6.2 Mekanisme Kerja	21
2.7 Hipotesis	22
BAB 3. METODE PENELITIAN	23
3.1 Jenis Penelitian	23
3.2 Rancangan Penelitian	23
3.3 Tempat Penilaian dan Waktu Penelitian	23
3.3.1 Tempat Penelitian	23
3.3.2 Waktu Penelitian	23
3.4 Identifikasi Variabel Penelitian	23
3.4.1 Variabel Bebas	23
3.4.2 Variabel Bebas	23

3.4.3 Variabel Kendali	24
3.5 Definisi Operasional.....	24
3.5.1 Ekstrak Biji Pinang.....	24
3.5.2 Gigi.....	24
3.5.3 Kelarutan Kalsium.....	24
3.5.4 <i>Streptococcus mutans</i>	24
3.6 Bahan dan Alat Penelitian	25
3.6.1 Bahan Penelitian.....	25
3.6.2 Alat Penelitian.....	25
3.7 Sampel Penelitian	26
3.7.1 Kriteria Sampel.....	26
3.7.2 Jumlah Sampel.....	26
3.8 Prosedur Penelitian.....	26
3.8.1 Tahap Persiapan.....	26
3.8.2 Tahap Perlakuan	28
3.9 Analisis Data	30
3.10 Alur Penelitian.....	31
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	32
4.1 Hasil.....	32
4.1.1 Hasil Sub Kultur <i>Streptococcus mutans</i>	32
4.1.2 Hasil Pengukuran pH dan Pelepasan Kalsium.....	32
4.2 Analisis Data	34
4.3 Pembahasan.....	36
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	41
5.1 Kesimpulan.....	41
5.2 Saran.....	41
DAFTAR PUSTAKA	42
LAMPIRAN.....	47

DAFTAR SINGKATAN

ANOVA	:	<i>Analysis of Varians</i>
BHIA	:	<i>Brain Heart Infusion Agar</i>
BHIB	:	<i>Brain Heart Infusion Broth</i>
LSD	:	<i>Least Significant Difference</i>
Ppm	:	<i>Part per million</i>
SSA	:	Spektrofotometri Serapan Atom

DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Hasil Pengukuran pH dan Pelepasan Kalsium.....	32
4.2 Perbandingan Pelepasan Kalsium Kelompok Kontrol dengan Kelompok Perlakuan (Ekstrak Biji Pinang)	35
4.3 Perbandingan Pelepasan Kalsium Kelompok Perlakuan (Pemberian Eks- trak Biji Pinang).....	36

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Biji Pinang.....	7
2.2 Faktor-faktor Penyebab Karies Gigi.....	14
2.3 Struktur Kimia Sukrosa.....	16
2.4 <i>Streptococcus mutans</i>	20
2.5 Spektrofotometri Serapan Atom.....	22
4.1 Hasil Sub Kultur <i>Streptococcus mutans</i>	32
4.2 Diagram Batang Rata-rata Hasil Pengukuran pH pada Tiap Kelompok.....	33
4.3 Diagram Batang Rata-rata Hasil Pelepasan Kalsium pada Proses Demineralisasi Gigi Setiap Kelompok Percobaan.....	34

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A Perhitungan Jumlah Sampel.....	46
B Tabulasi Data.....	47
C Uji Statistik.....	49
D Foto Penelitian	51

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Orang Indonesia cenderung mengabaikan pemeliharaan kesehatan gigi dan mulutnya. Data ini sesuai dengan hasil Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) 2004 yang dilakukan oleh Departemen Kesehatan. Survei itu menyebutkan prevalensi karies gigi di Indonesia adalah 90,05%. Status kesehatan masyarakat khususnya kesehatan gigi ditentukan oleh beberapa faktor seperti pendidikan, lingkungan, perilaku/kesadaran masyarakat dan pelayanan kesehatan. Aspek ini sangat berhubungan dan saling mempengaruhi baik cara pencegahan dan perawatan gigi masyarakat maupun keadaan gigi masyarakat. Untuk mendapat hasil yang sebaik-baiknya perlu diketahui masalah yang berkaitan dengan faktor yang menyebabkan kerusakan gigi tersebut (Asra, 2007).

Kerusakan gigi yang umum terjadi pada masyarakat adalah karies gigi. Fakta lainnya adalah orang Indonesia yang menderita penyakit gigi dan mulut tersebut bersifat agresif kumulatif. Artinya, daerah yang rusak tersebut menjadi tidak dapat disembuhkan. Itu sebabnya masyarakat pada awal-awal sebelum terkena penyakit gigi dan mulut mengabaikan sakit yang ditimbulkan. Padahal ketika sudah menjadi sakit, penyakit gigi merupakan jenis penyakit di urutan pertama yang dikeluhkan masyarakat. Data ini berdasarkan hasil Survei Kesehatan Rumah Tangga Survei Kesehatan Nasional (SKRT-SURKESNAS) tahun 2001 yang menyebutkan penyakit gigi dikeluhkan 60 persen penduduk Indonesia. Penting disadari oleh masyarakat penyakit gigi yang dibiarkan tentu menjadi sumber bagi komplikasi lainnya. Gigi berlubang adalah sarang bakteri yang pada gilirannya menjadi sumber penyakit atau infeksi untuk penyakit lainnya (Asra, 2007).

Penyakit karies adalah proses terjadinya kerusakan terhadap struktur dan fungsi gigi. Hal ini terjadi karena proses hilangnya zat-zat mineral (terutama kalsium

dan fosfor) yang terkandung dalam gigi melebihi proses membangun kembali sebagian struktur mineral dari gigi yang telah larut. Ada beberapa faktor sebagai penyebab dari penyakit karies, antara lain adalah: (1) akumulasi dan retensi plak pada gigi sehingga cenderung meningkatkan aktivitas fermentasi karbohidrat menjadi asam, (2) tingkat frekuensi konsumsi makanan berkarbohidrat, (3) tingkat frekuensi konsumsi makanan bersifat asam, (4) faktor perlindungan host seperti saliva, pelikel, dan plak, (5) fluor dan elemen-elemen lain yang dapat mengontrol perkembangan karies. Lingkungan mulut dan kesehatan jaringan keras gigi dapat terjaga apabila terdapat homeostasis antara kelima faktor tersebut (McIntyre, 2005).

Hasil penelitian terdahulu menyebutkan bahwa bakteri spesifik penyebab karies gigi dan pembentuk plak adalah *Streptococcus mutans*. *S. mutans* merupakan salah satu jenis bakteri yang termasuk dalam kelompok *Streptococcus α-haemolyticus* yang terdiri dari 7 subspecies yaitu serotipe-a sampai serotipe-g. Diantara ketujuh subspecies tersebut, *S. mutans* serotipe-c merupakan salah satu galur yang paling tersebar pada populasi manusia dan sekitar 80% isolat plak berisi serotipe-c. Dari beberapa hasil pengamatan epidemiologi, menunjukkan pula bahwa penyebaran serotipe *S. mutans* pada populasi manusia mempunyai taraf yang berbeda. Dikemukakan bahwa serotipe-c, -d dan -e umumnya dijumpai pada semua isolat plak dari seluruh wilayah penelitian, sedangkan untuk serotipe -a dan -b hanya dijumpai masing-masing pada 6 dan 9 wilayah dari 14 wilayah penelitian yang tersebar di berbagai penjuru dunia (Yulineri dkk, 2006).

Dekade terakhir ini banyak perhatian dunia dan para ahli ditujukan kepada tumbuhan sebagai sumber bahan obat karena kenyataan menunjukkan bahwa untuk keperluan perawatan kesehatan dasar, diperkirakan sekitar 75%-80% penduduk desa di dunia menggunakan bahan obat yang berasal dari tumbuhan, dan sekitar 28 % dari tumbuhan yang ada di bumi telah dipakai sebagai bahan obat tradisional. Sekalipun belum banyak pakar yang menaruh perhatian terhadap pemanfaatan tumbuhan obat dalam bidang kedokteran gigi, namun laporan hasil penelitian mulai tampak menjamur dan umumnya ditujukan untuk kepentingan dalam bidang pencegahan

penyakit gigi dan mulut. Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak simplisia tumbuhan obat terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. mutans*, di samping potensi lainnya, seperti daya hambat terhadap aktivitas enzim glukosiltransverase, maupun pelekatan sel bakteri secara *in vitro* (Namba, dalam Suwondo, 2007).

Salah satu bahan yang diharapkan memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *S. mutans* adalah ekstrak biji pinang (*Areca Catechu* L.). Pinang merupakan tanaman yang telah dibudidayakan dan dapat ditemukan di pekarangan rumah ataupun di kebun-kebun penduduk. Pemanfaatan biji pinang yang secara tradisional telah digunakan secara luas sejak ratusan tahun lalu. Penggunaan paling populer adalah kegiatan menyirih dengan bahan campuran biji pinang, daun sirih, dan kapur. Ada juga yang mencampurnya dengan tembakau. Diperkirakan populasi pengguna biji pinang secara berkala dalam berbagai bentuk sediaan mencapai sekitar 500 juta orang (Balitrolitbang, 2007).

Pada penelitian sebelumnya disebutkan bahwa ekstrak biji dan akar pinang memiliki potensi yang dapat digunakan sebagai antiseptik obat kumur. Ketika dilakukan uji efektivitas dengan beberapa obat kumur komersial, didapatkan data bahwa ekstrak biji dan akar pinang lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans* (Yulineri dkk, 2006). Berdasarkan uraian di atas penulis ingin mengkaji lebih lanjut tentang inhibisi ekstrak biji pinang terhadap pelepasan kalsium pada proses demineralisasi gigi yang distimulasi *S. mutans*.

1.2 Rumusan Masalah

Dari uraian di atas dapat dirumuskan beberapa masalah:

- a. Apakah inhibisi ekstrak biji pinang berpengaruh terhadap pelepasan kalsium pada proses demineralisasi gigi yang distimulasi *S. mutans*?
- b. Berapakah konsentrasi ekstrak biji pinang yang efektif untuk menghambat terjadinya pelepasan ion kalsium pada proses demineralisasi gigi yang distimulasi *S. mutans*?

1.3 Tujuan Penelitian

- a. Menganalisis inhibisi ekstrak biji pinang terhadap pelepasan kalsium pada proses demineralisasi gigi yang distimulasi *S. mutans*.
- b. Menentukan konsentrasi ekstrak biji pinang yang efektif dalam menghambat pelepasan kalsium pada proses demineralisasi gigi yang distimulasi *S. mutans*.

1.4 Manfaat Penelitian

- a. Hasil penelitian yang didapat memberikan informasi tentang pengaruh ekstrak biji pinang dalam menghambat pelepasan kalsium pada proses demineralisasi gigi yang distimulasi oleh *S. mutans*.
- b. Hasil penelitian ini dapat dijadikan dasar pemikiran untuk melakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh ekstrak biji pinang dalam menghambat pelepasan kalsium pada proses demineralisasi gigi yang distimulasi *S. mutans*.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pinang (*Areca catechu* L.)

2.1.1 Klasifikasi

Tanaman pinang diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisi	: <i>spermatophyte</i>
Sub divisi	: <i>angiospermae</i>
Kelas	: <i>monocotyledonae</i>
Bangsa	: <i>arecales</i>
Suku	: <i>arecaceae/palmae</i>
Marga	: <i>areca</i>
Jenis	: <i>Areca catechu</i> L.

(Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991).

2.1.2 Morfologi

Pinang merupakan tanaman famili *Arecaceae* yang dapat mencapai tinggi 15-20 m dengan batang tegak lurus bergaris tengah 15 cm. Buahnya berkecambah setelah 1,5 bulan dan 4 bulan kemudian mempunyai jambul daun-daun kecil yang belum terbuka. Pembentukan batang baru terjadi setelah 2 tahun dan berbuah pada umur 5-8 tahun tergantung keadaan tanah. Tanaman ini berbunga pada awal dan akhir musim hujan dan memiliki masa hidup 25-30 tahun. Biji buah berwarna kecoklatan sampai coklat kemerahan. Pada bidang irisan biji tampak perisperm berwarna coklat tua dengan lipatan tidak beraturan menembus endosperm yang berwarna agak keputihan (Depkes RI, 1989).

Bagian-bagian dari tanaman pinang antara lain :

- a. Akar: berakar serabut, putih kotor.

.....

- b. Batang: tegak lurus dengan tinggi 10-30 meter, bergaris tengah 15 cm, tidak bercabang dengan bekas daun yang lepas. Pembentukan batang baru setelah 2 tahun dan berbuah pada umur 5-8 tahun tergantung keadaan tanah.
- c. Daun: majemuk menyirip tumbuh berkumpul di ujung batang membentuk roset batang. Pelepah daun berbentuk tabung, panjang 80 cm, tangkai daun pendek. Panjang helaian daun 1-1,8 m, anak daun mempunyai panjang 85 cm, lebar 5 cm, dengan ujung sobek dan bergigi.
- d. Bunga: tongkol bunga dengan seludang panjang yang mudah rontok, keluar dari bawah roset daun, panjang sekitar 75 cm, dengan tangkai pendek bercabang rangkap. Ada 1 bunga betina pada pangkal, di atasnya banyak bunga jantan tersusun dalam 2 baris yang tertancap dalam alur. Bunga jantan panjang 4 mm, putih kuning, benang sari 6. Bunga betina panjang sekitar 1,5 cm, hijau, bakal buah beruang satu.
- e. Buah: buahnya buah buni, bulat telur sungsang memanjang, panjang 3,5-7 cm, dinding buah berserabut, bila masak warnanya merah oranye. Buahnya berkecambah setelah 1,5 bulan dan 4 bulan kemudian mempunyai jambul daun-daun kecil yang belum terbuka.
- f. Biji: biji satu, bentuknya seperti kerucut pendek dengan ujung membulat, pangkal agak datar dengan suatu lekukan dangkal, panjang 15-30 mm, permukaan luar berwarna kecoklatan sampe coklat kemerahan, agak berlekuk-lekuk menyerupai jala dengan warna yang lebih muda. Pada bidang irisan biji tampak perisperm berwarna coklat tua dengan lipatan tidak beraturan menembus endosperm yang berwarna agak keputihan

Pinang memiliki nama daerah seperti pineng, pineung (Aceh), pinang (Gayo), batang mayang (Karo), pining (Toba), batang pinang (Minangkabau), dan jambe (Sunda, Jawa) (Depkes RI, 1989).



(a) (b)
Gambar 2.1 (a) dan (b) biji buah pinang (Depkes RI, 1989)

2.1.3 Kandungan Kimia dan Manfaat

Biji buah pinang mengandung alkaloid, seperti arekolin ($C_8H_{13}NO_2$), arekolidine, arekain, guvakolin, guvasine dan isoguvasine, tanin terkondensasi, tannin terhidrolisis, flavan, senyawa fenolik, asam galat, getah, lignin, minyak menguap dan tidak menguap, serta garam (Wang et al., 1996). Nonaka (1989) menyebutkan bahwa biji buah pinang mengandung proantosianidin, yaitu suatu tannin terkondensasi yang termasuk dalam golongan flavonoid. Proantosianidin mempunyai efek antibakteri, antivirus, antikarsinogenik, anti-inflamasi, anti-alergi, dan vasodilatasi (Fine, 2000).

Flavonoid adalah senyawa yang terdiri dari 15 atom karbon yang umumnya tersebar di dunia tumbuhan. Lebih dari 2000 flavonoid yang berasal dari tumbuhan telah diidentifikasi, namun ada tiga kelompok yang umum dipelajari, yaitu antosianin, flavonol, dan flavon. Flavonoid sering terdapat di sel epidermis. Sebagian besar flavonoid terkumpul di vakuola sel tumbuhan walaupun tempat sintesisnya ada di luar vakuola (Hahlbrock, 1981).

Analisis pinang di Philipina menyatakan bahwa buah pinang mengandung senyawa bioaktif yaitu flavonoid diantaranya tannin yang dapat menguatkan gigi (Bartholomew, 2001). Tannin merupakan substansi yang tersebar luas dalam tanaman, seperti daun, buah yang belum matang, batang dan kulit kayu. Pada buah

yang belum matang, tannin digunakan sebagai energi dalam proses metabolisme dalam bentuk oksidasi tannin. Sifat kimia tannin antara lain merupakan senyawa kompleks dalam bentuk campuran polifenol yang sukar dipisahkan sehingga sukar mengkristal; tannin dapat diidentifikasi dengan kromatografi; mengendapkan protein dari larutannya dan bersenyawa dengan protein tersebut sehingga tidak dipengaruhi enzim proteolitik; serta senyawa fenol dari tannin mempunyai aksi adstringensia, antiseptik dan pemberi warna. Dari sifat kimia yang dimiliki, tannin berguna sebagai pelindung pada tumbuhan pada saat masa pertumbuhan bagian tertentu pada tanaman, sebagai antihama pada tanaman, digunakan dalam proses metabolisme bagian tertentu tanaman, efek terapinya sebagai adstringensia misalnya pada gastrointestinal dan kulit, serta efek terapi yang lain seperti antiseptik pada jaringan luka dengan mengendapkan protein (Najib, 2009).

2.1.4 Ekstraksi

Ekstraksi adalah teknik pemisahan suatu senyawa berdasarkan perbedaan distribusi zat terlarut diantara dua pelarut yang saling bercampur. Pada umumnya zat terlarut yang diekstrak bersifat tidak larut atau larut sedikit dalam suatu pelarut tetapi mudah larut dengan pelarut lain. Metode ekstraksi yang tepat ditentukan oleh tekstur kandungan air bahan-bahan yang akan diekstrak dan senyawa-senyawa yang akan diisolasi (Harborne, 1996).

Proses pemisahan senyawa dalam simplisia, menggunakan pelarut tertentu sesuai dengan sifat yang akan dipisahkan. Pemisahan pelarut berdasarkan kaidah '*like dissolved like*' artinya suatu senyawa polar akan larut dalam pelarut polar. Ekstraksi dapat dilakukan dengan bermacam-macam metode, tergantung dari tujuan ekstraksi, jenis pelarut yang digunakan dan senyawa yang diinginkan. Metode ekstraksi yang paling sederhana adalah maserasi (Noerono, dalam Pratiwi, 2009). Maserasi adalah perendaman bahan alam yang dikeringkan (simplisia) dalam suatu pelarut. Metode ini

dapat menghasilkan ekstrak dalam jumlah banyak, serta terhindar dari perubahan kimia senyawa-senyawa tertentu karena pemanasan (Rusdi, dalam Pratiwi, 2009).

2.2 Kalsium (Ca)

2.2.1 Kalsium pada Email Gigi

Menut Prijatmoko (1997) kalsium adalah mineral yang terbanyak dalam tubuh. Sebesar 99% jumlah kalsium dalam tubuh ditemukan pada tulang dan gigi. Kurangnya masukan kalsium dari diet dalam waktu yang lama hampir selalu mengakibatkan hilangnya sejumlah kalsium tulang yang nantinya akan menimbulkan keadaan kehilangan tulang (Wilson dkk, 1979).

Lebih dari 95% Ca ditemukan dalam tulang dan gigi sebagai hidroksiapatit, suatu kompleks ion-ion kalsium, fosfat dan hidroksi (Calstom, dalam Tarigan, 1993). Email terdiri atas kristal hidroksiapatit besar yang sangat padat dengan karbonat, magnesium, natrium, kalium dan ion-ion lain yang terabsorpsi, struktur kristal padat dari garam-garam membuat email sangat kuat, jauh lebih keras daripada dentin. Jala-jala serabut protein khusus juga membuat email sangat tahan terhadap asam, enzim, dan agen korosif lain karena protein ini merupakan salah satu protein yang paling tidak larut dan paling resisten yang pernah diketahui (Guyton dan Hall, 1997).

2.2.2 Fungsi Kalsium

Kalsium merupakan komponen utama pembentukan tulang dan gigi. Mineral yang membentuk dentin dan email yang merupakan bagian tengah dan luar dari gigi adalah mineral yang sama dengan yang membentuk tulang, yaitu kalsium. Akan tetapi, kristal dalam gigi lebih padat dan kadar airnya lebih rendah. Protein dalam email gigi adalah keratin, sedangkan dalam dentin adalah kolagen. Berbeda dengan tulang, gigi sedikit sekali mengalami perubahan setelah muncul di rongga mulut. Pertukaran antara kalsium gigi dan tubuh berlangsung lambat dan terbatas pada kalsium yang terdapat di dalam lapisan dentin. Sedikit pertukaran mungkin juga terdapat diantara lapisan email dan ludah (Almatsier, 2003).

2.3 Gigi

2.3.1 Struktur Gigi

Secara anatomis gigi mempunyai bagian mahkota dan akar gigi, antara mahkota dengan akar dibatasi oleh servikal gigi. Pada masa pertumbuhan mahkota gigi sebagian tertutup oleh gingival, sebaliknya pada usia lanjut sebagian akar gigi diapikal servikal nampak, hal ini karena adanya resesi gingival (Herniyati dkk, 2008). Susunan gigi manusia terdiri atas email, dentin dan semen yang sebagian besar terdiri atas jaringan keras yang sama dengan jaringan tulang. Jaringan keras tersebut sebagian besar terdiri atas zat anorganik (Bintang, 1999).

Email terdiri dari 96% bahan anorganik, sisanya bahan organik dan air. Sebagian besar bahan anorganik terdiri dari ion kalsium, fosfat dan *hydroxyapatite* $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (Bintang, 1999). Ikatan *hydroxyapatite* yang terdapat pada email dan memiliki kapasitas untuk terjadinya pertukaran ion, memastikan bahwa terdapat kandungan lain pada email, yaitu : Na, Mg, Zn, K, Pb, Sr, Fe, F, dan juga komponen minor lainnya seperti karbonat. Sebagian besar komponen ionik minor dari email tidak diragukan lagi menjadi bagian dari struktur kristal apatit (Weatherell, 1975).

2.3.2 Demineralisasi pada Email

Demineralisasi merupakan proses pelepasan mineral dalam bentuk mineral ion dari email gigi. Demineralisasi merupakan istilah lain dari kerusakan email. Email gigi merupakan lapisan bening yang terdiri dari berbagai macam mineral, dimana komponen utamanya adalah kompleks dari kalsium fosfat yang biasa disebut *hydroxyapatite*. Beberapa ion-ion mineral tersebut bisa terlepas dari ikatan *hydroxyapatite* tanpa merusak integritas struktur gigi, tetapi dapat menyebabkan penghantaran panas, dingin, tekanan, dan sakit yang lebih daripada email yang normal. Apabila banyak mineral yang terlepas dari ikatan *hydroxyapatite*, maka dapat menimbulkan porositas. Ikatan *hydroxyapatite* tersebut dapat diperkuat dan direstorasi apabila terjadi proses remineralisasi (Anonim, 2010)

Demineralisasi email merupakan tanda-tanda awal karies gigi, biasanya terlihat pada bagian permukaan gigi dalam bentuk “*white spot*”. Hal ini disebabkan karena email gigi yang terpapar asam secara terus-menerus, seperti misalnya terdapat persintensi akumulasi plak (Anonim, 2008). Dibutuhkan waktu minimum tertentu bagi plak dan karbohidrat yang menempel pada gigi untuk membentuk asam dan mampu mengakibatkan demineralisasi gigi. Makanan dan minuman yang mengandung gula akan menurunkan pH plak dengan cepat sampai pada level yang dapat menyebabkan demineralisasi email (Kidd dan Bechal, 1991). Menurut Ireland (dalam Apolnaria, 2004) demineralisasi dapat terjadi apabila berada dalam suatu lingkungan pH di bawah 5,5.

2.3.3 Karies Gigi

Karies adalah penyakit yang mengenai jaringan keras gigi, yaitu email, dentin, dan sementum, yang disebabkan oleh aktivitas suatu jasad renik dalam suatu karbohidrat yang dapat diragikan, yang ditandai adanya demineralisasi jaringan keras gigi yang kemudian diikuti oleh kerusakan bahan organik. Beberapa jenis karbohidrat makanan misalnya sukrosa dan glukosa, dapat diragikan oleh bakteri tertentu dan membentuk asam sehingga pH plak akan menurun sampai di bawah 5 dalam waktu 1-3 menit. Penurunan pH yang berulang-ulang dalam waktu tertentu akan mengakibatkan demineralisasi permukaan gigi yang rentan dan proses karies pun dimulai (Kidd dan Bechal, 1991).

Ada 4 faktor penyebab karies yang saling berkaitan:

a. Substrat

Karbohidrat menyediakan substrat untuk pembuatan asam bagi bakteri dan sintesa polisakarida ekstra sel. Walaupun demikian, tidak semua karbohidrat sama derajat kariogeniknya. Karbohidrat yang kompleks misalnya pati relatif tidak berbahaya karena tidak dicerna secara sempurna di dalam mulut, sedangkan karbohidrat dengan berat molekul yang rendah seperti gula akan segera meresap ke dalam plak dan dimetabolisme dengan cepat oleh bakteri. Dengan demikian, makanan

dan minuman yang mengandung gula akan menurunkan pH plak secara cepat sampai pada level yang dapat menyebabkan demineralisasi email. Plak akan tetap bersifat asam selama beberapa waktu. Untuk kembali ke pH normal sekitar 7, dibutuhkan waktu 30-60 menit. Oleh karena itu, konsumsi gula yang sering dan berulang-ulang akan tetap menahan pH plak di bawah normal dan menyebabkan demineralisasi email (Kidd dan Bechal, 1991).

Sintesa polisakarida ekstra sel dari sukrosa lebih cepat ketimbang glukosa, fruktosa, dan laktosa. Oleh karena itu, sukrosa merupakan gula yang paling kariogenik, walaupun gula lainnya tetap berbahaya. Dan karena sukrosa merupakan gula yang paling banyak dikonsumsi, maka sukrosa merupakan penyebab utama dari karies (Kidd dan Bechal, 1991).

Efek karbohidrat untuk menimbulkan karies adalah secara lokal dan harus kontak dengan permukaan gigi dalam waktu yang lama. Karbohidrat yang melekat pada permukaan gigi selama beberapa waktu dapat merubah pH plak yang melekat pada gigi (menurunkan) dan kemudian akan kembali ke keadaan normal secara perlahan-lahan dalam waktu lebih dari satu jam (Kidd dan Bechal, 1991).

b. Mikroorganisme

Plak gigi merupakan lengketan yang berisi bakteri beserta produk-produknya, yang terbentuk pada semua permukaan gigi. Akumulasi bakteri ini tidak terjadi secara kebetulan melainkan terbentuk melalui serangkaian tahapan. Jika email yang bersih terpapar di rongga mulut maka akan ditutupi oleh lapisan organik yang amorf yang disebut pelikel. Pelikel ini terutama terdiri atas glikoprotein yang diendapkan dari saliva dan terbentuk segera setelah penyikatan gigi. Sifatnya sangat lengket dan mampu membantu melekatkan bakteri-bakteri tertentu pada permukaan gigi (Kidd & Bechal, 1991).

c. *Host*

Permukaan gigi yang tidak sempurna merupakan tempat yang baik untuk penimbunan karbohidrat dan mikroorganisme. Komposisi gigi yang tidak baik memudahkan terjadinya perusakan oleh kariogenik agen. Plak yang mengandung

bakteri merupakan awal bagi terbentuknya karies. Dalam keadaan normal, gigi geligi selalu dibasahi oleh saliva. Karena kerentanan gigi terhadap karies banyak bergantung kepada lingkungannya, maka peran saliva sangat besar. Saliva mampu remineralisasikan karies yang masih dini karena banyak sekali mengandung ion kalsium dan fosfat. Selain mempengaruhi komposisi mikroorganisme di dalam plak, saliva juga mempengaruhi pH nya. Karena itu, jika aliran saliva berkurang atau menghilang, maka karies mungkin akan tidak terkendali (Kidd & Bechal, 1991).

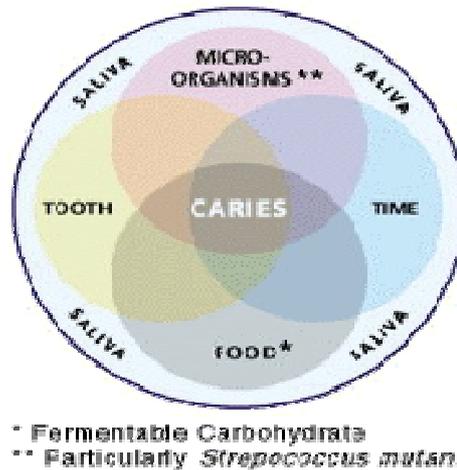
d. Waktu

Waktu adalah hal yang sangat berperan dalam proses karies. Proses karies tidak berlangsung dalam jam atau hari, ataupun minggu atau bahkan tahun. Karbohidrat yang dapat difermentasikan dalam waktu yang lama yang dapat menyebabkan proses patologis.

Karies gigi dimulai dari kerusakan jaringan keras gigi (email) yang mengakibatkan gigi berlubang, penyebab utamanya adalah plak. Plak adalah lapisan tipis yang tidak berwarna, transparan, tidak dapat dilihat dengan mata biasa, melekat pada permukaan gigi dan membentuk koloni (kumpulan) yang terdiri dari air liur, sisa-sisa makanan, jaringan mati, fibrinogen, dan mikroorganisme. Proses terjadinya karies diawali dengan menempelnya sisa makanan yang bergula (termasuk karbohidrat) yang pada permukaan email akan menjadi media pertumbuhan yang baik bagi bakteri. Bakteri yang menempel pada permukaan tersebut akan menghasilkan asam dan melarutkan kristal apatit di permukaan email sehingga terjadi proses demineralisasi, yang ditandai dengan adanya noda putih atau *white spot* pada permukaan gigi yang ditumpuki oleh plak gigi. Karbohidrat dari sisa-sisa makanan yang ada di dalam plak diubah oleh kuman menjadi asam, asam melarutkan zat kapur (kalsium) yang ada di jaringan email menyebabkan gigi berlubang (Rimawati, 2009).

Adanya kemampuan saliva untuk mendepositkan kembali mineral selama berlangsungnya proses karies, menandakan bahwa proses karies tersebut terdiri atas periode perusakan dan perbaikan yang silih berganti. Oleh karena itu, bila saliva ada

di dalam lingkungan gigi, maka karies tidak menghancurkan gigi dalam hitungan hari atau minggu, melainkan bulan atau tahun (Kidd & Bechal, 1991).



Gambar 2.2 Faktor-faktor penyebab karies gigi (Anonim, 2010)

2.4 Karbohidrat

2.4.1 Definisi

Karbohidrat adalah senyawa organik terdiri dari unsur karbon, hidrogen, dan oksigen. contoh; glukosa $C_6H_{12}O_6$, sukrosa $C_{12}H_{22}O_{11}$, selulosa $(C_6H_{10}O_5)_n$. Rumus umum karbohidrat $C_n(H_2O)_m$. Karbohidrat sederhana mempunyai rasa manis sehingga dikaitkan dengan gula. Melihat struktur molekulnya, karbohidrat lebih tepat didefinisikan sebagai suatu *polihidroksialdehid* atau *polihidroksiketon*. Glukosa adalah suatu polihidroksi aldehid karena mempunyai satu gugus aldehid dan 5 gugus hidroksil (OH) (Anonim, 2011).

2.4.2 Klasifikasi Karbohidrat

Karbohidrat digolongkan menjadi 4 golongan utama yaitu:

1. Monosakarida

Monosakarida merupakan karbohidrat paling sederhana karena molekulnya hanya terdiri atas beberapa atom C dan tidak dapat diuraikan dengan cara hidrolisis menjadi karbohidrat lain. Monosakarida dibedakan menjadi aldosa dan ketosa.

Contoh dari aldosa yaitu glukosa dan galaktosa. Contoh ketosa yaitu fruktosa (Anonim, 2011).

2. Disakarida

Disakarida terbentuk dari 2 molekul monosakarida yg sejenis atau tidak. Disakarida dapat dihidrolisis oleh larutan asam dalam air sehingga terurai menjadi 2 molekul monosakarida.

Hidrolisis : terdiri dari 2 monosakarida

Sukrosa : glukosa + fruktosa (C 1-2)

Maltose : 2 glukosa (C 1-4)

Trehalosa : 2 glukosa (C1-1)

Laktosa : glukosa + galaktosa (C1-4)

(Anonim, 2011)

3. Oligosakarida

Senyawa yang terdiri dari gabungan molekul-molekul monosakarida yang banyak gabungan dari 3-6 monosakarida dihidrolisis: gabungan dari 3-6 monosakarida misalnya maltotriosa (Anonim, 2011).

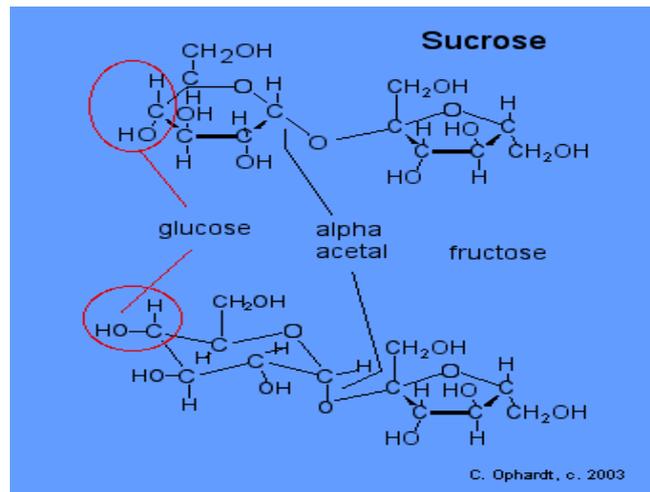
4. Polisakarida

Senyawa yang terdiri dari gabungan molekul-molekul monosakarida yang banyak jumlahnya, senyawa ini bisa dihidrolisis menjadi banyak molekul monosakarida. Polisakarida merupakan jenis karbohidrat yang terdiri dari lebih 6 monosakarida dengan rantai lurus/cabang (Anonim, 2011).

2.4.3 Sukrosa

Sukrosa merupakan suatu disakarida yang dibentuk dari monomer-monomernya yang berupa unit glukosa dan fruktosa, dengan rumus molekul $C_{12}H_{22}O_{11}$. Senyawa ini dikenal sebagai sumber nutrisi serta dibentuk oleh tumbuhan. Penambahan sukrosa dalam media berfungsi sebagai sumber karbon. Sukrosa atau gula dapur diperoleh dari gula tebu atau gula beet. Unit glukosa dan fruktosa diikat oleh jembatan asetal oksigen dengan orientasi alpha. Struktur ini mudah dikenali

karena mengandung enam cincin glukosa dan lima cincin fruktosa (Wikipedia, 2011). Sukrosa merupakan jenis gula yang paling banyak dikonsumsi oleh masyarakat, maka sukrosa merupakan penyebab karies yang utama (Kidd dan Bechal, 1991).



Gambar 2.3 Struktur kimia sukrosa (Ophardt, 2003)

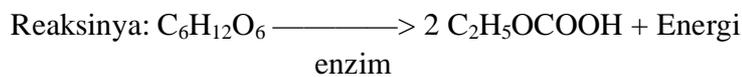
2.4.4 Fermentasi Sukrosa

Secara umum, fermentasi adalah salah satu bentuk respirasi anaerobik, akan tetapi, terdapat definisi yang lebih jelas yang mendefinisikan fermentasi sebagai respirasi dalam lingkungan anaerobik dengan tanpa akseptor elektron eksternal. Fermentasi dapat terjadi karena adanya aktivitas mikroba penyebab fermentasi pada substrat organik yang sesuai. Terjadinya fermentasi dapat menyebabkan perubahan sifat bahan pangan sebagai akibat pemecahan komponen-komponen bahan tersebut. Dari hasil akhir fermentasi, dibedakan menjadi fermentasi asam laktat dan fermentasi alkohol (Anonim, 2011).

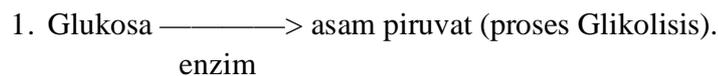
Sintesa polisakarida ekstra sel sukrosa lebih cepat daripada glukosa, fruktosa, dan laktosa. Oleh karena itu, sukrosa merupakan gula yang paling kariogenik (Kidd dan Bechal, 1991). Proses fermentasi sukrosa melibatkan mikroorganisme dengan melepaskan karbondioksida dan produk sampingan berupa senyawa alkohol. Mikroba kariogenik *S. mutans* yang berada dalam mulut, secara anaerobik melalui enzim yang

diproduksinya mampu mencerna atau menghidrolisis sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa. Dari hasil metabolisme jenis gula tersebut terbentuklah polimer rantai panjang dari glukosa yang disebut dekstran atau polimer rantai panjang dari fruktosa yang disebut levans. Jenis polimer-polimer tersebut kemudian berkembang menjadi noda pada permukaan gigi. Noda-noda tersebut bersifat gel yang sangat lengket sekali. Pengeroposan gigi sendiri disebabkan oleh pengaruh asam laktat, yaitu produk hasil sampingan dari metabolisme fruktosa dan levans (Koswara, 2009).

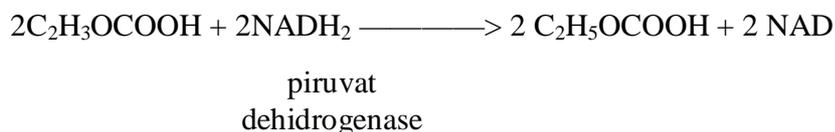
Fermentasi asam laktat adalah fermentasi dimana hasil akhirnya asam laktat.



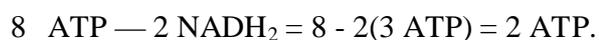
Prosesnya:



2. Dehidrogenasi asam piruvat akan terbentuk asam laktat:



Energi yang terbentuk dari glikolisis hingga terbentuk asam laktat:

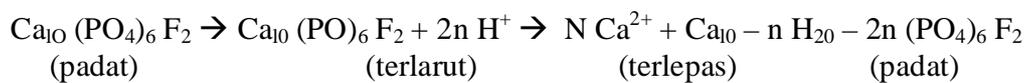


(Anonim, 2011)

Sebagaimana diketahui bahwa enamel sebagian besar terdiri dari hidroksiapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) atau Fluoroapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$), kedua unsur tersebut dalam suasana asam akan larut menjadi Ca^{2+} ; PO_4^{-9} dan F^- , OH^- . Ion H^+ akan beraksi dengan gugus PO_4^{-9} , F^- , atau OH^- membentuk HSO_4^- ; H_2SO_4^- HF atau H_2O , sedangkan yang kompleks terbentuk CaHSO_4 ; CaPO_4 dan CaHPO_4 . Kecepatan melarutnya enamel dipengaruhi oleh derajat keasaman (pH), konsentrasi asam, waktu melarut dan kehadiran ion sejenis kalsium, dan fosfat (Prasetyo, 2005).

Reaksi kimia pelepasan ion kalsium dari enamel gigi dalam medium yang bersifat asam, yaitu pada pH 4,5 sampai 6 merupakan reaksi orde nol. Adapun pengaruh pH terhadap koefisien laju reaksi menunjukkan, bahwa semakin kecil atau semakin asam media, maka makin tinggi laju reaksi pelepasan ion kalsium dari enamel gigi (Prasetyo, 2005).

Reaksi kimia pelepasan ion kalsium dari enamel gigi dalam suasana asam ditunjukkan dengan persamaan reaksi sebagai berikut:



Mengingat bahwa kalsium merupakan komponen utama dalam struktur gigi, dan demineralisasi enamel terjadi akibat lepasan ion kalsium dari enamel gigi, maka pengaruh asam pada enamel gigi merupakan reaksi penguraian. Demineralisasi yang terus-menerus akan membentuk pori-pori kecil atau porositas pada permukaan enamel yang awalnya tidak ada (Prasetyo, 2005).

2.5 *Streptococcus mutans*

2.5.1 Taksonomi

Kedudukan *S. mutans* dalam sistematika (tata nama) bakteri diklasifikasikan:

Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Divisi	: <i>Firmicutes</i>
Klas	: <i>Bacilli</i>
Ordo	: <i>Lactobacillales</i>
Famili	: <i>Streptococaceae</i>
Genus	: <i>Streptococcus</i>
Spesies	: <i>Streptococcus mutans</i>

(Bergey, dalam Pratama, 2005)

2.5.2 Sejarah

Streptococcus mutans dikemukakan pertama kali oleh Jk Clark pada tahun 1924 setelah ia mengisolaisnya dari suatu lubang luka tetapi sampai pada tahun 1960-an mikroba tersebut tidak ditemukan. Mikroba tersebut dihasilkan ketika peneliti mulai belajar kerusakan pada gigi. Secara biokimia sangat serupa tetapi setelah membawa juru gambar antigenik berbeda, semuanya menjadi 7 *serotypes* yaitu a, b, c, d, e, f dan g yang diuraikan (Nugraha, 2007).

Studi di kemudian hari melihat di profil protein tegangan, struktur dinding sel mereka dan gross DNA komposisi menetapkan serological penemuan yang memiliki variasi perlu dipertimbangkan, di antara sejumlah besar pengisolasian dikenali seperti *S. mutans*. Berdasarkan pada suatu studi, *S. mutans* yang diisolasikan adalah terbagi ke dalam sejumlah jenis yang berbeda, sebagian yang berasal dari binatang dan beberapa dari sumber manusia (Nugraha, 2007).

2.5.3 Morfologi

Streptococcus mutans merupakan anggota dari grup *Streptococcus viridans* (Gronroos, dalam Purwanto 2009). *S. mutans* termasuk dalam kelompok eubakteria yakni kuman dengan sel berdinding tebal, kaku, tidak bergerak (non motile) atau gerakan dengan flagel. *S. mutans*, seperti anggota *S. viridans* yang lain termasuk dalam kelompok non-Beta hemolitik, yakni dapat menunjukkan hemolisa alfa pada biakan darah atau tanpa hemolisa. *S. mutans* termasuk dalam kelompok bakteri gram positif karena ia mempunyai membran yang permeable terhadap yodium, setelah dicuci dengan alkohol tetap berwarna ungu (Gronroos, dalam Purwanto, 2009).

Bakteri ini merupakan mikroorganisme bulat yang tersusun secara khas dalam rantai dan tersebar luas di alam. Sebagian tersebar sebagai flora normal manusia, sedangkan beberapa diantaranya berkaitan dengan penyakit-penyakit pada manusia yang berhubungan dengan infeksi oleh *S. mutans* dan sebagian karena sensitasi terhadapnya. *S. mutans* merupakan spesies yang mendominasi komposisi bakteri dalam plak gigi dan merupakan mikroflora normal dalam rongga mulut yang

harus mendapat perhatian khusus karena kemampuannya membentuk plak dari sukrosa melebihi jenis bakteri lainnya (Brooks, 2001).

Streptococcus mutans bersifat nonmotil (tidak bergerak), bakteri anaerob fakultatif. Memiliki bentuk kokus yang sendirian, berbentuk bulat atau bulat telur dan tersusun dalam rantai. Bakteri ini tumbuh secara optimal pada suhu sekitar 18^o-40^o Celsius. *S. mutans* biasanya ditemukan pada rongga gigi manusia yang luka dan menjadi bakteri yang paling kondusif menyebabkan karies untuk email gigi. Morfologi koloni *S. mutans* secara makroskopis adalah koloni berbentuk *discoid* dengan diameter 1-2 mm yang tumbuh dengan baik pada media padat BHI-A (Todar, 2006). Selain itu *S. mutans* bersifat asidogenik yaitu menghasilkan asam, asidodurik, mampu tinggal pada lingkungan asam, dan menghasilkan suatu polisakarida yang lengket disebut dextran. Oleh karena kemampuan ini, *S. mutans* bisa menyebabkan lengket dan mendukung bakteri lain menuju ke email gigi, mendukung pertumbuhan bakteri asidodurik yang lainnya, dan asam melarutkan email gigi (Todar, 2006).



Gambar 2.4 *Streptococcus mutans* dengan pewarnaan Gram (Todar, 2006)

Cara identifikasi bakteri *S. mutans* adalah dengan uji pewarnaan gram, pewarnaan spora dan uji biokimia dengan uji fermentasi karbohidrat (laktosa, glukosa, dan sukrosa), oksidase, katalase, motilitas, IMViC (Indol, Methyl Red,

Voges-Proskauer, Citrat) dan TSIA (Triple Sugar Iron Agar). Karakteristik morfologi *S. mutans* secara mikroskopis adalah bentuk kokus yang sendirian berbentuk bulat atau bulat telur dan tersusun dalam rantai seperti pada gambar 2.4 (Todar, 2006).

2.6 Spektrofotometer Serapan Atom (SSA)

2.6.1 Definisi

SSA atau yang sering dikenal dengan istilah AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometry*) adalah suatu metode yang berdasarkan pada jumlah radiasi yang diserap oleh atom-atom bebas bila sejumlah radiasi dilewatkan melalui sistem yang mengandung atom-atom itu. Jumlah radiasi yang diserap tergantung pada jumlah atom bebas yang terlihat dan kemampuan atom-atom itu untuk menyerap radiasi. Prinsip analisis dengan SSA adalah interaksi antara energi radiasi dengan atom unsur yang dianalisis. SSA banyak digunakan untuk analisis unsur (Riyanto, 2009).

2.6.2 Mekanisme Kerja

Larutan sampel diaspirasikan ke suatu nyala dan unsur-unsur di dalam sampel diubah menjadi uap atom sehingga nyala mengandung atom unsur-unsur yang dianalisis. Beberapa diantara atom akan tereksitasi secara termal oleh nyala, tetapi kebanyakan atom tetap tinggal sebagai atom netral dalam keadaan dasar (ground state). Atom-atom ground state ini kemudian menyerap radiasi yang diberikan oleh sumber radiasi yang terbuat dari unsur-unsur yang bersangkutan. Panjang gelombang yang dihasilkan oleh sumber radiasi adalah sama dengan panjang gelombang yang diabsorpsi oleh atom dalam nyala. Absorpsi ini mengikuti hukum Lambert-Beer, yakni absorbansi berbanding lurus dengan panjang nyala yang dilalui sinar dan konsentrasi uap atom dalam nyala. Kedua variabel ini sulit untuk ditentukan tetapi panjang nyala dapat dibuat konstan sehingga absorbansi hanya berbanding langsung dengan konsentrasi analit dalam larutan sampel. Teknik-teknik analisisnya sama seperti pada spektrofotometri UV-Vis yaitu standar tunggal, kurva kalibrasi dan kurva adisi standar (Riyanto, 2009).



Gambar 2.5 Spektrofotometer Serapan Atom (Anonim, 2011a)

2.7 Hipotesis

- a. Inhibisi ekstrak biji pinang menghambat pelepasan kalsium dalam proses demineralisasi gigi yang distimulasi bakteri *S. mutans*.
- b. Ekstrak biji pinang dengan konsentrasi 100% efektif dalam menghambat pelepasan kalsium pada proses demineralisasi gigi yang distimulasi *S. mutans*.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris. Karena sampel maupun perlakuan lebih terkontrol, terukur dan pengaruh perlakuan lebih dapat dipercaya.

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan dengan kelompok kontrol (*The Post Test Only Control Group Design*), yaitu dengan melakukan pengukuran atau observasi setelah perlakuan diberikan (Notoatmodjo, 2005).

3.3 Tempat dan waktu penelitian

3.3.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember, dan di Laboratorium Tanah Fakultas Pertanian Universitas Jember.

3.3.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan September 2011.

3.4 Identifikasi Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Ekstrak biji pinang.

3.4.2 Variabel Terikat

Kelarutan kalsium pada email gigi.

3.4.3 Variabel Terkendali

- a. Konsentrasi ekstrak biji pinang
- b. Lama perendaman potongan gigi dalam ekstrak biji pinang
- c. Berat email gigi premolar-1 rahang atas
- d. Konsentrasi sukrosa
- e. Suspensi bakteri *S. mutans*

3.5 Definisi Operasional

3.5.1 Ekstrak biji pinang

Ekstrak biji pinang yang digunakan dalam penelitian ini dibuat dari biji pinang yang diambil dari buah yang masih muda, ditumbuk hingga menjadi serbuk halus. Ditambahkan etanol 96% sebagai pelarut. Setelah itu diencerkan dengan menggunakan akuades steril sesuai dengan konsentrasi yang diujikan, yaitu konsentrasi 100%, 50%, dan 25%.

3.5.2 Gigi

Gigi yang digunakan adalah elemen gigi premolar-1 rahang atas yang memenuhi kriteria, dibelah menjadi empat bagian secara vertikal, kemudian dibelah lagi secara horizontal dari arah proksimal sehingga didapatkan bagian mahkotanya saja, sedangkan bagian akarnya dibuang.

3.5.3 Kelarutan kalsium

Kelarutan kalsium adalah jumlah kalsium gigi permanen yang terlarut setelah direndam dalam larutan sukrosa yang distimulasi *S. mutans* dan ditambahkan ekstrak biji pinang.

3.5.4 *Streptococcus mutans*

Streptococcus mutans merupakan bakteri gram positif, bersifat nonmotil (tidak bergerak) serta merupakan bakteri anaerob fakultatif. Memiliki bentuk kokus

yang sendirian berbentuk bulat atau bulat telur serta tersusun dalam rantai. Bakteri ini tumbuh secara optimal pada suhu sekitar 18°C-40°C (Nugraha, 2007). *Streptococcus mutans* yang akan dipakai dalam penelitian ini diambil dari stok *S. mutans* di bagian Biomedik Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

3.6 Bahan dan alat penelitian

3.6.1 Bahan penelitian

- a. Potongan gigi premolar-1 rahang atas yang diambil mahkotanya saja
- b. Ekstrak biji pinang
- c. Biakan *S. mutans* (Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember)
- d. Akuades steril (PT. Aditama Farmino, Surabaya)
- e. Larutan garam fisiologis (PZ)
- f. Pumice
- g. Etanol 96%

3.6.2 Alat penelitian

- a. *Straight Hand Piece* dan mikromotor (HNSY Power Unit)
- b. *Safeside separating disk*
- c. Gelas film
- d. Pinset
- e. Tabung *Erlenmeyer* (phyrex, ukuran 100 ml)
- f. Timbangan elektrik (Analytical Plus, O’Haus)
- g. Inkubator
- h. Pipet volume (Mohr, ukuran 20 ml)
- i. Spatula kaca
- j. Palu/*hammer*
- k. Blender

- l. *Magnetic stirrer*
- m. Corong
- n. kertas saring
- o. *rotavapour*
- p. pH meter
- q. AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometri*)

3.7 Sampel Penelitian

3.7.1 Kriteria sampel

Sampel yang digunakan mempunyai kriteria sebagai berikut: gigi premolar-1 rahang atas penderita, telah diekstraksi dengan alasan perawatan ortodonsia, bebas dari karies dan hipoplasia email (Dikri, dalam Apolnaria, 2004). Setelah dibersihkan, gigi disimpan dalam larutan Pz sampai dilakukan uji demineralisasi.

3.7.2 Besar sampel

Besar sampel yang diperoleh dari rumus (Daniel, 2005) adalah minimal 4 buah elemen untuk masing-masing kelompok (lihat lampiran A).

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Tahap Persiapan

a. Pembuatan potongan gigi

Elemen gigi premolar-1 rahang atas yang memenuhi kriteria sampel dibelah empat secara vertikal dari arah oklusal dengan menggunakan *straight hand piece* dan *safeside separating disk*. Setelah menjadi empat bagian yang sama, bagian mahkota gigi dan akar gigi dipisahkan dengan cara potongan gigi premolar dibelah lagi secara horizontal 2 mm diatas servikal gigi dari arah proksimal (Kurniawati, 2001). Sehingga didapatkan bagian mahkota gigi saja, sedangkan bagian akarnya dibuang. Kemudian gigi yang telah dipotong dibersihkan dengan menggunakan *rubber cup* berkecepatan rendah, menggunakan campuran air dan *pumice* kemudian dibilas

dengan akuades (Liesan, dalam Apolnaria, 2004). Potongan-potongan gigi selanjutnya ditimbang dengan timbangan elektrik masing-masing 100 mg, setelah itu direndam dalam larutan garam fisiologis (PZ), sampai dilakukan uji kelarutan kalsium.

b. Persiapan alat

Semua alat yang digunakan dalam penelitian ini dibersihkan dan disterilkan terlebih dahulu dalam oven selama 15 menit dengan suhu 100°C.

c. Mempersiapkan ekstrak biji pinang

Biji pinang diambil dari buah yang masih muda. Kemudian biji pinang dijemur di bawah sinar matahari, setelah itu dikupas/dibuang kulit bijinya dengan cara dipukul dengan palu/*hammer*. Biji yang telah terkelupas dikering anginkan. Biji tersebut kemudian dihaluskan dengan menggunakan tumbuk dan blender kering hingga menjadi serbuk. Diambil 250 gram serbuk biji kemudian dimasukkan ke dalam maserator, ditambahkan etanol 96% sebanyak 7,5 kali berat serbuk kedalamnya sebagai pelarut, kemudian dilakukan pengadukan. Dibiarkan termaserasi selama lima hari dalam maserator tertutup dengan pengadukan setiap hari. Setelah itu, maserat disaring dari ampasnya dengan menggunakan corong *Buchner*. Maserat diendapkan selama 2 hari. Selanjutnya dilakukan pemisahan maserat dari endapan dengan hati-hati. Maserat diuapkan dalam cawan porselen di atas penangas air atau dengan penguap putar (*rotavapour*) pada suhu 45- 50⁰ C dengan tekanan rendah (\pm 15 mmHg) hingga berwarna kuning kecoklatan, sehingga diperoleh ekstrak kental (Ningsih dkk, 2009). Ekstrak biji pinang siap digunakan. Untuk membuat beberapa konsentrasi yang berbeda, ekstrak biji pinang diencerkan dengan menggunakan akuades steril sesuai dengan konsentrasi yang diujikan. Beberapa serial konsentrasi yang ditentukan yaitu 25%, 50%, 100%.

d. Prosedur Kultur *S. mutans*

Streptococcus mutans yang akan dipakai dalam penelitian ini diambil dari stok *S. mutans* bagian Biomedik Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Cara pembuatan suspensi *S. mutans* adalah 2 ml media BHI-B steril

dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambah 1 ose *S. mutans*. Perlakuan ini dilakukan dengan dilewatkan di atas lampu spiritus yang sedang menyala. Kemudian ditambah dengan akuades dan dihomogenkan di atas *thermolyne*, lalu diukur kekeruhannya menggunakan spektrofotometer sesuai dengan larutan standart *Mc Farland* untuk bakteri yaitu 1 (absorbansi $0,15=3 \times 10^8$, panjang gelombang 560 nm).

Sebelumnya spektrofotometer dikondisikan sebagai berikut:

- 1) Spektrofotometer dihidupkan kurang lebih 15 menit dan panjang gelombang diatur menjadi 560 nm.
 - 2) Tombol absorbansi diputar sampai jarum petunjuk mencapai nilai 0, kemudian tabung reaksi (khusus untuk spektrofotometer) dimasukkan, transmittan dikondisikan sampai jarum mencapai nilai 100.
 - 3) Tabung reaksi berisi aquadest (sebagai blanko) diukur pada spektrofotometer dan siap untuk menghitung absorbansi suspensi *S. mutans*.
- e. Sebelum dilakukan tahap perlakuan, terlebih dahulu dilakukan trial untuk menentukan absorbansi *S. mutans*, jumlah sukrosa, waktu dan pH (lampiran B).

3.8.2 Tahap Perlakuan

- a. Semua perlakuan dilakukan di dalam *laminar flow* untuk mencegah kontaminasi dengan lingkungan luar.
- b. Perendaman gigi
 - 1) Gigi premolar-1 rahang atas direndam dalam larutan PZ sebelum dimasukkan pada tabung perendaman gigi.
 - 2) Dibuat 3 gram sukrosa yang dilarutkan dengan PZ. Setiap sampel pada masing-masing kelompok diberi sukrosa sebanyak 10 ml.
 - 3) Kemudian pada masing-masing kelompok, baik kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan dipaparkan *S. mutans*, yaitu dengan menambahkan suspensi *S. mutans* sebanyak 1 ml sesuai larutan standart *Mc Farland* untuk bakteri yaitu 1 (absorbansi $0,15=3 \times 10^8$, dengan panjang gelombang 560 nm) ke dalam setiap sampel.

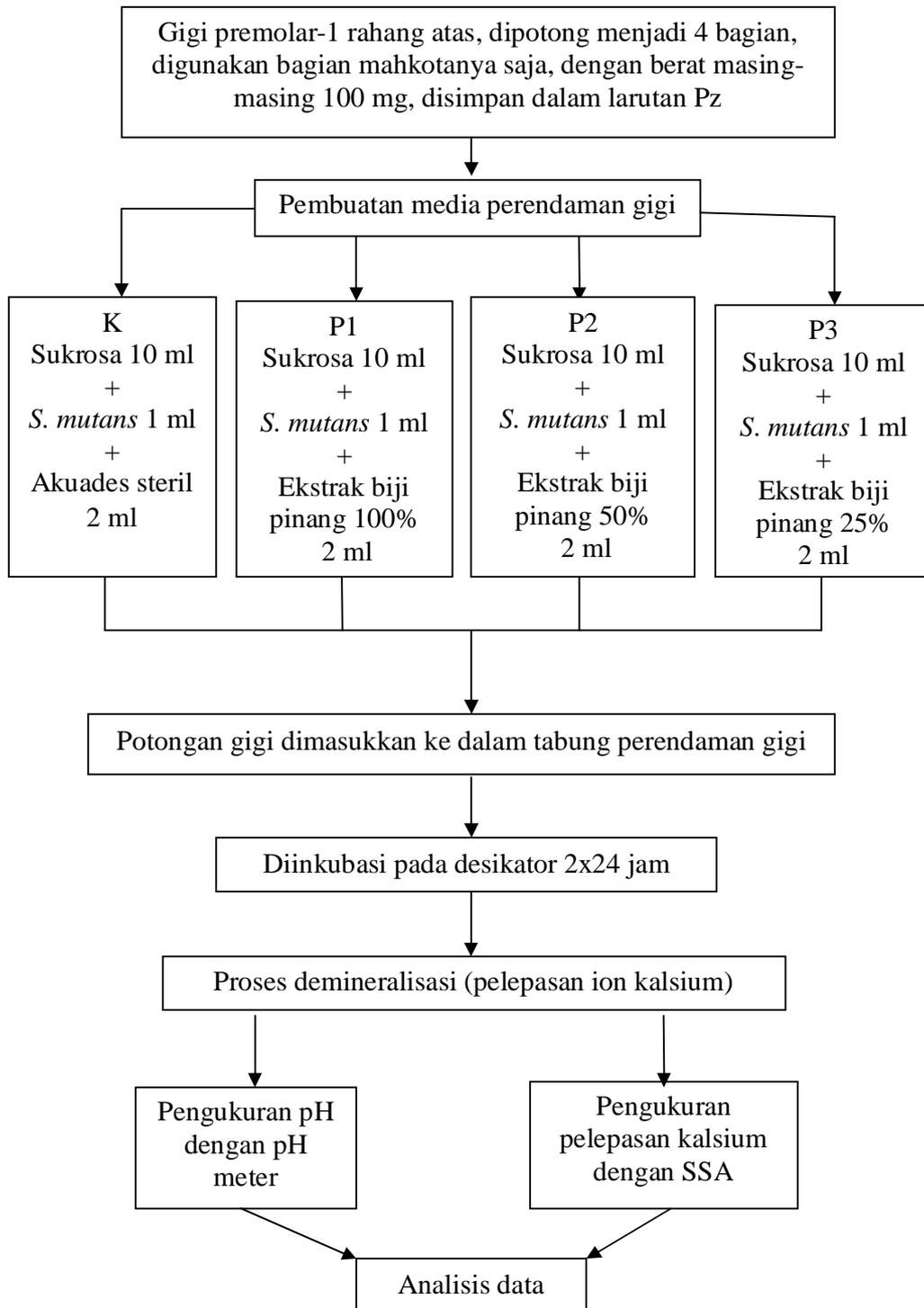
- 4) Ekstrak biji pinang ditambahkan ke dalam sampel yang telah dipapar *S. mutans*.
 - a) Kelompok perlakuan: diberi ekstrak biji pinang dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%. Pada masing-masing kelompok ditambahkan sebanyak 2 ml ekstrak biji pinang sesuai konsentrasi yang ditentukan.
 - b) Kelompok kontrol: tanpa pemberian ekstrak biji pinang dan hanya ditambahkan akuades steril sebanyak 2 ml.
 - 5) Potongan gigi premolar-1 rahang atas dengan besar masing-masing potongan gigi 100 mg dimasukkan ke dalam tabung perendaman gigi yang telah disiapkan
 - 6) Dilakukan pengukuran pH awal pada setiap sampel pada jam ke-0 proses perendaman gigi.
 - 7) Semua sampel kemudian diinkubasi di dalam desikator pada suhu 37°C selama 2x24 jam.
 - 8) Setelah 1x24 jam proses perendaman gigi, setiap sampel dilakukan pengukuran pH. Kemudian diinkubasikan kembali sampai 2x24 jam.
 - 9) Setelah 2x24 jam, potongan gigi diangkat dari tabung perendaman gigi dan dilakukan pengukuran pH pada tiap-tiap sampel.
- c. Pengukuran pH
- 1) Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan pH meter.
 - 2) Pengukuran pH dilakukan pada setiap sampel sebanyak tiga kali pengukuran, yaitu pada jam ke-0 proses perendaman gigi, setelah 1x24 jam proses perendaman gigi, dan setelah 2x24 proses perendaman gigi.
- d. Pengamatan kadar kalsium
- 1) Setelah proses perendaman gigi selesai, kemudian dilakukan pengamatan kadar kalsium dengan menggunakan AAS.
 - 2) Sinar yang sesuai dengan kalsium ditentukan terlebih dahulu, yaitu lampu katoda berongga (*Hollow Catode Lamp*).
 - 3) Pengamatan dengan nyala api.
 - 4) Isolasi panjang gelombang yang sesuai dengan kalsium.

- 5) Energi sinar kalsium dideteksi, kemudian diubah menjadi energi listrik.
- 6) Dari energi listrik tersebut digunakan pembacaan hasil. Pembacaan hasil ini berupa angka digital konsentrasi kalsium dengan satuan ppm (*Parts Per Million*).
- 7) Pembacaan hasil pelepasan kalsium dilakukan pada tiap sampel secara berurutan.

3.9 Analisis Data

Data hasil penelitian dilakukan uji normalitas terlebih dahulu, kemudian digunakan *Analysis of Varians* (ANOVA) satu arah dengan derajat kemaknaan 95% ($\alpha = 0,05$) untuk menguji beda rata-rata kelarutan kalsium setelah direndam dengan ekstrak biji pinang, dan dilakukan uji *Least Significant Difference* (LSD) untuk mengetahui apakah ada beda dari pemberian ekstrak biji pinang dalam menghambat pelepasan kalsium pada proses demineralisasi yang distimulasi *S. mutans*.

3.10 Alur penelitian

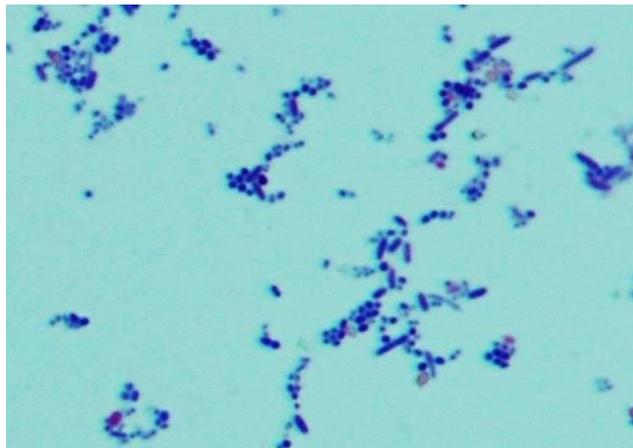


BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

4.1.1 Hasil Sub Kultur *Streptococcus mutans*

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Streptococcus mutans*. Setelah diinkubasi selama 48 jam dan dibuat preparat hapus dengan pewarnaan Gram, bakteri tampak berwarna biru tua (Gram positif) dan bentuk bakteri yang seragam yaitu berbentuk bulat.

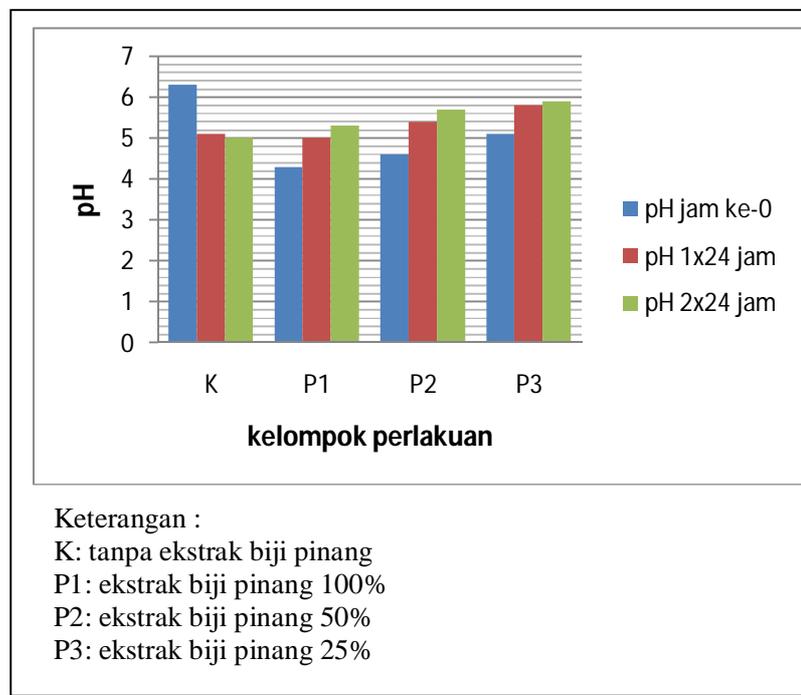


Gambar 4.1 Preparat hapus *S. mutans* (pewarnaan Gram) pembesaran 1000x

4.1.2 Hasil Pengukuran pH dan Pelepasan Kalsium

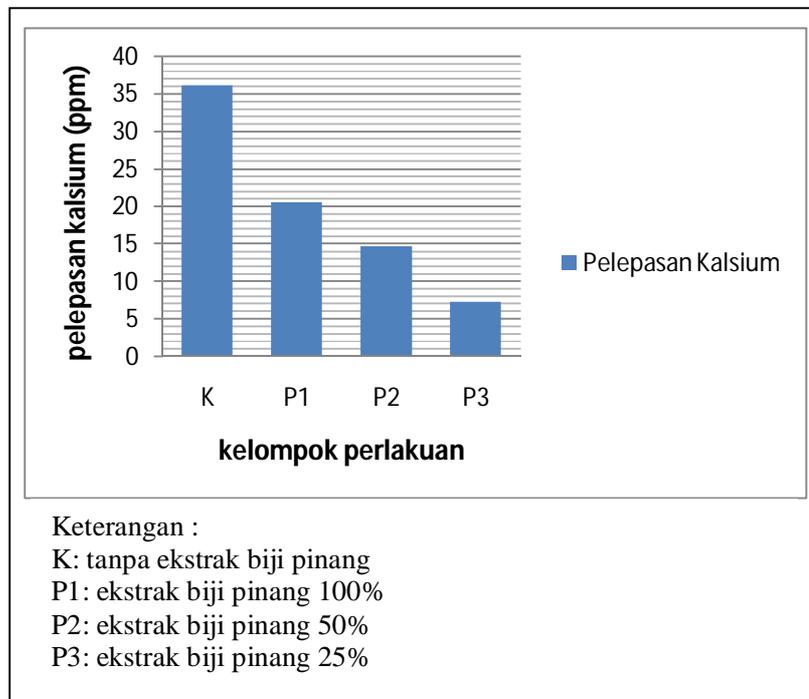
Tabel 4.1 Hasil Pengukuran pH dan Pelepasan Kalsium pada Masing-masing Kelompok Sampel.

No	Kelompok Perlakuan	Rata-rata pH			Rata-rata pelepasan kalsium (ppm)
		jam ke-0	1x24 jam	2x24 jam	
1.	Kontrol (akuades)	6,3	5,1	5,0	36,14
2.	Ekstrak 100%	4,3	5,0	5,3	20,57
3.	Ekstrak 50%	4,6	5,4	5,7	14,71
4.	Ekstrak 25%	5,1	5,8	5,9	7,29



Gambar 4.2 Diagram batang rata-rata hasil pengukuran pH pada setiap kelompok

Hasil pengukuran pH pada ekstrak biji pinang sebelum diberikan pada perlakuan adalah sebesar 5,3. Kemudian pengukuran pH dilakukan pada setiap sampel perendaman gigi sebanyak 3x yaitu pada jam ke-0 proses perendaman gigi, setelah 1x24 jam proses perendaman gigi, dan setelah 2x24 jam proses perendaman gigi. Dari data pada tabel 4.1, dapat dibuat sebuah diagram yang menggambarkan perubahan nilai pH selama proses perendaman gigi berlangsung. Dari gambar 4.2 dapat diketahui bahwa pada kelompok kontrol terjadi penurunan nilai pH, yaitu dari 6,3 menjadi 5,0. Sedangkan pada kelompok yang diberi ekstrak biji pinang terjadi peningkatan nilai pH, masing-masing yaitu ekstrak biji pinang 100% dari pH 4,3 menjadi 5,3, ekstrak biji pinang 50% dari pH 4,6 menjadi 5,7, serta ekstrak biji pinang 25% dari pH 5,1 menjadi 5,9.



Gambar 4.3 Diagram batang rata-rata pelepasan kalsium pada proses demineralisasi gigi yang distimulasi *S. mutans* setiap kelompok percobaan setelah inkubasi 2x24 jam

Pengukuran pelepasan kalsium dilakukan setelah 2x24 jam proses perendaman gigi. Sebelum dilakukan pengukuran, potongan gigi pada masing-masing tabung perendaman diambil terlebih dahulu. Dari data pada tabel 4.1, dapat dibuat sebuah diagram yang menggambarkan rata-rata jumlah pelepasan kalsium pada setiap kelompok. Pada gambar 4.3 dapat diketahui bahwa rata-rata jumlah pelepasan kalsium paling tinggi ditunjukkan pada kelompok kontrol yaitu sebesar 36,14. Sedangkan rata-rata jumlah pelepasan kalsium paling rendah terjadi pada kelompok yang diberi ekstrak biji pinang 25%, yaitu sebesar 7,29.

4.2 Analisis Data

a. Uji Normalitas Menggunakan Uji *Kolmogorov Smirnov*

Data hasil pelepasan kalsium yang telah diperoleh dari tiap-tiap kelompok, dilakukan uji normalitas terlebih dahulu. Uji *kolmogorov smirnov* dilakukan untuk

menentukan apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak. Dengan asumsi bahwa suatu data dikatakan normal apabila Sig (p) lebih besar dari 0.05. Dari uji normalitas didapatkan hasil Sig (p) lebih besar dari 0.05. Jadi dapat dikatakan bahwa data tersebut berdistribusi normal.

b. Hasil Analisis *One Way Anova*

Analisis *One Way Anova* dilakukan untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang signifikan antara keempat kelompok. Berdasarkan hasil analisis *Anova*, diketahui bahwa nilai signifikansi $p < 0.05$, sehingga dapat diartikan bahwa terdapat perbedaan jumlah pelepasan kalsium yang signifikan pada keempat kelompok penelitian.

c. Hasil Uji *Least Significant Difference (LSD)*

Uji LSD dilakukan untuk membandingkan hasil perhitungan pelepasan kalsium pada tiap kelompok. Hasil uji LSD dapat dilihat pada tabel 4.2 dan 4.3.

Tabel 4.2 Perbandingan Pelepasan Kalsium Kelompok Kontrol dengan Kelompok Perlakuan (Ekstrak Biji Pinang)

Kelompok	Pelepasan kalsium ($\bar{x} \pm SD$)		
Kontrol (akuades)	36,34 ± 8,5	36,34 ± 8,5	36,34 ± 8,5
Ekstrak 100%	20,57 ± 0,81	-	-
Ekstrak 50%	-	14,71 ± 2,21	-
Ekstrak 25%	-	-	7,29 ± 1,27
	p=0.000*	p=0.000*	p=0.000*

Ket * : berbeda bermakna $p < 0.05$

Dari tabel 4.2 dapat dilihat bahwa antara kelompok kontrol dengan kelompok yang diberi ekstrak biji pinang 100%, 50%, dan 25% masing-masing memiliki nilai $p < 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan yang diberi ekstrak biji pinang.

Tabel 4.3 Perbandingan Pelepasan Kalsium pada Kelompok Perlakuan (Pemberian Ekstrak Biji Pinang)

Kelompok	Pelepasan kalsium ($\bar{x} \pm SD$)		
Ekstrak 100%	20,57 \pm 0,81	20,57 \pm 0,81	-
Ekstrak 50%	14,71 \pm 2,21	-	14,71 \pm 2,21
Ekstrak 25%	-	7,29 \pm 1,27	7,29 \pm 1,27
	p=0.087	p=0.001*	p=0.036*

Dari tabel 4.3 dapat dilihat bahwa diantara kelompok-kelompok yang diberi ekstrak biji pinang, kelompok yang memiliki perbedaan signifikan ($p < 0,05$) adalah kelompok ekstrak biji pinang 100% dengan kelompok ekstrak biji pinang 25%, serta kelompok ekstrak biji pinang 50% dengan kelompok ekstrak biji pinang 25%. Sedangkan kelompok ekstrak biji pinang 100% dengan kelompok ekstrak biji pinang 50% memiliki nilai signifikansi $p > 0,05$, artinya bahwa antara kedua kelompok tersebut tidak terdapat perbedaan yang signifikan.

4.3 Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui inhibisi ekstrak biji pinang dengan konsentrasi 100%, 50%, dan 25% terhadap pelepasan kalsium pada proses demineralisasi gigi yang distimulasi *S. mutans*. Selain itu juga untuk menentukan konsentrasi pemberian ekstrak biji pinang yang efektif dalam menghambat pelepasan kalsium pada proses demineralisasi gigi.

Dari hasil yang telah didapat, yang pertama dapat dibandingkan nilai pH dan jumlah pelepasan kalsium antara kelompok kontrol yang hanya diberi akuades steril dengan kelompok yang diberi ekstrak biji pinang konsentrasi 100%, 50%, dan 25%. Kelompok kontrol dan kelompok yang diberi ekstrak biji pinang memiliki perbedaan nilai pH dan jumlah pelepasan kalsium. Dari hasil pengukuran pH yang dilakukan, dapat dilihat bahwa kelompok kontrol mengalami penurunan nilai pH dari jam ke-0 hingga 2x24 jam proses perendaman gigi. Sedangkan kelompok perlakuan yang diberi ekstrak biji pinang mengalami peningkatan nilai pH dari jam ke-0 hingga 2x24

jam proses perendaman gigi. Pada kelompok kontrol, penurunan pH yang terjadi disebabkan karena tidak ada yang menghambat kegiatan metabolisme dari *S. mutans*. Aktivitas metabolisme dari *S. mutans* menghasilkan asam laktat selama proses perendaman gigi berlangsung. Sesuai dengan penelitian yang telah ada bahwa *S. mutans* bersifat asidogenik yaitu menghasilkan asam (Todar, 2006). Hasil dari metabolisme ini menurunkan nilai pH, sehingga pada kelompok kontrol yang hanya diberi akuades saja terjadi penurunan nilai pH selama proses perendaman berlangsung. Sedangkan pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak biji pinang, nilai pH mengalami peningkatan dari jam ke-0 sampai 2x24 jam proses perendaman gigi, dikarenakan aktivitas metabolisme *S. mutans* yang dihambat oleh ekstrak biji pinang yang memiliki daya antibakteri.

Dari hasil uji antibakteri yang dilakukan (lampiran D), dapat dilihat pertumbuhan bakteri terbesar terjadi pada kelompok kontrol. Kepadatan pertumbuhan bakteri pada masing-masing lempeng agar tampak berbeda. Pada kelompok kontrol, pertumbuhan bakterinya lebih padat jika dibandingkan dengan kelompok yang diberi ekstrak biji pinang. Sedangkan pertumbuhan bakteri paling sedikit tampak pada lempeng agar dari kelompok yang diberi ekstrak biji pinang 100%. Hal ini sesuai dengan penelitian terdahulu yang menyebutkan bahwa biji buah pinang mengandung proantosianidin, yaitu suatu tannin terkondensasi yang termasuk dalam golongan flavonoid Nonaka (1989). Proantosianidin mempunyai efek antibakteri (Fine, 2000).

Pengukuran pelepasan kalsium pada masing-masing sampel dilakukan dengan menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom (*Atomic Absorbtion Spectrophotometri*, AAS). Dari data yang diperoleh, apabila dibandingkan antara kelompok kontrol dan kelompok yang diberi ekstrak biji pinang, maka dapat diketahui bahwa jumlah rata-rata pelepasan kalsium yang terbesar terjadi pada kelompok kontrol, yaitu sebesar 36,14 ppm. Hal ini disebabkan pada kelompok kontrol tidak ada yang menghambat aktivitas metabolisme *S. mutans* sehingga asam yang dihasilkan semakin banyak dan menyebabkan penurunan pH. Dimana pH yang rendah akan memicu terlepasnya ion kalsium pada gigi.

Kedua, dari hasil yang telah ada dapat dibandingkan nilai pH dan pelepasan kalsium antara kelompok yang diberi ekstrak biji pinang 100%, 50%, dan 25%. Kelompok yang diberi ekstrak biji pinang masing-masing mengalami peningkatan nilai pH. Akan tetapi berdasarkan data hasil pengukuran pH yang didapat, diketahui bahwa kelompok yang diberi ekstrak biji pinang 100% memiliki nilai pH yang paling rendah atau paling asam jika dibandingkan dengan kelompok yang diberi ekstrak biji pinang 50% dan 25%, disebabkan karena ekstrak biji pinang sendiri bersifat asam. Hal ini diketahui dari hasil pengukuran pH yang dilakukan pada ekstrak biji pinang sebelum diberikan pada kelompok perlakuan, didapatkan nilai pH sebesar 5,3. Dari data yang telah didapat, pH pada kelompok ekstrak biji pinang 25% paling tinggi atau paling basa jika dibandingkan dengan kelompok yang diberi ekstrak biji pinang dengan konsentrasi lainnya.

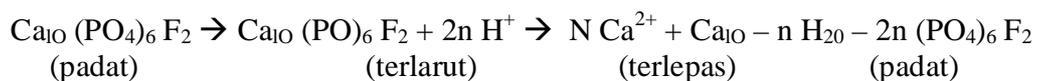
Apabila dibandingkan pelepasan kalsium yang terjadi antara kelompok yang diberi ekstrak biji pinang 100%, 50%, dan 25%, dapat diketahui bahwa pelepasan kalsium paling besar terjadi pada kelompok dengan ekstrak biji pinang 100%. Hal ini disebabkan karena pengaruh dari sifat asam ekstrak biji pinang itu sendiri, sehingga pH yang dihasilkan lebih rendah atau asam jika dibandingkan dengan kelompok yang diberi ekstrak biji pinang lainnya. Seperti yang disebutkan sebelumnya, pH yang rendah ikut memicu terlepasnya kalsium gigi. Sehingga pelepasan kalsium yang terjadi pada kelompok dengan ekstrak biji pinang 100%, lebih besar jika dibandingkan dengan ekstrak biji pinang 50% dan 25%. Sedangkan nilai pelepasan kalsium yang paling kecil terjadi pada kelompok dengan konsentrasi ekstrak 25%. Selain karena daya antibakterinya, pada kelompok dengan ekstrak biji pinang 25% pH nya tidak terlalu asam.

Dibutuhkan waktu minimum tertentu bagi plak dan karbohidrat yang menempel pada gigi untuk membentuk asam dan mampu mengakibatkan demineralisasi gigi. Karbohidrat menyediakan substrat untuk pembuatan asam bagi bakteri dan sintesa polisakarida ekstra sel. Karbohidrat dengan berat molekul rendah seperti gula dimetabolisme dengan cepat oleh bakteri (Kidd dan Bechal, 1991).

Asam-asam hasil metabolisme *S. mutans* mampu menurunkan pH. Pada penelitian ini, proses perendaman gigi dilakukan selama 2x24 jam karena sesuai dengan hasil trial yang dilakukan, dimana penurunan pH hingga mencapai dibawah 5,5 terjadi setelah proses perendaman gigi selama 2x24 jam (Lampiran B). Berdasarkan studi pustaka yang ada, demineralisasi dapat terjadi pada lingkungan di bawah pH 5,5 (Siregar, dalam Apolnaria, 2004).

Enamel sebagian besar terdiri dari hidroksiapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) atau Fluoroapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$), kedua unsur tersebut dalam suasana asam akan larut menjadi Ca^{2+} ; PO_4^{-9} dan F^- , OH^- . Ion H^+ akan beraksi dengan gugus PO_4^{-9} , F^- , atau OH^- membentuk HSO_4^- ; H_2SO_4^- HF atau H_2O , sedangkan yang kompleks terbentuk CaHSO_4 ; CaPO_4 dan CaHPO_4 . Kecepatan melarutnya enamel dipengaruhi oleh derajat keasaman (pH), konsentrasi asam, waktu melarut dan kehadiran ion sejenis kalsium, dan fosfat (Prasetyo, 2005). Reaksi kimia pelepasan ion kalsium dari enamel gigi dalam medium yang bersifat asam, yaitu pada pH 4,5 sampai 6 merupakan reaksi orde nol. Adapun pengaruh pH terhadap koefisien laju reaksi menunjukkan, bahwa semakin kecil atau semakin asam media, maka makin tinggi laju reaksi pelepasan ion kalsium dari enamel gigi (Prasetyo, 2005).

Reaksi kimia pelepasan ion kalsium dari enamel gigi dalam suasana asam ditunjukkan dengan persamaan reaksi sebagai berikut:



Pada penelitian yang terdahulu, disebutkan bahwa tanin dan alkaloid adalah komponen penting dari pinang (Rumokoy, dalam Barlina, 2007). Analisis pinang di Philipina menyatakan bahwa buah pinang mengandung senyawa bioaktif yaitu tannin yang dapat menguatkan gigi (Bartholomew dan Bartholomew, 2001). Tannin merupakan polifenol yang larut dalam air. Beberapa penelitian ilmiah menyatakan bahwa mekanisme tannin sebagai antibakteri antara lain menghambat enzim ekstraseluler *S. mutans*, mengambil alih substrat yang dibutuhkan pada pertumbuhan *S. mutans*, atau bekerja langsung pada metabolisme *S. mutans* dengan cara

menghambat fosforilasi oksidasi (Scalbert, 2010). Diasumsikan bahwa adanya sifat antibakteri inilah yang menyebabkan pelepasan kalsium pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak biji pinang lebih kecil dibandingkan dengan kelompok kontrol. Dengan adanya daya antibakteri biji pinang, metabolisme *S. mutans* dihambat sehingga produksi asam direduksi dan terjadi peningkatan pH.

Pengaplikasian biji pinang sehari-hari oleh masyarakat terutama untuk menjaga kesehatan gigi dan mulut, yaitu digunakan bersamaan dengan sirih dan kapur, serta air rebusan biji pinang digunakan sebagai obat kumur (Bartholomew dan Bartholomew, 2001). Dari pengaplikasian biji pinang ini perlu dilakukan penelitian lebih lanjut agar diketahui apakah pada pengaplikasiannya diperlukan bahan tambahan untuk menetralkan sifat asam dari biji pinang.

Penelitian ini telah membuktikan bahwa inhibisi ekstrak biji pinang menghambat pelepasan kalsium pada proses demineralisasi gigi yang distimulasi *S. mutans*. Adapun konsentrasi ekstrak biji pinang yang paling efektif digunakan yaitu konsentrasi 25%, karena pelepasan kalsium yang terjadi paling rendah. Selain disebabkan karena daya antibakteri yang dimiliki ekstrak biji pinang, hal ini juga disebabkan karena pH yang dihasilkan dengan pemberian ekstrak biji pinang 25% tidak terlalu asam jika dibandingkan dengan pemberian ekstrak biji pinang 50% dan ekstrak biji pinang 100%.

...

...

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Inhibisi ekstrak biji pinang menghambat pelepasan ion kalsium pada proses demineralisasi gigi yang distimulasi *Streptococcus mutans*.
2. Konsentrasi ekstrak biji pinang yang efektif dalam menghambat pelepasan ion kalsium pada proses demineralisasi gigi yang distimulasi *S. mutans* adalah konsentrasi 25%.

5.2. Saran

1. Ekstrak biji pinang bersifat asam sehingga perlu diperhatikan konsentrasi yang efektif dalam menghambat demineralisasi.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai bahan-bahan lain yang perlu ditambahkan dalam penggunaan biji pinang guna menetralkan pH asam dari biji pinang.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai komponen utama biji pinang yang berpengaruh dalam menghambat proses pelepasan ion kalsium.

DAFTAR PUSTAKA

- Almatsier, S. 2003. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Anonim. 2008. Tooth Enamel Demineralization. [serial on line]. <http://www.toothiq.com>. [26 Desember 2010]
- Anonim. 2010. Demineralization and Remineralization. [serial on line]. <http://mizar5.com/restore.html>. [26 Desember 2010]
- Anonim. 2011a. AA Spectrophotometer. [serial on line]. <http://www.labnics.com> [14 September 2011]
- Anonim. 2011. Karbohidrat. [serial on line]. <http://wanenoor.blogspot.com/2011/06/pengertian-karbohidratklasifikasi.html> [1 Januari 2012]
- Apolnaria, T. N. 2004. “Pengaruh Minuman Berkarbonasi terhadap Kelarutan Kalsium Email Gigi Permanen (Studi In-Vitro)”. Tidak Diterbitkan. Skripsi. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Asra, I. K. 2007. Mass Media Competition Gerakan Nasional Senyum Indonesia Senyum Pepsodent. [serial on line]. <http://infolomba.wordpress.com>. [29 November 2008].
- Balitrolitbang. 2007. Pinang. [serial on line]. http://balitro.litbang.deptan.go.id/index.php?option=com_content&task=view&id=76&itemid=38. [29 Maret 2008].
- Bartholomew, A. and M. Bartholomew. 2001. Kombucha Tea Therapy. [serial on line]. [Http://www.positivehealth.com/permit/Article/Nutrition/Kombucha.html](http://www.positivehealth.com/permit/Article/Nutrition/Kombucha.html) [10 Mei 2011].
- Barlina, R. 2007. Peluang Pemanfaatan Buah Pinang untuk Pangan. *Buletin Palma*, No. 33: 96-105.
- Bintang, Maria. 1999. Pengaruh Asam Asetat Terhadap Erosi Gigi. *BKI99* Vol. 14 (2): 52-61.

- Brooks, G. F., Butel, J. S. and Morse, S. A. 2001. *Jawetz, Melnick & Adelbergh's: Mikrobiologi Kedokteran*. Buku I. Edisi 22. Alih Bahasa oleh Bagian Mikrobiologi. Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya: Salemba Medika.
- Daniel, W. 2005. *Biostatistic A Foundation For Analysis in the Health Science*. Eight Edition. Georgia: Willey.
- Depkes RI. 1989. *Materia Medika Indonesia*. Jilid V. p. 55-58.
- Fine, A.M. 2000. Oligomeric Proanthocyanidin Complexes: History, Structure, and Phytopharmaceutical Applications. *Altern Med Rev*, 5(2):144-151.
- Guyton dan Hall. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Jakarta: EGC
- Hahlbrock K. 1981. Flavonoids. Dalam *The Biochemistry of Plants, Vol. 7:425-456 Secondary Plant Products*. New York: Academic Press.
- Harborne, J. B. 1996. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Terjemahan oleh K. Padmawinata dan I. Soediro. Bandung: ITB
- Herniyati dkk. 2008. *Diktat Kuliah Histologi*. Jember: FKG Universitas Jember
- Kidd, E. A. M dan Bechal, S. J. 1991. *Dasar-Dasar Karies, Penyakit dan Penanggulangannya*. Cetakan 1. Alih Bahasa oleh Lilian Yuwono dan Safrida Faruk. Jakarta: EGC
- Koswara, S. 2009. *Makanan Bergula dan Kerusakan Gigi*. [serial on line] <http://www.ebookpangan.com> [26 Desember 2010]
- Kurniawati, D. 2001. "Pengaruh Minyak Cengkeh (*Eugenia caryophyllus*) terhadap Kelarutan Kalisum pada Enamel dan Dentin Gigi". Tidak Diterbitkan. Skripsi. Jember: FKG UNEJ.
- McIntyre, J. M. 2005. *Dental Caries-The Major of Tooth Damages*. Queensland: Knowledges and Software.
- Najib, Ahmad. 2009. Tanin. [serial on line]. <http://www.nadjeeb.wordpress.com>. [18 November 2011].
- Ningsih, I. Y. 2009. *Buku Petunjuk Praktikum Fitokimia*. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember.

- Nonaka, G. 1989. Isolation and structure elucidation of tannins, *Pure & Appl. Chem*, 61 (3): 357-360.
- Notoatmodjo, S. 2005. *Metodologi Penelitian Kesehatan. Cetakan III*. Jakarta: PT. Rineka Cipta.
- Nugraha, A. W. 2007. *Streptococcus mutans, Plak Dimana-mana*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta.
- Ophardt, C. 2003. Sucrose. [serial on line]. <http://www.elmhurst.edu> [22 September 2011]
- Pratama, M. R. 2005. “Pengaruh Ekstrak Serbuk Kayu Siwak (*Salvadora persica*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus* dengan Metode Difusi Agar”. Tidak Diterbitkan. Skripsi. Surabaya: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Teknologi Surabaya.
- Pratiwi, I. 2009. “Uji Antibakteri Ekstrak Kasar Daun *Acalypha indica* terhadap Bakteri *Salmonella choleraesuis* dan *Salmonella typhimurium*”. Tidak Diterbitkan. Skripsi. Surakarta: Jurusan Biologi FMIPA UNS.
- Prasetyo, E. A. 2005. Keasaman Minuman Ringan Menurunkan Kekerasan Permukaan Gigi. *Dental Journal Vol 38 (2)*: 60-63.
- Prijatmoko, D. 1997. *Ilmu Gizi: Mineral Utama*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi UNEJ.
- Purwanto. 2009. “*Streptococcus mutans* dan Monosit pada Degradasi Kolagen Tipe IV dan Agregasi Kolagen-Platelet”. Tidak Diterbitkan. Desertasi. Malang: Program Pascasarjana Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
- Rimawati, H. 2009. Pencegahan Penyakit Gigi. [serial on line]. <http://www.suaramuhammadiyah.com> [4 Februari 2010].
- Riyanto. 2009. *Spektrofotometer Serapan Atom*. Jakarta : Lab Terpadu Universitas Islam Indonesia.
- Scalbert. 2010. Antimicrobial Properties of Tannins. [serial on line]. <http://grande.nal.usda.gov/ibids/index.php> [23 Februari 2011].

- Suwondo, S. 2007. Skrining Tumbuhan Obat yang Mempunyai Aktivitas Antibakteri Penyebab Karies Gigi dan Pembentuk Plak. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, Vol. 6(2): 66-72.
- Syamsuhidayat, S.S., Hutapea, J.R. 1991. Inventaris Tanaman Obat Indonesia. *Balibang Departemen Kesehatan*, Vol I: 64-65
- Tarigan, R. 1993. *Karies Gigi*. Lilian Yuwono (Ed). Jakarta: Hipokrates.
- Todar, K. 2008. *The Normal Bacterial Flora of Humans*. University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology.
- Universitas Jember. 2011. *Pedoman Penulisan Karya Tulis Ilmiah*. Jember: UPT Penerbit UNEJ.
- Wang, C.K., and Lee, W.H. 1996. Separation, Characteristics, and Biological Activities of Phenolics in Areca Fruit. *J. Agric. Food Chem.*, 44(8):2014-2019.
- Weatherell, J. A. 1975. Composition Of Dental Enamel. *Br. Medical Bulletin* Vol. 31 (2). Leeds: hal 115-119.
- Wikipedia. 2011. *Streptococcus mutans*. [serial on line]. <http://en.wikipedia.org/wiki/streptococcus>. [1 Januari 2011]
- Wilson, D. K. dkk. 1979. *Principle of Nutrition*. New Yorks: John Wiley and Sons inc.
- Yulineri dkk. 2006. Selenium dari Ekstrak Biji dan Akar Pinang (*Areca Catechu L.*) yang Difermentasi dengan Konsorsium *Acetobacter-Saccharomyces* sebagai Antiseptik Obat Kumur. *Biodiversitas*, Vol 7: 18-20.

LAMPIRAN

Lampiran A. Perhitungan Jumlah Sampel

Jumlah sampel dihitung dengan menggunakan rumus :

$$n = \frac{z^2 \sigma^2}{d^2}$$

n = besar sampel tiap kelompok

z = nilai pada tingkat kesalahan tertentu, jika Z = 1,96 jika $\alpha = 0,05$

σ = standar deviasi sampel (0,05)

d = kesalahan yang masih dapat ditoleransi (5%)

Perhitungannya adalah sebagai berikut:

$$n = \frac{z^2 \sigma^2}{d^2},$$

$$n = \frac{(1,96)^2 \sigma^2}{d^2}$$

$$= (1,96)^2$$

$$= 3,84$$

$$= 4$$

(Daniel, 2005)

Lampiran B. Tabulasi data

1. Hasil Trial

No	Standart <i>Mc Farland</i> Absorbansi Bakteri	Jumlah Sukrosa (gr)	Hari ke-	pH
1.	0,5	1 gr	2	5,7
2.	0,5	2 gr	2	5,1
3.	0,5	3 gr	2	5,0
4.	1	1 gr	2	5,4
5.	1	2 gr	2	5,6
6.	1	3 gr	2	4,6

2. Hasil pengukuran pelepasan kalsium

No	Kontrol (ppm)	P1 (ppm)	P2 (ppm)	P3 (ppm)
1	45.71	19.43	16.00	8.57
2	32.57	21.14	13.14	8.00
3	40.00	21.14	17.14	5.71
4	26.29	20.57	12.57	6.86
Rata-rata	36.14	20.57	14.71	7.29

3. Hasil pengukuran pH

a. Kelompok kontrol

Sampel	Kontrol		
	Hari ke-1	Hari ke-2	Hari ke-3
1	6,6	5,1	4,8
2	6,2	4,8	5,0
3	6,2	4,8	5,0
4	6,2	4,8	5,2
Rata-rata	6,3	5,1	5,0

b. Kelompok perlakuan 1 (ekstrak 100%)

Sampel	Ekstrak biji pinang 100%		
	Hari ke-1	Hari ke-2	Hari ke-3
1	4,3	5,0	5,3
2	4,2	5,0	5,3
3	4,3	5,0	5,3
4	4,2	5,0	5,3
Rata-rata	4,3	5,0	5,3

c. Kelompok perlakuan 2 (ekstrak 50%)

Sampel	Ekstrak biji pinang 50%		
	Hari ke-1	Hari ke-2	Hari ke-3
1	4,5	5,4	5,7
2	4,6	5,4	5,7
3	4,6	5,4	5,8
4	4,6	5,3	5,7
Rata-rata	4,6	5,4	5,7

d. Kelompok perlakuan 3 (ekstrak 25%)

Sampel	Ekstrak biji pinang 25%		
	Hari ke-1	Hari ke-2	Hari ke-3
1	5,0	5,8	5,7
2	5,0	5,8	5,8
3	5,0	5,8	6,2
4	5,2	5,8	5,8
Rata-rata	5,1	5,8	5,9

Lampiran C. Uji Statistik

1. Par Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Pelepasan Ion
N		16
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	19,6786
	Std. Deviation	11,65671
Most Extreme Differences	Absolute	,200
	Positive	,200
	Negative	-,115
Kolmogorov-Smirnov Z		,800
Asymp. Sig. (2-tailed)		,544

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

2. Oneway

ANOVA

Pelepasan Ion					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1800,388	3	600,129	30,285	,000
Within Groups	237,796	12	19,816		
Total	2038,184	15			

3. Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Pelepasan Ion

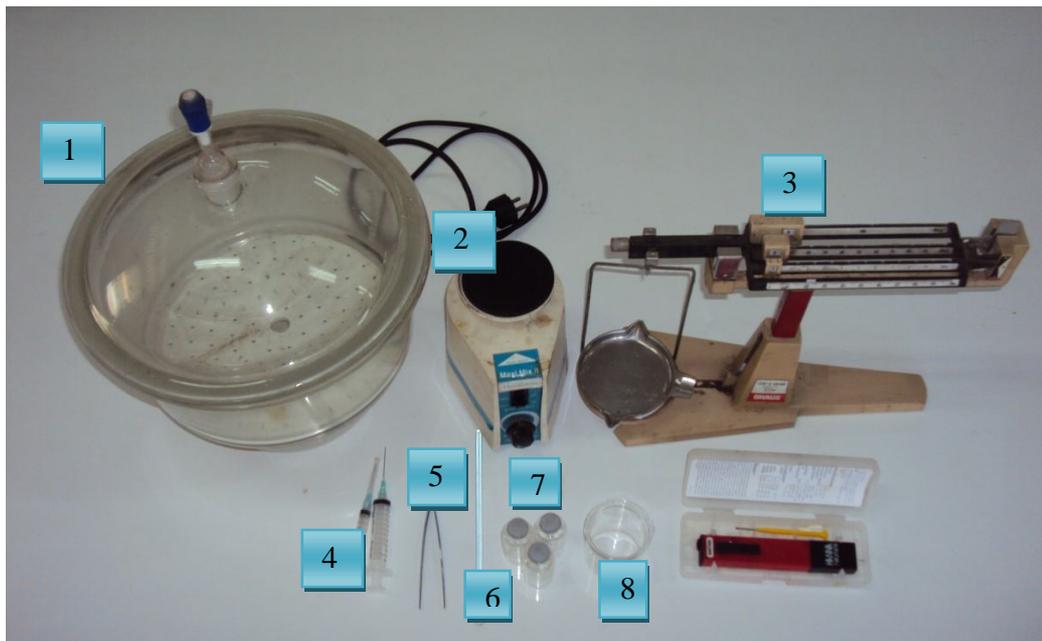
	(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	Kontrol	Perlakuan 1	15,57143*	3,14772	,000	8,7131	22,4297
		Perlakuan 2	21,42857*	3,14772	,000	14,5703	28,2869
		Perlakuan 3	28,85714*	3,14772	,000	21,9988	35,7154
	Perlakuan 1	Kontrol	-15,57143*	3,14772	,000	-22,4297	-8,7131
		Perlakuan 2	5,85714	3,14772	,087	-1,0012	12,7154
		Perlakuan 3	13,28571*	3,14772	,001	6,4274	20,1440
	Perlakuan 2	Kontrol	-21,42857*	3,14772	,000	-28,2869	-14,5703
		Perlakuan 1	-5,85714	3,14772	,087	-12,7154	1,0012
		Perlakuan 3	7,42857*	3,14772	,036	,5703	14,2869
	Perlakuan 3	Kontrol	-28,85714*	3,14772	,000	-35,7154	-21,9988
		Perlakuan 1	-13,28571*	3,14772	,001	-20,1440	-6,4274
		Perlakuan 2	-7,42857*	3,14772	,036	-14,2869	-,5703

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran D. Foto Penelitian

D.1 Alat Penelitian

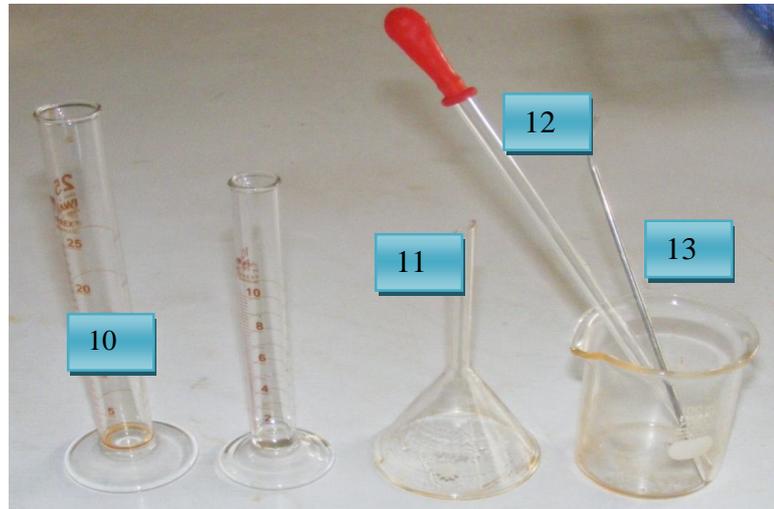
a. Alat-alat untuk Subkultur *Streptococcus mutans*



Keterangan :

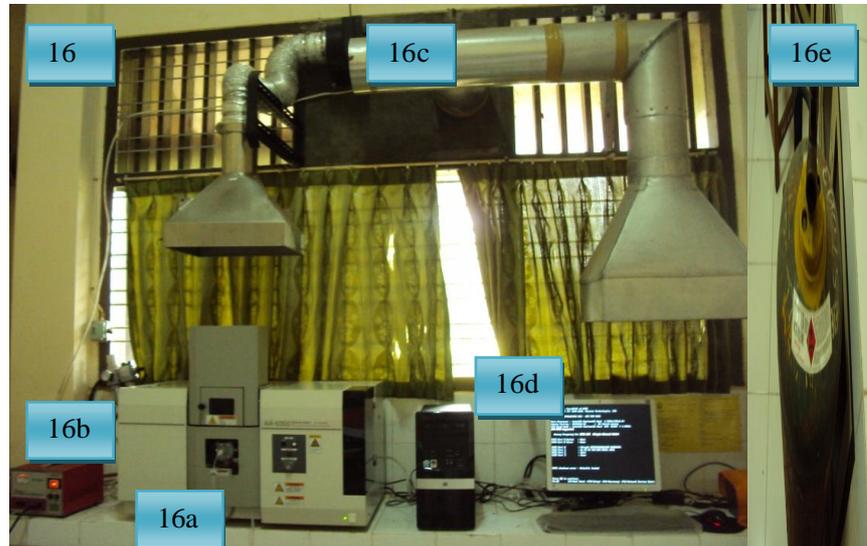
1. Desikator
2. *Thermolyne*
3. Timbangan
4. *Syringe*
5. Pinset
6. Spatula kaca
7. Botol vial
8. *Beaker glass*

b. Alat untuk Pembuatan Ekstrak Biji Pinang (*Areca Catechu L.*)



Keterangan :

- 10. Tabung ukur
- 11. Corong
- 12. Pipet
- 13. Spatula kaca
- 14. Timbangan Elektrik
- 15. *Rotary evaporator*



Keterangan :

16. Spektrofotometer Serapan Atom

16 a. Pipa kapiler

16 b. *Power*

16 c. *Blower*

16 d. Perangkat computer

16 e. Tabung gas

D.2 Bahan Penelitian



Keterangan :

1. Potongan elemen gigi P-1 rahang atas
2. Larutan garam fisiologis (PZ) (PT. Widatra Bhakti)
3. Sukrosa
4. Aquadest steril (PT. Aditama Farmino, Surabaya)
5. Ekstrak biji pinang (*Areca catechu L*) konsentrasi 100%, 50%, dan 25%.

D.3 Perlakuan Penelitian



Proses Pembuatan Suspensi *Streptococcus mutans*



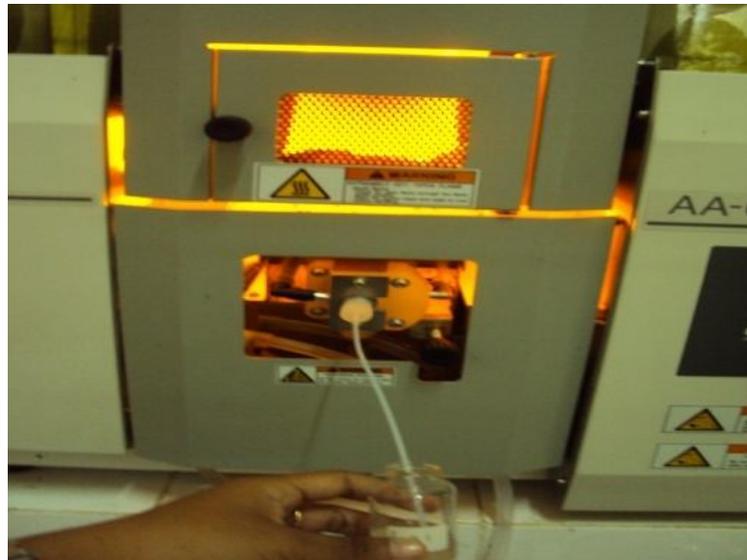
Proses Pembuatan Ekstrak Biji Pinang (*Areca catechu L*)



Suspensi Bakteri *Streptococcus mutans* dan Ekstrak Biji Pinang (*Areca catechu* L.)
dalam *Laminar Flow*



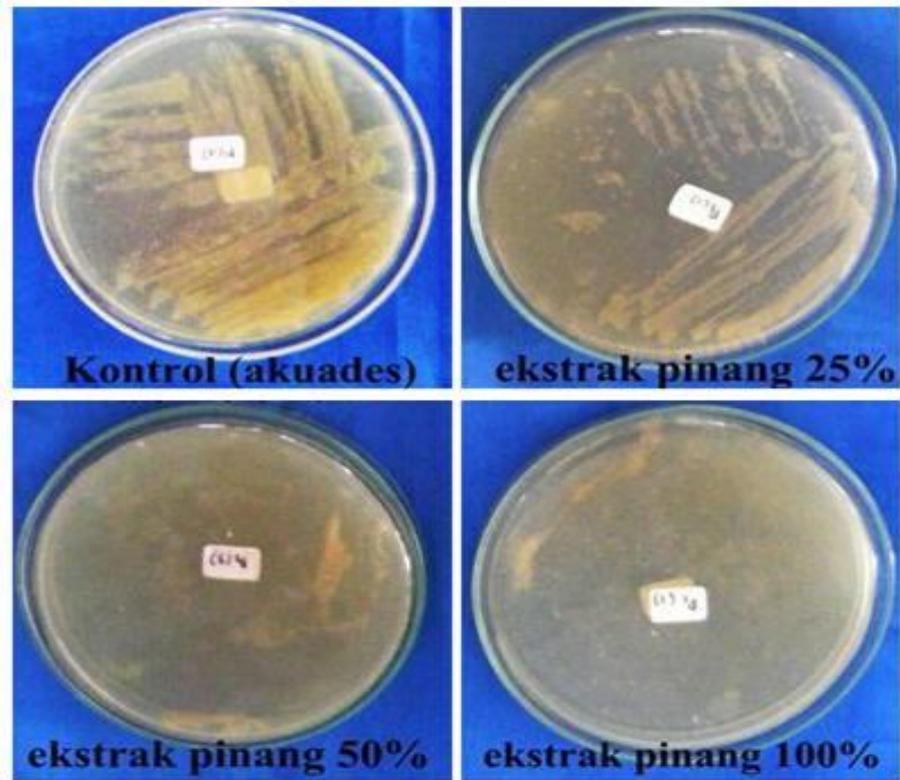
Proses Perendaman Elemen Gigi Dalam Desikator



Pengukuran Kadar Ion Kalsium (Ca) dengan AAS



Pengukuran pH dengan pH meter



Pembiakan Hasil Uji Antibakteri pada Media BHI-A