

Viabilitas Neutrofil yang Diinkubasi Ekstrak Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dan Dipapar dengan *Streptococcus mutans*  
*Viability of Neutrophil Incubated Temulawak (Curcuma xanthorrhiza) Rhizome Extract and Exposed by Streptococcus mutans*

Ika Wahyu Purnamasari<sup>1</sup>, Pudji Astuti<sup>2</sup>, Tantin Ermawati<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember

<sup>2,3</sup>Bagian Biomedik, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Jl. Kalimantan 37, Jember 68121

e-mail: iwccassie@gmail.com

**Abstract**

*Streptococcus mutans* is bacteria that has important role in caries. When caries lesion is developed, it may invade to deeper tissues such as dental pulp and initiate cellular defenses such as neutrophil. Neutrophil is type of leukocytes that has important role in process known as phagocytosis. If neutrophil fails in phagocytosis, neutrophil will be lysis and cause viability of neutrophil unprotected. Temulawak rhizome extract is predicted to increase viability of neutrophil because it contains curcuminoids, volatile oil, saponin, flavonoid, and tannin. The aim of this research was to determine the viability of neutrophil exposed by *S. mutans* and incubated by temulawak rhizomes extract 2,5 %, 5 %, 7,5 %, 10 %, and 20 %. 24 samples were divided into 6 groups, consisted of negative control, temulawak rhizome extract 2,5 %, 5 %, 7,5 %, 10%, and 20%. The viability of neutrophil was observed under an inverted microscope used trypan blue staining. The conclusion of this study was temulawak rhizome extract 2,5 %, 5 %, 7,5 %, and 10 % could increase viability of neutrophil that exposed by *S. mutans*. Temulawak rhizome extract 5% has the effective concentration to increase viability of neutrophil.

**Keywords:** neutrophil, *Streptococcus mutans*, temulawak rhizomes extract, viability

**Abstrak**

*Streptococcus mutans* merupakan bakteri yang mempunyai peranan penting dalam proses terjadinya karies. Ketika lesi karies berkembang, *S. mutans* dapat mengadakan invasi ke jaringan gigi yang lebih dalam (pulpa) dan terjadinya respon pertahanan seluler seperti neutrofil. Neutrofil merupakan sel darah putih yang berperan terhadap proses fagositosis. Apabila neutrofil mengalami kegagalan dalam fagositosis, neutrofil dapat lisis sehingga viabilitas neutrofil tidak dapat dipertahankan. Ekstrak rimpang temulawak diduga dapat meningkatkan viabilitas neutrofil yang dipapar *S. mutans* karena mempunyai kandungan kurkuminoid, minyak atsiri, saponin, flavonoid, dan tanin. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui viabilitas neutrofil yang dipapar *S. mutans* dan diinkubasi dengan ekstrak rimpang temulawak konsentrasi 2,5 %, 5 %, 7,5 %, 10 %, dan 20 %. Sampel berjumlah 24 yang terbagi menjadi 6 kelompok yaitu kelompok kontrol, kelompok dengan ekstrak rimpang temulawak konsentrasi 2,5 %, 5 %, 7,5 %, 10 %, dan 20 %. Viabilitas neutrofil diamati di bawah mikroskop *inverted* dengan pewarnaan *trypan blue*. Kesimpulan penelitian ini adalah ekstrak rimpang temulawak konsentrasi 2,5 %, 5 %, 7,5 %, 10 % dapat meningkatkan viabilitas neutrofil yang dipapar *S. mutans*. Konsentrasi paling efektif dalam meningkatkan viabilitas neutrofil adalah ekstrak rimpang temulawak 5 %.

**Kata kunci:** ekstrak rimpang temulawak, neutrofil, *Streptococcus mutans*, viabilitas

## Pendahuluan

Obat tradisional atau yang biasa disebut jamu telah diakui keberadaannya sejak jaman dahulu baik di Indonesia maupun negara-negara lainnya dan sampai sekarang tetap dimanfaatkan dan bahkan cenderung meningkat [1]. Salah satu tanaman yang sering digunakan dalam pengobatan tradisional adalah temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*).

Rimpang *C. xanthorrhiza* merupakan salah satu bahan ramuan obat tradisional yang penting di berbagai daerah di Indonesia. Rimpang temulawak memberikan pengaruh positif terhadap sistem pencernaan, kantong empedu, dan hati [2,3].

Rimpang temulawak mengandung kurkuminoid, minyak atsiri, saponin, flavonoid dan tanin [4]. Kurkuminoid pada temulawak terdiri dari tiga senyawa fenolik yaitu kurkumin, demetoksikurkumin dan bisdemetoksikurkumin. Keberadaan ketiga senyawa fenolik tersebut menyebabkan aktivitas antioksidan yang kuat pada sistem biologis [5]. Minyak atsiri temulawak terdiri dari felandren, kamfer, borneol, xanthorrhizol, dan sineal [3]. Xanthorrhizol merupakan komponen minyak atsiri temulawak yang tidak ditemukan pada *Curcuma* yang lain [6]. Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Rukayadi (2006) membuktikan bahwa isolasi *xanthorrhizol* dari ekstrak metanol temulawak dengan konsentrasi 50  $\mu\text{mol l}^{-1}$  mampu menghambat pertumbuhan biofilm *S. mutans* [7]. Mangunwardoyo et al., (2012) juga membuktikan bahwa isolasi *xanthorrhizol* dari ekstrak metanol temulawak konsentrasi 10 %, 20 %, 30 %, 40 % dan 50 % mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* [4].

*S. mutans* merupakan bakteri yang mempunyai peranan penting dalam proses terjadinya karies. Ketika lesi karies berkembang, bakteri dapat mengadakan invasi ke jaringan gigi yang lebih dalam seperti dentin, tubuli dentin dan pulpa. Bakteri dan toksin yang menembus tubuli dentin serta mencapai pulpa akan menyebabkan reaksi inflamasi [7].

Inflamasi atau peradangan merupakan reaksi jaringan tubuh terhadap invasi mikroorganisme patogen, trauma karena luka, terbakar, atau bahan kimia [8]. Salah satu jenis leukosit yang berperan pada respon seluler inflamasi adalah neutrofil.

Neutrofil bertugas membunuh bakteri dengan cara fagositosis. Pada proses fagositosis, neutrofil membunuh bakteri dengan enzim hidrolitik dan senyawa bakterisidal yaitu lisozim, protein pengikat besi laktoferin, leukin, dan fagositin serta protein kationik [9].

Proses fagositosis oleh neutrofil merupakan mekanisme yang efektif dalam membunuh bakteri, namun mekanisme tersebut dapat gagal [10]. Kegagalan fagositosis dapat menyebabkan sel neutrofil lisis dan menumpahkan enzim hidrolitik serta senyawa bakterisidal yang dapat menyebabkan kerusakan pada jaringan sekitar [11]. Lisisnya sel neutrofil mengarah pada viabilitas (kelangsungan hidup) neutrofil yang tidak terjaga.

Viabilitas neutrofil harus dipertahankan agar neutrofil mampu menjalankan fungsinya sebagai sel fagosit. Salah satu tanaman yang diduga dapat meningkatkan viabilitas sel neutrofil adalah rimpang temulawak. Rimpang temulawak mengandung berbagai bahan aktif yaitu kurkuminoid, minyak atsiri (*xanthorrhizol*), saponin, flavonoid, dan tanin [4]. Rimpang temulawak juga memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri dan antiinflamasi [12]. Berdasarkan uraian tersebut, maka dilakukan penelitian untuk mengetahui efek inkubasi ekstrak rimpang temulawak terhadap viabilitas neutrofil yang dipapar *S. mutans*.

## Metode Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian *in vitro*, dengan rancangan penelitian *post-test only control group design*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dan Laboratorium *Bioscience* Rumah Sakit Gigi dan Mulut Universitas Jember. Pelaksanaan penelitian dilakukan pada bulan Desember 2013 sampai Januari 2014.

Sampel pada penelitian ini diambil dari darah vena perifer laki-laki dewasa sehat, tidak mempunyai riwayat kelainan darah dan penyakit sistemik serta tidak memiliki kebiasaan merokok. Jumlah sampel yang digunakan yaitu 24 sampel yang terbagi dalam 6 kelompok perlakuan yaitu kelompok I atau kontrol (neutrofil + *S. mutans*), kelompok II (neutrofil + ekstrak rimpang temulawak 2,5 % + *S. mutans*), kelompok III (neutrofil + ekstrak rimpang temulawak 5 % + *S. mutans*), kelompok IV (neutrofil + ekstrak rimpang temulawak 7,5 % + *S. mutans*), kelompok V (neutrofil + ekstrak rimpang temulawak 10 % + *S. mutans*), dan kelompok VI (neutrofil + ekstrak rimpang temulawak 20 % + *S. mutans*). Penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahap yaitu pembuatan ekstrak rimpang temulawak, kultur *S. mutans*, isolasi neutrofil, uji viabilitas neutrofil dan penghitungan viabilitas neutrofil dengan pewarnaan *trypan blue*.

Pembuatan ekstrak rimpang temulawak menggunakan teknik remaserasi dengan etanol 70%. Rimpang temulawak segar dibersihkan dan dicuci

menggunakan air mengalir sampai semua tanah dan kotoran yang menempel hilang. Kemudian dipotong tipis-tipis dan dikeringkan dengan oven pada suhu 50° C selama 3-5 hari. Rimpang temulawak yang sudah kering digiling dengan blender dan diayak sampai menghasilkan bubuk halus, kemudian direndam dalam etanol 70 % selama 6 jam sambil sesekali diaduk, kemudian didiamkan sampai 18 jam untuk selanjutnya dilakukan penyaringan. Ulangi proses maserasi dua kali dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama. Maserat hasil penyaringan dikumpulkan menjadi satu dan diuapkan dengan evaporator sampai diperoleh ekstrak kental [12]. Pengenceran dengan akuades steril dilakukan pada ekstrak rimpang temulawak hingga didapatkan konsentrasi 2,5 %, 5 %, 7,5 %, 10 %, dan 20 %.

Pembuatan kultur *S. mutans* dilakukan dengan mengambil satu ose *S. mutans* dalam stok, kemudian dicampur dengan 2 ml BHI-B ke dalam tabung reaksi. Tabung reaksi dimasukkan ke dalam *desiccator* dan ditutup rapat. *Desiccator* dimasukkan ke dalam inkubator pada suhu 37° C selama 24 jam. Setelah 24 jam, dilakukan pengukuran tingkat kekeruhan pada suspensi *S. mutans* dalam tabung reaksi dengan menggunakan spektrofotometer hingga didapatkan kekeruhan 0,5 McFarland setara dengan  $1,5 \times 10^8$  CFU/ ml. Selanjutnya menambahkan aquades steril pada suspensi *S. mutans* dan diukur dengan densitochek hingga kekeruhan menjadi 0,3 McFarland.

Prosedur selanjutnya yaitu isolasi neutrofil. *Histopaque* 1199 sebanyak 3 cc dilapiskan pada tabung falcon, kemudian *ficoll* sebanyak 3 cc dilapiskan diatas lapisan *histopaque* 1119 tersebut. Darah yang sudah bercampur heparin sebanyak 6 cc dilapiskan diatas 2 lapisan tersebut. Kemudian dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 1900 rpm selama 30 menit pada suhu 25°C hingga didapatkan 6 lapisan, yaitu lapisan plasma, sel darah mononuklear, *ficoll*, granulosit (neutrofil) *histopaque* 1119, dan eritrosit. Mengambil 3 lapisan pertama dengan mikropipet kemudian mengambil lapisan granulosit (neutrofil) secara hati-hati. Menambahkan 1000 µl HBSS pada lapisan granulosit (neutrofil). Dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 1700 rpm selama 10 menit pada suhu 37° C. Kemudian mengambil supernatan (lapisan teratas) dari lapisan granulosit. HBSS sebanyak 2000 µl ditambahkan pada lapisan granulosit (neutrofil) dan dilakukan *pipetting*. Pengamatan populasi sel dibawah mikroskop *inverted* dengan perbesaran 400x. 10 µl *Fungizone Amphotericin B* dan 40 µl *Penicillin Streptomycin Solution Stabilised* ditambahkan pada suspensi neutrofil untuk mencegah terjadinya kontaminasi, kemudian *pipetting*.

Uji viabilitas neutrofil diawali dengan melapiskan 75 µl sel neutrofil pada 24 well *microplate* yang dasarnya telah diberi *coverslip*. Dilakukan inkubasi selama 15 menit dengan suhu 37° C kemudian dilakukan pengecekan dibawah mikroskop *inverted*. Neutrofil diresuspensi dengan 1000 µl medium M199 dan diinkubasi selama 30 menit dengan suhu 37° C. Menambahkan perlakuan sesuai kelompok, pada kelompok I sebanyak 4 sampel tidak diberi perlakuan (kontrol), pada kelompok II sebanyak 4 sampel ditambahkan 175 µl ekstrak rimpang temulawak 2,5 %, pada kelompok III sebanyak 4 sampel ditambahkan 175 µl ekstrak rimpang temulawak 5 %, pada kelompok IV sebanyak 4 sampel ditambahkan 175 µl ekstrak rimpang temulawak 7,5 %, pada kelompok V sebanyak 4 sampel ditambahkan 175 µl ekstrak rimpang temulawak 10 % dan pada kelompok VI sebanyak 4 sampel ditambahkan 175 µl ekstrak rimpang temulawak 20 %. Selanjutnya dilakukan *pipetting* dan diinkubasi selama 3 jam pada suhu 37° C. Setelah 3 jam, ditambahkan suspensi *S. mutans* dengan densitas 0,3 Mc. Farland sebanyak 75 µl pada masing-masing *well microplate* kemudian lakukan *pipetting*. Dilakukan inkubasi selama 3 jam. pada suhu 37° C. Medium inkubasi dibuang dan sel dicuci dengan medium M199 sebanyak dua kali, kemudian neutrofil diresuspensi dengan 1000 µl medium M199. Pada sampel yang akan diwarnai dengan trypan blue, medium M199 dibuang dan ditambahkan 100 µl HBSS, kemudian ditambahkan 100 µl *trypan blue*. Dilakukan inkubasi selama 3 menit kemudian dapat dilakukan penghitungan viabilitas neutrofil. Sel neutrofil yang *viabel* berwarna bening dan jernih sedangkan sel yang tidak *viabel* berwarna gelap. Penghitungan dilakukan dengan cara menghitung sel yang hidup perseratus jumlah sel neutrofil seluruhnya, kemudian dilakukan penghitungan prosentase viabilitas sel neutrofil.

## Hasil Penelitian

Data hasil penelitian viabilitas neutrofil yang dipapar *S. mutans* dan diinkubasi dengan ekstrak rimpang temulawak dapat dilihat pada Tabel 1.

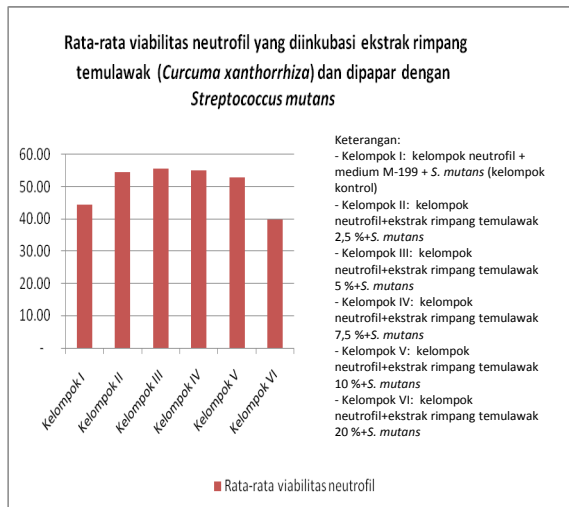
Tabel 1. Hasil penghitungan viabilitas neutrofil yang dipapar *S. mutans* dan diinkubasi dengan ekstrak rimpang temulawak

Kelompok Perlakuan	Rata-Rata Viabilitas	Standar Deviasi
Kelompok I	44.50	$\pm 7.42$
Kelompok II	54.50	$\pm 2.65$
Kelompok III	55.75	$\pm 8.22$
Kelompok IV	55.00	$\pm 8.04$
Kelompok V	53.00	$\pm 6.68$
Kelompok VI	39.75	$\pm 6.40$

Keterangan :

- Kelompok I : neutrofil + *S. mutans* (kelompok kontrol)
- Kelompok II : neutrofil + ekstrak rimpang temulawak 2,5 % + *S. mutans*
- Kelompok III : neutrofil + ekstrak rimpang temulawak 5 % + *S. mutans*
- Kelompok IV : neutrofil + ekstrak rimpang temulawak 7,5 % + *S. mutans*
- Kelompok V : neutrofil + ekstrak rimpang temulawak 10 % + *S. mutans*
- Kelompok VI : neutrofil + ekstrak rimpang temulawak 20 % + *S. mutans*

Tabel 1 menunjukkan bahwa kelompok III, yaitu kelompok dengan ekstrak rimpang temulawak 5 % memiliki rata-rata viabilitas neutrofil yang tertinggi sedangkan kelompok VI, yaitu kelompok dengan ekstrak rimpang temulawak 20 % menunjukkan rata-rata viabilitas yang terendah. Gambar histogram rata-rata viabilitas neutrofil dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Diagram batang rata-rata viabilitas neutrofil yang dipapar *S. Mutans* dan diinkubasi dengan ekstrak rimpang temulawak.

Data hasil penelitian selanjutnya dianalisis secara statistika. Hasil uji *Kolmogorov-Smirnov* menunjukkan data tersebut terdistribusi normal. Hasil uji *Levene* menunjukkan data yang homogen. Analisis *One Way ANOVA* menunjukkan  $p=0,016$  ( $p<0,05$ ) sehingga dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada keenam kelompok penelitian. Hasil Uji *LSD* menunjukkan perbedaan yang signifikan lebih rinci antar kelompok penelitian. Kelompok kontrol memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok ekstrak rimpang temulawak 5 % (III) dan 7,5 % (IV). Kelompok ekstrak rimpang temulawak 2,5 % (II) memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok ekstrak rimpang temulawak 20 % (VI). Kelompok ekstrak rimpang temulawak 5 % (III) memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok ekstrak rimpang temulawak 20 % (VI). Kelompok ekstrak rimpang temulawak 7,5 % (IV) memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok ekstrak rimpang temulawak 20 % (VI). Kelompok ekstrak rimpang temulawak 10 % (V) memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok ekstrak rimpang temulawak 20 % (VI).

## Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui viabilitas neutrofil yang dipapar dengan *S. mutans* setelah diinkubasi dengan ekstrak rimpang temulawak. Berdasarkan hasil uji *One Way ANOVA* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada keenam kelompok penelitian.

Kelompok kontrol (I), yang tidak diinkubasi dengan ekstrak rimpang temulawak memiliki rata-rata viabilitas yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok II, III, IV, dan V. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak rimpang temulawak dapat meningkatkan viabilitas neutrofil yang dipapar dengan *S. mutans*. Hasil analisis data secara statistik menggunakan uji *LSD* pada kelompok II, III, IV, dan V menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan pada keempat kelompok tersebut, sehingga dapat diketahui bahwa keempat kelompok tersebut memiliki efek yang sama dalam meningkatkan viabilitas sel neutrofil yang dipapar dengan *S. mutans*, namun kelompok III memiliki efek yang tertinggi dalam meningkatkan viabilitas neutrofil dengan rata-rata viabilitas yaitu 55,75.

Berbagai penelitian menunjukkan bahwa rimpang temulawak memiliki banyak kandungan aktif yang bermanfaat dan memiliki berbagai khasiat. Temulawak mengandung, kurkuminoid, minyak atsiri, saponin, flavonoid dan tanin. Kurkuminoid merupakan komponen aktif dengan prosentase

terbesar pada rimpang temulawak yaitu (1,6-2,2 %) [4]. Kurkuminoid dari rimpang temulawak dapat berperan sebagai antioksidan, antiinflamasi, antibakteri, antihepatotoksik, antikoosterol, dan antikanker. Dalam penelitian ini diduga kandungan kurkuminoid dari temulawak berperan dalam viabilitas neutrofil. Jancinova *et al.*, (2011) mengungkapkan bahwa kurkumin memiliki mekanisme dalam menurunkan pembentukan ROS dan mencegah terjadinya *oxidative burst* pada neutrofil yang dapat merusak jaringan di sekitarnya [15].

Neutrofil merupakan sel darah putih (leukosit) yang berperan dalam garis pertahanan tubuh pertama terhadap benda asing, salah satunya bakteri. Neutrofil menyerang bakteri dan menghancurkannya dengan fagositosis melalui reaksi biokimia yang kompleks dan melibatkan berbagai enzim dan senyawa kimia. Neutrofil memfagositosis bakteri dan membunuh bakteri dengan proses degranulasi pada granula primernya. Granula primer pada neutrofil mengandung enzim-enzim hidrolitik dan senyawa bakterisidal yaitu lisozim, protein pengikat besi laktoferin, leukin, dan fagositim serta protein kationik yang mampu membunuh bakteri. Neutrofil juga menghancurkan bakteri dengan bahan bakterisidal berupa pengoksidasi kuat meliputi superoksida ( $O_2^-$ ), hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), dan ion-ion hidroksil ( $OH$ ) [10]. Superoksida ( $O_2^-$ ), hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), dan ion-ion hidroksil ( $OH$ ) juga disebut sebagai *Reactive Oxygen Species* (ROS).

ROS merupakan radikal bebas atau oksidan yang sangat reaktif. ROS adalah sebuah molekul atau atom yang mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya. ROS yang bersifat tidak stabil ini berupaya mendapatkan pasangan elektron dari molekul lain [16]. Setiap ROS yang terbentuk dapat memulai suatu reaksi berantai yang terus berlanjut sampai ROS itu dihilangkan oleh ROS lain atau sistem antioksidannya [17]. Produksi ROS yang berlebihan dapat menyebabkan terjadinya ketidakseimbangan antara ROS dan sistem antioksidannya yang berujung pada stress oksidatif. Stress oksidatif dapat memicu terjadinya kerusakan pada asam lemak tidak jenuh ganda (PUFA) yang terdapat pada membran sel neutrofil [18].

Astuti (2008) mengungkapkan bahwa PUFA pada membran sel sangat rentan terhadap peroksidasi lipid karena banyak mengandung ikatan rangkap. Keberadaan karbon-karbon yang memiliki ikatan rangkap akan melemahkan ikatan karbon-hidrogen, sehingga atom hidrogen tersebut bersifat rentan untuk teroksidasi. Apabila atom hidrogen pada karbon  $\alpha$ -metilen dari ikatan rangkap PUFA menghilang karena oksidasi dari ROS, maka akan terjadi

peroksidasi lipid yang menyebabkan hilangnya integritas dan permeabilitas dari membran sel [16]. Sel yang tidak terintegrasi mengarah pada kerusakan dan kematian sel tersebut (sel nonviabel).

Antioksidan tambahan dibutuhkan untuk mencegah terjadinya kematian sel karena produksi jumlah ROS yang berlebihan. Sumber antioksidan alami terdapat pada kurkumin dalam temulawak. Mekanisme antioksidan pada kurkumin melalui reaksi pemecahan rantai. Kurkumin memberikan atom H dari senyawa OH yang dimilikinya untuk mengikat radikal bebas dan molekul reaktif [12]. Barzegar dan Movahedi (2011) juga mengungkapkan bahwa kurkumin terdiri dari dua kelompok senyawa fenolik dan satu kelompok senyawa *methylene*  $CH_2$ . Kedua kelompok tersebut melepaskan atom hidrogen yang mereka miliki untuk menangkap ROS. Berdasarkan kemampuan tersebut, diduga kurkumin dapat menghambat terjadinya peroksidasi lipid pada PUFA membran sel [19].

Kandungan flavonoid dan tanin dalam rimpang temulawak juga diduga berperan dalam mempertahankan viabilitas neutrofil yang dipapar *S. mutans*. Dalam penelitian *in vitro*, flavonoid dilaporkan memiliki daya antioksidan kuat dengan daya penangkap radikal bebas yang luas dan menghambat formasi radikal bebas [20]. Flavonoid (flavonoid-OH) bekerja sebagai daya penangkap radikal bebas hidroksil ( $OH$ ) dengan meregenerasi ( $OH$ ) menjadi  $H_2O$  [16]. Tanin juga dapat bersifat sebagai antioksidan karena kemampuannya dalam menghambat peroksidasi lipid. Kennouf *et al.*, (2010) mengungkapkan bahwa tanin memiliki kemampuan yang sama dengan senyawa fenolik dalam menghambat peroksidasi lipid [21].

*Streptococcus mutans* merupakan bakteri asidogenik yang berperan penting dalam karies Haniastuti (2009) mengungkapkan bahwa *S. mutans* dapat menyebabkan respon inflamasi berupa kemotaktik dan fagositosis oleh neutrofil pada pulpa dental apabila *S. mutans* telah berpenetrasi sampai pada jaringan pulpa [22]. Hahn dan Liewehr, (2007) juga mengungkapkan bahwa neutrofil dapat distimulasi oleh *S. mutans* melalui *Lipoteichoic acids* (LTA) yang dihasilkan oleh *S. mutans* [23].

Kemampuan ekstrak rimpang temulawak dalam meningkatkan viabilitas neutrofil yang dipapar *S. mutans* diduga juga dapat disebabkan adanya efek antibakteri ekstrak rimpang temulawak. Minyak atsiri (xanthorrhizol) yang dikandung temulawak memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans* [6]. Dengan efek antibakteri tersebut, diduga ekstrak rimpang temulawak yang diinkubasi selama 3 jam pada neutrofil telah memiliki kemampuan untuk membunuh bakteri sehingga neutrofil tetap viabel.

Hasil penelitian pada tabel 4.1 menunjukkan kelompok ekstrak rimpang temulawak konsentrasi 2,5 % (kelompok II) dan 5 % (kelompok III) memiliki rata-rata viabilitas lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol, namun pada kelompok ekstrak rimpang temulawak konsentrasi 7,5 % (kelompok IV), 10 % (kelompok V) dan 20 % (kelompok VI) terjadi penurunan rata-rata viabilitas walaupun pada kelompok ekstrak rimpang temulawak konsentrasi 7,5 % (kelompok IV), dan 10 % (kelompok V) masih memiliki rata-rata viabilitas yang lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tingginya konsentrasi ekstrak rimpang temulawak tidak berbanding lurus dengan meningkatnya rata-rata viabilitas neutrofil. Kelompok ekstrak rimpang temulawak konsentrasi 20 % (VI) menunjukkan rata-rata viabilitas terendah yaitu 39,75. Hal ini diduga karena ekstrak rimpang temulawak pada konsentrasi 20 % bersifat sitotoksik terhadap neutrofil. Helen (2012) mengungkapkan bahwa *Curcuma xanthorrhiza* (temulawak) merupakan tanaman dalam famili Zingiberaceae yang memiliki aktivitas antialergi, antimikroba, antiinflamasi, antihiperlipdemia, *anti-nonciceptive*, *anti-psychiatric*, antioksidan, *hepatoprotective*, *immunomodulatory* dan sitotoksik [24]. Borchers *et al* (2007) mengungkapkan komponen bioaktif dengan jumlah sedikit tidak menyebabkan efek biologis namun dengan jumlah tertentu, komponen bioaktif memiliki sifat sitotoksik pada sel kanker dan juga dapat bersifat toksik terhadap sel normal [25].

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat diketahui bahwa ekstrak rimpang temulawak dapat meningkatkan viabilitas neutrofil yang dipapar *S. mutans* dengan konsentrasi paling optimal yaitu 5%.

### Simpulan dan Saran

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa ekstrak rimpang temulawak konsentrasi 2,5 %, 5%, 7,5 %, dan 10% dapat meningkatkan viabilitas neutrofil yang dipapar dengan *S. mutans*. Konsentrasi ekstrak rimpang temulawak yang paling efektif dalam meningkatkan viabilitas neutrofil yang dipapar dengan *S. mutans* adalah konsentrasi ekstrak rimpang temulawak 5%.

Saran pada penelitian ini adalah diperlukan penelitian lebih lanjut tentang kandungan zat aktif pada rimpang temulawak yang dapat meningkatkan viabilitas neutrofil, penelitian lebih lanjut mengenai uji toksisitas dari ekstrak rimpang temulawak dan penelitian lebih lanjut mengenai ekstrak rimpang temulawak sebagai obat

kumur pada terapi untuk menghilangkan infeksi atau mencegah karies gigi.

### Daftar Pustaka

- [1] Hayati, S. Standarisasi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia, Salah Satu Tahapan Penting Dalam Pengembangan Obat Asli Indonesia. InfoPOM. 2005. Juli: 6 (4): 1-5.
- [2] Achmad SA, Hakim E H, Makmur L, Syah, MY, Juliawaty LD, Mujahidin D. Ilmu Kimia Dan Kegunaan: Tumbuh-Tumbuhan Obat Indonesia. Bandung: Institut Teknologi Bandung. 2008.
- [3] Santoso HB. Ragam & Khasiat Tanaman Obat, Sehat Alami Dari Halaman Asri. Jakarta: Agromedia Pustaka. 2008.
- [4] Mangunwardoyo W, Dessywyaty., Usia T. Antimicrobial and Identification of Active Compound *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. International Journal of Basic & Applied Sciences. 2012.12(1).
- [5] Sari, DLNS, Cahyono B, Kumoro, A. Pengaruh Jenis Pelarut pada Ekstraksi Kurkuminoid dari Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb). Chem. Info. 2013. 1(1): 101-107.
- [6] Husein S, Parhusip A, Romasi ER. Study on Antibacterial Activity from "Temulawak" (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) Rhizomes Against Pathogenics Microbes Cell Destruction. Journal of Applied and Industrial Biotechnology in tropical Region. 2009. April: 2(1).
- [7] Rukayadi Y. dan Hwang JK. In Vitro Activity of Xanthorrhizol Against *Streptococcus Mutans* Biofilms. Lett Appl Microbiol. 2006. 42: 400-404.
- [8] Grossman LI, Oliet S, Rio, CED. Ilmu Endodontik dalam Praktek. Edisi 11. Alih bahasa oleh Rafiah Abyono. Jakarta: EGC. 1995.
- [9] Harty FJ dan Ogston R. Kamus Kedokteran Gigi. Alih Bahasa oleh Narian Sumawinata. Jakarta: EGC. 1995.
- [10] Roeslan, B O. Imunologi Oral (Kelainan Di Dalam Rongga Mulut). Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. 2002.
- [11] Magalhaes MAO. "Effective Neutrophil Activation during innate immunity understanding the specific roles of Rac1 and Rac 2". Tidak Diterbitkan. Tesis. Toronto: University of Toronto. 2009.
- [12] Itokawa H, Shi Q, Akiyama T, Nastchke SLM, Lee KH. Recent Advances in The Investigation

- of Cucuminoids. Chinese Medicine. 2008. 3(11).
- [13] Christenson K. "Cell Death and Clearance – Studies of Human Neutrophils from Blood and Tissue". Tidak Diterbitkan. Tesis. Swedia: University of Gothenburg: 34-36. 2011.
- [14] Depkes. Keputusan Menkes Nomor 261/MENKES/SK/IV/2009 tentang Farmakope Herbal Indonesia Edisi Pertama. Jakarta: Depkes. 2009.
- [15] Jancinova V, Perecko T, Nosal R, Mihlova D, Bauerova K, dan Drabikova K. Pharmacological Regulation of Neutrophil Activity and Apoptosis. *Interdisc Toxicol*. 2011. 4(1): 11-14.
- [16] Astuti S. Isoflavon Kedelai dan Potensinya Sebagai Penangkap radikal Bebas. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*. 2008. September: 13(2).
- [17] Maslachah L, Sugihartuti R, Kurniasanti R. Hambatan Produksi Reactive Oxygen Species Radikal Superoksida ( $O_2^-$ ) oleh Antioksidan Vitamin E ( $\alpha$ -tocopherol) pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Menerima Stressor Renjatan Listrik. *Media Kedokteran Hewan*. 2008. Januari: 24(1).
- [18] Katoch B, Begum R. Biochemical Basis of The High Resistance to Oxidative Stress in *Distyostelium discoideum*. *J. Biosci*. 2003. September: 28(5).
- [19] Barzegar A, Movahedi AM. Intracellular ROS Protection Efficiency and Free Radical Scavenging Activity of Curcumin. *Plos One*. 2011. 6(10).
- [20] Lafuente AG, Guillamon E, Villares A, Rostagno MA, Martinez JA. Flavonoids as anti-inflammatory Agents: implications in Cancer and Cardiovascular Disease. *Inflamk.Res*. 2009. 58: 537-552.
- [21] Khennouf S, Amira S, Arrar L, Baghiani A. Effect of Some Phenolic Compounds and Quercus Tannins on Lipid Peroxidation. *World Applied Sciences Journal*. 2010. 8 (9): 1144-1149.
- [22] Haniastuti T. Chemotactic Activity of Human Neutrophils to *Streptococcus mutans*. *Indonesian Journal of Dentistry*. 2009. 16(2):149-162.
- [23] Hahn CL, Liewehr R. Relationship between Caries Bacteria, Host Responses, and Clinical Signs and Symptoms of Pulpitis. *JOE*. 2007. March: Vol. 33 No. 3.
- [24] Helen MPA, Gomathy SK, Jayasree S, Nizy AM, Rajagopal B, Jeeva S. Phytochemical characterization and antimicrobial activity of *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2012. S637-S640.
- [25] Borchers AT, Stern JS, Hackman RM, Keen CL, Gershwin ME. Mushroom, tumors, and immunity. *Proc. Soc. Exp. Biol.* 1999. *Med*.221, 281-293.