



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

SKRIPSI

Oleh

**Annisa Rahma Chamima
NIM. 071610101056**

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



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

SKRIPSI

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

Oleh

Annisa Rahma Chamima
NIM. 071610101056

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

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. ALLAH SWT, dengan segala puja dan puji syukur kepadaMu, karena Engkau telah membimbingku di setiap langkahku dengan segala rahmat dan hidayahMu.
2. Ayahanda tercinta H. Mochammad Chamim, S.T., dan Ibundaku tercinta (Alm.) Hj. Siti Aminah, yang selalu menjadi inspirasi dan semangat hidupku yang sangat luar biasa. Umikku tersayang Kholifah, yang selalu memberikan semangat dan motivasi ketika ku terjatuh dalam menghadapi segala tantangan dalam hidup, mendampingi dan mendoakanku dengan penuh kasih sayang.
3. Bangsa dan Almamaterku tercinta Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

MOTO

*Hal pertama yang perlu diingat untuk menjadi sukses
adalah lakukan segala sesuatu dari hati.
(Annisa Rahma Shamima)*

*Setiap orang ada masanya, setiap masa ada orangnya.
(Triyogo Handoyo)*

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Annisa Rahma Chamima

NIM : 071610101056

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

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, 03 Februari 2012

Yang menyatakan,

Annisa Rahma Chamima

NIM 071610101056

SKRIPSI

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

Oleh

Annisa Rahma Chamima

NIM 071610101056

Pembimbing :

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

Dosen Pembimbing Akademik : drg. Pujiana Endah Lestari, M.Kes

PENGESAHAN

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

hari, tanggal : Jum'at, 03 Februari 2012

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Tim Penguji

Ketua

Dr. drg. Purwanto, M.Kes.
NIP 195710241986031002

Anggota I,

Anggota II,

drg. Pujiana Endah Lestari, M.Kes
NIP 197608092005012002

Dr. drg. I.D.A Susilawati, M.Kes
NIP 196805021997012002

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember

drg. Hj. Herniyati, M.Kes
NIP 195909061985032001

RINGKASAN

Inhibisi Ekstrak Biji Pinang (*Areca catechu* L.) terhadap Pelepasan Ion Fosfor pada Proses Demineralisasi Gigi yang Distimulasi *Streptococcus mutans*; Annisa Rahma Chamima, 071610101056; 2012; 49 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Karies gigi merupakan penyakit endemik di Indonesia dengan prevalensi yang cukup tinggi. Dalam bidang kesehatan mulut, masalah yang sering dihadapi adalah karies atau plak gigi, yang terdiri atas kumpulan bakteri yang berkembang biak dan melekat erat di permukaan gigi. Pada awal pembentukan plak, jenis kokus gram positif terutama *Streptococcus* merupakan jenis yang paling banyak dijumpai, di samping bakteri yang berbentuk batang. Jenis bakteri yang mempunyai kemampuan paling besar untuk membentuk polisakarida ekstraselular adalah *Streptococcus mutans*. Bakteri ini mempunyai kemampuan untuk mensintesis sukrosa, glukosa atau karbohidrat lain menjadi polisakarida ekstraselular dan asam. Bakteri ini juga dapat menurunkan pH menjadi 5,2- 5,5 dan menyebabkan demineralisasi gigi. Untuk menyasati keadaan ini, maka dilakukan beberapa penelitian yang mampu menunjukkan bahwa salah satu bahan yang memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* adalah ekstrak biji pinang (*Areca catechu* L.). Analisis sebelumnya menyatakan bahwa buah pinang mengandung senyawa bioaktif yaitu flavonoid diantaranya tanin, yang dapat menguatkan gigi. Diduga tanaman pinang mengandung sejumlah komponen senyawa berbasis Selenium (Se) sebagai antibakteri. Tujuan dari penelitian ini untuk menganalisis inhibisi ekstrak biji pinang terhadap pelepasan ion fosfor 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 Labora-

torium Tanah Fakultas Pertanian Universitas Jember. Pada penelitian ini digunakan sampel potongan gigi premolar-1 rahang atas dibagi menjadi empat kelompok: 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 ion fosfor diukur dengan menggunakan alat *Atomic Absorption Spectrophotometry* (AAS), hasilnya dalam satuan *ppm*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah pelepasan ion fosfor secara signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna dalam setiap kelompok. Pelepasan ion fosfor pada kelompok perlakuan menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak biji pinang (*Areca catechu* L.) yang semakin tinggi dapat menyebabkan penurunan pH, sehingga jumlah pelepasan ion fosfor menjadi semakin tinggi.

Kesimpulan hasil penelitian ini, pemberian ekstrak biji pinang berpengaruh menghambat pelepasan ion fosfor dalam proses demineralisasi gigi yang distimulasi *Streptococcus mutans*. Konsentrasi ekstrak biji pinang yang efektif dalam menghambat pelepasan ion fosfor pada proses demineralisasi gigi yang distimulasi *Streptococcus mutans* adalah ekstrak pinang dengan konsentrasi yang rendah, karena biji pinang bersifat asam yang dapat mengakibatkan terjadinya pelepasan ion fosfor.

Saran setelah dilakukan penelitian ini antara lain ekstrak biji pinang bersifat asam sehingga perlu diperhatikan konsentrasi yang efektif dalam pemakaiannya sehari-hari, serta perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai bahan-bahan lain yang perlu ditambahkan dalam pengaplikasian biji pinang agar pH tidak asam.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Inhibisi Ekstrak Biji Pinang (*Areca catechu* L.) terhadap Pelepasan Ion Fosfor pada Proses Demineralisasi Gigi yang Distimulasi Oleh *Streptococcus mutans*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan 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. Dr. drg. Purwanto, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Utama, dan drg. Pujiana Endah Lestari, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah memberikan bimbingan, saran dan motivasi dengan penuh kesabaran sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
3. Dr. drg. I.D.A Susilawati, M.Kes, selaku Sekretaris Penguji yang telah memberikan saran demi kesempurnaan skripsi ini. Memberikan bimbingan metode dan alur penelitian selama proses penelitian berlangsung.
4. drg. Pujiana Endah Lestari, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberi saran dan nasehat selama masa-masa studi.
5. Ayahanda tercinta, H. Mochammad Chamim, S.T., dan Umikku tersayang Kholifah, terimakasih atas untaian doa yang tulus dan tiada henti tanpa kupinta, nasehat yang selalu teruntai yang menjadikan semangat dan motivasi bagiku untuk lebih tegar dalam menghadapi tantangan kehidupan.
6. Kakakku tersayang Afif Mushofa Chamim, S.T., adik-adikku tercinta Aufa Isra' Chamima, Ahmad Syaifudin Chamim, dan Azuan Fahri Chamim yang selalu memberikan kasih sayang, yang selalu merubah kesedihanku menjadi tawa, canda yang tak ternilai, sebagai motivasi hari-hariku.

7. Saudara kembarku Aulia Rahma Chamima, S.Kg., yang senantiasa menemaniku hingga tak terasa kita telah melewati bersama, ujian hidup yang menjadikan kita pribadi yang kuat, Amiin... Selamanya kita akan tetap menjadi teman, sahabat, saudara, dan sejawat.
8. Kakak tersayangku Vivi Damayanti, S.Kg., yang selalu memberikanku semangat, motivasi dan dukungan pada setiap langkah di masa-masa studiku.
9. Sahabat-sahabatku tersayang Mbak Tya, Tectona, Reza Charisma, Tio yang selalu ada dalam susah dan senang.
10. Kepada teman-teman FKG angkatan 2007, semoga kita semua sukses, menjadi dokter gigi yang berkualitas.
11. Keluarga kosku Bunga, Cupix, Mbak Ani, Aisyah, Anis, Ika, Ayu, Mbak Devi, Dian termakasih buat kebersamaan dan semangatnya.
12. Rekan penelitianku Dwi Aditya Haryastuti, S.Kg. Terimakasih atas kerjasamanya, meskipun harus berpindah-pindah lab, tapi akhirnya perjuangan kita berbuah manis. Terimakasih juga buat teman-teman seproyek penelitian (Tectona, Aulia, Tiwi, Yasinta, Ulfa, Nahdy, Suhermawan, Arif, dan Ardiansyah).
13. Seluruh staf pengajar dan karyawan FKG yang tidak bisa disebutkan satu persatu.
14. Staf laboratorium Biomedik Pak Pin, staf laboratorium Biologi Farmasi Bu Widi, dan staf laboratorium Ilmu Pertanian Mas Jimy. Terimakasih atas semua bimbingan dan bantuannya pada saat penelitian. Dan semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu per satu yang membantu dalam penyelesaian skripsi ini.

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, 03 Februari 2012

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
ALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	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 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tumbuhan Pinang (<i>Areca catechu</i> L.)	4
2.1.1 Klasifikasi	4
2.1.2 Morfologi	4
2.1.3 Kandungan Kimia dan Manfaat	5
2.2 Ekstraksi	7
2.3 Fosfor	8
2.3.1 Fosfor pada Gigi	8

2.3.2 Fungsi Fosfor	8
2.4 Gigi	9
2.4.1 Struktur Gigi	9
2.4.2 Demineralisasi Gigi	9
2.4.3 Karies Gigi	10
2.5 Karbohidrat	12
2.5.1 Definisi	12
2.5.2 Klasifikasi Karbohidrat	12
2.5.3 Fermentasi	13
2.5.4 Fermentasi Asam Laktat	13
2.6 <i>Streptococcus mutans</i>	14
2.6.1 Taksonomi	14
2.6.2 Morfologi	14
2.6.3 Patogenitas	15
2.7 Hipotesis	15
BAB 3. METODE PENELITIAN	16
3.1 Jenis Penelitian	16
3.2 Rancangan Penelitian	16
3.3 Tempat dan Waktu Penelitian	16
3.3.1 Tempat Penelitian	16
3.3.2 Waktu Penelitian	16
3.4 Identifikasi Variabel	16
3.4.1 Variabel Bebas	16
3.4.2 Variabel Terikat	16
3.4.3 Variabel Terkendali	17
3.5 Definisi Operasional	17
3.5.1 Ekstrak biji pinang	17
3.5.2 Gigi	17
3.5.3 Pelepasan Ion Fosfor	17

3.5.4 <i>Streptococcus mutans</i>	18
3.6 Sampel Penelitian	18
3.6.1 Besar Sampel	18
3.6.2 Pengelompokan Sampel	18
3.7 Alat dan Bahan Penelitian	19
3.7.1 Alat penelitian	19
3.7.2 Bahan penelitian	19
3.8 Prosedur Penelitian	19
3.8.1 Tahap Persiapan	19
3.8.2 Tahap Perlakuan	21
3.8.3 Tahap pengukuran pelepasan fosfor	22
3.8.4 Tahap pengukuran pH	23
3.8.5 Tahap pembiakan bakteri <i>S. mutans</i> pada media BHI-A	23
3.9 Analisis Data	24
3.10 Alur Penelitian	25
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	26
4.1 Hasil Penelitian	26
4.1.1 Hasil Sub Kultur <i>Streptococcus mutans</i>	26
4.1.2 Hasil Pelepasan Ion Fosfor	27
4.1.3 Hasil Pengukuran pH	28
4.1.4 Hasil Pembiakan <i>Streptococcus mutans</i> pada Masing-masing Kelompok pada Media BHI-A	30
4.2 Analisis Data	30
4.3 Pembahasan	31
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	35
5.1 Kesimpulan	35
5.2 Saran	35
DAFTAR BACAAN	36
LAMPIRAN	39

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>
AAS	:	<i>Atomic Absorption Spectrophotometry</i>

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1 Hasil Pengukuran Pelepasan Ion Fosfor pada Setiap Kelompok Sampel	27
Tabel 4.2 Perbandingan Nilai Rata-rata pH pada Setiap Kelompok Sampel	28
Tabel 4.3 Perbandingan Pelepasan Ion Fosfor Kelompok Kontrol dan Kelompok dengan Pemberian Ekstrak Biji Pinang	31
Tabel 4.4 Perbandingan Pelepasan Ion Fosfor pada Kelompok dengan Pemberian Ekstrak Biji Pinang	31

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Tumbuhan Pinang (<i>Areca catechu</i> L.)	5
Gambar 2.2 Faktor-faktor penyebab karies gigi	10
Gambar 2.3 <i>Streptococcus Mutans</i>	15
Gambar 4.1 Preparat hapus bakteri <i>S. mutans</i> (pewarnaan Gram) pembesaran 1000x	26
Gambar 4.2 Diagram batang rata-rata pelepasan ion fosfor pada proses demineralisasi gigi yang distimulasi <i>S. mutans</i> pada setiap kelompok setelah inkubasi 2x24 jam	27
Gambar 4.3 Diagram batang rata-rata nilai pH pada setiap kelompok setelah inkubasi 2x24jam pada proses demineralisasi gigi yang distimulasi <i>S. mutans</i>	28
Gambar 4.4 Pembiakan pada Media BHI-A hasil perendaman masing- masing kelompok pada proses demineralisasi gigi yang distimulasi <i>S. mutans</i> setelah inkubasi 2x24 jam	29

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran A Perhitungan Jumlah Sampel	39
Lampiran B Pengamatan Hasil Trial	39
Lampiran C Tabulasi Data	40
Lampiran D Uji Statistik	41
Lampiran E Foto Penelitian	43

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Karies gigi merupakan penyakit endemik di Indonesia dengan prevalensi yang cukup tinggi. Menurut data yang diperoleh berdasarkan Survey Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) tahun 2004 bahwa tingkat prevalensi penderita gigi berlubang (karies) mulai usia 10 tahun di Indonesia mencapai 90,05% (Asra, 2010). Karies merupakan proses demineralisasi jaringan keras pada gigi. Proses ini mengakibatkan timbulnya permukaan yang tidak rata pada permukaan gigi yang menyebabkan sisa makanan sulit dibersihkan, sehingga pada daerah lesi karies banyak terdapat nutrisi yang cocok bagi perkembangbiakan bakteri (Nolte, 1982).

Dalam bidang kesehatan mulut, masalah yang sering dihadapi adalah karies atau plak gigi, yang terdiri atas kumpulan bakteri yang berkembang biak dan melekat erat di permukaan gigi. Plak terutama terdiri atas bakteri bercampur musin, sisa-sisa makanan, dan bahan-bahan lain yang melekat erat di permukaan gigi. Pada awal pembentukan plak, jenis kokus gram positif terutama *Streptococcus* merupakan jenis yang paling banyak dijumpai, di samping bakteri yang berbentuk batang. Jenis bakteri yang mempunyai kemampuan paling besar untuk membentuk polisakarida ekstraselular adalah *Streptococcus mutans*. Bakteri ini mempunyai kemampuan untuk mensintesis sukrosa, glukosa atau karbohidrat lain menjadi polisakarida ekstraselular dan asam. Bakteri ini juga dapat menurunkan pH menjadi 5,2- 5,5 dan menyebabkan demineralisasi gigi (Pelezar dan Chan, 1986).

Demineralisasi jaringan keras gigi yang ditandai oleh rusaknya jaringan email dan dentin akibat aktivitas metabolisme bakteri dalam plak gigi. Pertumbuhan plak gigi dapat dihambat dengan menghilangkan atau mengurangi bakteri dalam mulut, misalnya dengan obat kumur yang mengandung antiseptik (Ford, 1993).

Untuk menyiasati keadaan ini, maka dilakukan beberapa penelitian yang mampu menunjukkan bahwa salah satu bahan yang memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* adalah ekstrak biji pinang (*Areca catechu* L.). Pinang (*Areca catechu* L.) merupakan tanaman yang telah dibudidayakan dan dapat ditemukan di pekarangan rumah ataupun di kebun-kebun penduduk. Pemanfaatan biji pinang (*Areca catechu* L.) yang secara tradisional telah digunakan secara luas sejak ratusan tahun yang lalu. Penggunaan paling populer adalah kegiatan menyirih dengan bahan campuran biji pinang, daun sirih, dan kapur. Ada juga yang mencampurnya dengan tembakau (Litbang, 2010).

Analisis pinang di Filipina menyatakan bahwa buah pinang mengandung senyawa bioaktif yaitu flavonoid di antaranya tanin, yang dapat menguatkan gigi. Diduga tanaman pinang mengandung sejumlah komponen utama senyawa berbasis Selenium (Se) sebagai antibakteri. Selenium (Se) merupakan elemen esensial bagi hewan dan manusia yang diperoleh dari makanannya seperti biji-bijian dan sayuran. Kandungan Se dalam tumbuhan merupakan potensi untuk dimanfaatkan sebagai tumbuhan obat, misalnya pada tanaman pinang, salak, kopi, teh dan coklat. Pinang sudah banyak digunakan sebagai obat tradisional antara lain untuk luka, pembersih gigi dan gusi (Bartholomew, 2010).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas dapat dirumuskan permasalahan yaitu, apakah inhibisi ekstrak biji pinang (*Areca catechu* L.) berpengaruh terhadap pelepasan ion fosfor pada proses demineralisasi gigi.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini untuk menganalisis inhibisi ekstrak biji pinang (*Areca catechu* L.) terhadap pelepasan ion fosfor pada proses demineralisasi gigi.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Sebagai tambahan informasi kepada masyarakat mengenai efektifitas ekstrak biji pinang (*Areca catechu* L.) dalam menghambat pelepasan ion fosfor pada proses demineralisasi gigi.
- b. Sebagai acuan penelitian lebih lanjut, yang berkaitan dengan pencegahan penyakit gigi dan mulut terutama karies gigi.
- c. Sebagai tambahan informasi kepada masyarakat mengenai manfaat biji buah pinang (*Areca catechu* L.) sebagai bahan obat tradisional.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tumbuhan Pinang (*Areca catechu* L.)

2.1.1 Klasifikasi

Tanaman pinang diklasifikasikan sebagai berikut:

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

(Syamsuhidayat and Hutapea, 1991).

2.1.2 Morfologi

Pinang (*Areca catechu* L.) 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 (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. (c). Daun: majemuk menyirip tumbuh berkumpul di ujung batang membentuk roset batang. (d). Bunga: tongkol bunga dengan seludang panjang yang mudah rontok, keluar dari bawah roset daun, panjang sekitar 75 cm, dengan tangkai pendek bercabang rangkap. (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. 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).



Gambar 2.1 Tumbuhan Pinang (Depkes RI, 1989)

Tanaman ini berbunga pada awal dan akhir musim hujan dan memiliki masa hidup 25-30 tahun. Biji buah berwarna kecoklatan sampai coklat kemerahan, agak berlekuk-lekuk dengan warna yang lebih muda. Pada bidang irisan biji tampak perisperm berwarna coklat tua dengan lipatan tidak beraturan menembus endosperm yang berwarna agak keputihan (Depkes RI, 1989).

2.1.3 Kandungan Kimia dan Manfaat

Analisis pinang di Filipina menyatakan bahwa buah pinang mengandung senyawa bioaktif yaitu flavonoid di antaranya tannin, yang dapat menguatkan gigi (Bartholomew, 2010). 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. 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).

Biji pinang dapat dimakan bersama sirih dan kapur, yang berkhasiat untuk menguatkan gigi. Air rebusan biji pinang juga digunakan sebagai obat kumur dan penguat gigi. Diduga bahwa tanaman pinang mengandung sejumlah komponen utama senyawa berbasis Selenium (Se) sebagai antibakteri. Hal tersebut dibuktikan dengan peranannya sebagai obat tradisional yang telah dimanfaatkan oleh masyarakat luas dalam hal Se. Komponen Selenium (Se) ini dapat dihasilkan melalui proses fermentasi konsorsium *Acetobacter-Saccharomyces* (Bartholomew, 2010).

Efek biologis dari Se awalnya hanya dipertimbangkan dari segi toksisitasnya saja. Sebagai mikroelemen, Se berperan dalam pertumbuhan, mengontrol metabolisme hormon tiroid dan testosteron, sebagai antioksidan Se mereduksi senyawa peroksida, sehingga menurunkan radikal bebas dalam tubuh dan menghambat timbul dan berkembangnya kanker (Linder, 1992).

Kebutuhan Se rata-rata orang dewasa 50-200 μg sehari, sementara yang direkomendasikan 55 μg per hari. Menurut penelitian LD50 konsumsi Se adalah 2,3-13 mg per kg. Asupan bahan mengandung Se berasal dari bahan makanan sehari-hari misalnya makanan yang berasal dari tumbuhan. Kemampuan beberapa jenis tumbu-

han untuk mengakumulasi dan mentransformasi Se menjadi senyawa bioaktif sangat penting untuk kesehatan manusia dan lingkungan (Ellis, 2003).

2.2 Ekstraksi

Ekstraksi adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan, dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian rupa hingga memenuhi baku yang ditetapkan. Proses ekstraksi bahan atau bahan obat alami dapat dilakukan berdasarkan teori tentang penyarian, penyarian merupakan peristiwa pemindahan massa. Zat aktif yang semula berada di dalam sel, ditarik oleh cairan penyari sehingga terjadi larutan zat aktif dalam dalam cairan penyari tersebut (Ningsih, 2009).

Ekstraksi merupakan teknik pemisahan suatu senyawa berdasarkan perbedaan distribusi zat terlarut diantara dua pelarut yang saling bercampur. 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 yang akan diisolasi. Proses pemisahan senyawa, 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 (Pratiwi, 2009).

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. 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 (Pratiwi, 2009).

2.3 Fosfor

2.3.1 Fosfor pada Gigi

Komposisi kimia enamel terdiri dari 95-98% bahan anorganik, 1% bahan organik dan air sekitar 4% yang diukur dari beratnya. Secara rinci Williams dan Elliot (1979) menyusun komposisi mineral enamel normal dalam jumlah terbesar yaitu Ca, P, CO₂, Na, Mg, Cl dan K sedangkan dalam jumlah kecil yaitu F, Fe, Zn, Sr, Cu, Mn, Ag. Kalsium dan fosfat merupakan komponen-komponen anorganik yang penting, yang tersusun dalam hidroksiapatit (Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂) (Chapter, 2010).

Kandungan mineral yang tinggi membuat enamel mempunyai sifat yang keras, bahkan merupakan jaringan yang paling keras pada tubuh manusia. Kekerasan permukaan luar gigi berbeda-beda tergantung pada lokasinya, dan kekerasannya akan berkurang menuju ke arah dalam, kekerasan enamel makin ke arah dentin makin berkurang. Hal ini disebabkan kandungan mineral anorganik pada dentin dan semen-tum lebih rendah dari enamel. Meskipun enamel merupakan struktur yang sangat keras dan padat, namun enamel bersifat permeabel terhadap ion-ion dan molekul yang dapat mengalami penetrasi sebagian atau kompleks. Enamel dapat larut ketika berkontak dengan asam, sehingga larutnya sebagian atau keseluruhan mineral enamel akan menurunkan kekerasannya (Chapter, 2010).

2.3.2 Fungsi Fosfor

Peranan fosfor adalah untuk pembentukan tulang dan gigi, penyimpanan dan pengeluaran energi (perubahan antara ATP dengan ADP). DNA dan RNA terdiri dari fosfor dalam bentuk fosfat; demikian juga membran sel yang membantu menjaga permeabilitas sel. Fosfor merupakan mineral kedua terbanyak di dalam tubuh, yaitu 1% dari berat badan. Kurang lebih 85% fosfor di dalam tubuh terdapat sebagai garam kalsium fosfat, yaitu bagian dari kristal hidroksiapatit di dalam tulang dan gigi yang tidak dapat larut. Hidroksiapatit memberi kekuatan dan kekakuan pada tulang. Fosfor di dalam tulang berada dalam perbandingan 1:2 dengan kalsium (Menik, 2010).

Klasifikasi tulang dan gigi diawali dengan pengendapan fosfor pada matriks tulang. Kekurangan fosfor menyebabkan peningkatan enzim fosfatase yang diperlukan untuk melepas fosfor dari jaringan tubuh ke dalam darah agar diperoleh perbandingan kalsium terhadap fosfor yang sesuai untuk pertumbuhan tulang. Pengaturan keseimbangan asam-basa. Fosfat memegang peranan penting sebagai buffer untuk mencegah perubahan tingkat keasaman cairan tubuh. Ini terjadi karena kemampuan fosfor mengikat tambahan ion hidrogen (Menik, 2010).

2.4 Gigi

2.4.1 Struktur Gigi

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. 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, 2008).

Ikatan hydroxyapatite yang terdapat pada enamel dan memiliki kapasitas untuk terjadinya pertukaran ion, memastikan bahwa terdapat kandungan lain pada enamel, yaitu : Na, Mg, Zn, K, Pb, Sr, Fe, F, dan juga komponen minor lainnya seperti karbonat. Sebagian besar komponen ionik minor dari enamel tidak diragukan lagi menjadi bagian dari struktur kristal apatit (Weatherell, 2000).

2.4.2 Demineralisasi Gigi

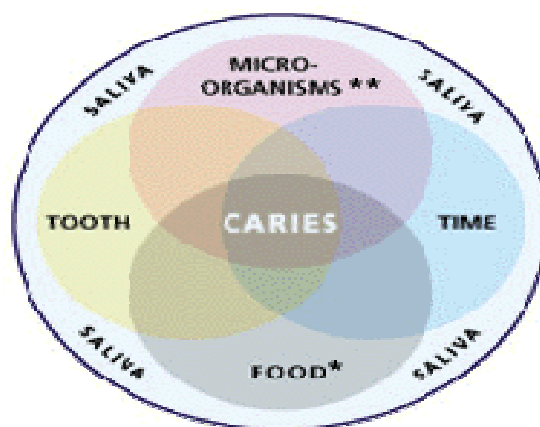
Demineralisasi merupakan proses pelepasan mineral dalam bentuk mineral ion dari enamel gigi. Demineralisasi merupakan istilah lain dari kerusakan enamel. Enamel gigi merupakan lapisan bening yang terdiri dari berbagai macam mineral, dimana komponen utamanya adalah kompleks dari kalsium phospat yang biasa 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 enamel yang

normal. Apabila banyak mineral yang terlepas dari ikatan hydroxyapatite, maka dapat menimbulkan kavitas. Ikatan hydroxyapatite tersebut dapat diperkuat dan direstorasi apabila terjadi proses remineralisasi (Anonim, 2010).

Demineralisasi enamel merupakan tanda-tanda awal karies gigi, biasanya terlihat pada bagian permukaan gigi dalam bentuk “white spot”. Hal ini disebabkan karena enamel gigi yang terpapar asam secara terus-menerus, seperti misalnya terdapat persentensi akumulasi plak (Anonim, 2008).

2.4.3 Karies Gigi

Karies merupakan suatu penyakit jaringan keras gigi, yaitu email, dentin, dan sementum, yang disebabkan oleh aktivitas suatu jasad renik dalam suatu karbohidrat yang dapat diragikan (Kidd, 1991). 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 tempo 1-3 menit. Penurunan pH yang berulang-ulang dalam waktu tertentu akan mengakibatkan demineralisasi permukaan gigi yang rentan dan proses karies pun dimulai. Karies baru bisa terjadi hanya kalau keempat faktor tersebut ada (Kidd, 1991).



* Fermentable Carbohydrate
 ** Particularly *Streptococcus mutans*

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

Gula terolah seperti sukrosa dan glukosa bukan hanya memiliki kariogenitas saja, melainkan kedua zat tersebut terutama sukrosa sangat efektif dalam menimbulkan karies. Makanan gula akan menyebabkan penurunan pH yang akan memudahkan terjadinya demineralisasi (Ford, 1993).

S. mutans dan *lactobacillus* merupakan kuman yang kariogenik karena mampu segera membuat asam dari karbohidrat yang diragikan. Kuman-kuman tersebut dapat tumbuh dengan subur dalam suasana asam dan dapat menempel pada permukaan gigi karena kemampuannya membuat polisakarida ekstrasel yang sangat lengket dari karbohidrat makanan. Polisakarida ini, yang terutama terdiri dari polimer glukosa, menyebabkan matriks plak gigi mempunyai konsistensi seperti gelatin. Akibatnya, bakteri-bakteri terbantu untuk melekat pada gigi serta saling melekat satu sama lain. Karena plak makin tebal maka hal ini akan menghambat fungsi saliva dalam menetralkan plak tersebut (Kidd, 1991).

Plak yang mengandung bakteri merupakan awal bagi terbentuknya karies. Oleh karena itu kawasan gigi yang memudahkan perlekatan plak sangat mungkin diserang karies. Kawasan-kawasan yang mudah diserang karies tersebut adalah :

- a. Pit dan fisur pada permukaan oklusal molar dan premolar, pit bukal molar dan pit palatal insisif.
- b. Permukaan halus di daerah aproksimal sedikit di bawah titik kontak.
- c. Email pada tepian di daerah leher gigi sedikit di atas tepi gingiva.
- d. Permukaan akar yang terbuka, yang merupakan daerah tempat melekatnya plak pada pasien dengan resesi gingiva karena penyakit periodontium.
- e. Tepi tumpatan terutama yang kurang atau mengemper.
- f. Permukaan gigi yang berdekatan dengan gigi tiruan dan jembatan (Kidd, 1991).

Adanya kemampuan saliva untuk mendeposisikan 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 lingkungan gigi, maka karies tidak menghancurkan gigi dalam hitungan hari atau minggu, melainkan dalam bulan atau tahun (Kidd, 1991).

2.5 Karbohidrat

2.5.1 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 $C_n(H_2O)_m$. Nama lain dari karbohidrat adalah sakarida, berasal dari bahasa Arab "sakkar" artinya gula. Karbohidrat sederhana mempunyai rasa manis sehingga dikaitkan dengan gula. Melihat struktur molekulnya, karbohidrat lebih tepat didefinisikan sebagai suatu *polihidroksialdehid* atau *polihidroksiketon*. Contoh glukosa; adalah suatu polihidroksi aldehid karena mempunyai satu gugus aldehid dan 5 gugus hidroksil (OH) (Anonim, 2011).

2.5.2 Klasifikasi Karbohidrat

Karbohidrat digolongkan menjadi 4 golongan utama yaitu:

1. Monosakarida

Monosakarida merupakan karbohidrat paling sederhana karena molekulnya 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, galaktosa. Contoh ketosa yaitu fruktosa (Anonim, 2011).

2. Disakarida Senyawa

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 monosakatida

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

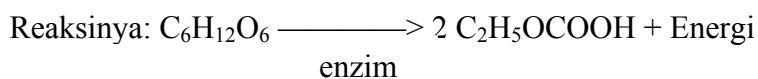
Senyawa yang terdiri dari gabungan molekul- molekul monosakarida yang banyak jumlahnya, senyawa ini bisa dihidrolisis menjadi banyak molekul monosakarida. Polisakarida merupakan jenis karbohidrat yang terdiri dari lebih 6 monosakarida dengan rantai lurus/cabang (Anonim, 2011).

2.5.3 Fermentasi

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. Gula adalah bahan yang umum dalam fermentasi. Beberapa contoh hasil fermentasi adalah etanol, asam laktat, dan hidrogen. 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 alcohol (Anonim, 2010).

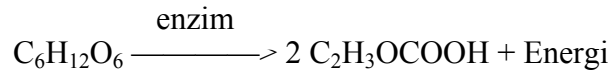
2.5.4 Fermentasi Asam Laktat

Fermentasi asam laktat adalah fermentasi dimana hasil akhirnya asam laktat. Energi yang terbentuk dari glikolisis hingga terbentuk asam laktat: $8 \text{ ATP} - 2 \text{ NADH}_2 = 8 - 2(3 \text{ ATP}) = 2 \text{ ATP}$ (Anonim, 2010).

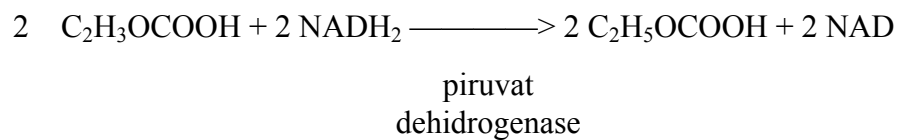


Prosesnya:

1. Glukosa $\xrightarrow{\text{enzim}}$ asam piruvat (proses Glikolisis).



2. Dehidrogenasi asam piruvat akan terbentuk asam laktat:



2.6 *Streptococcus mutans*

Di dalam rongga mulut manusia terdapat berbagai jenis mikroba atau bakteri yang banyak kaitannya dengan pembentukan asam laktat, yaitu : *S. mutans*, *S. sanguis*, *S. nitis*, *S. salivarius*, dan spesies *lactobacillus*. Semua jenis bakteri tersebut terkenal pandai membentuk senyawa polimer ekstra seluler dari sukrosa, tetapi tidak dari karbohidrat lain (Koswara, 2009).

2.6.1 Taksonomi

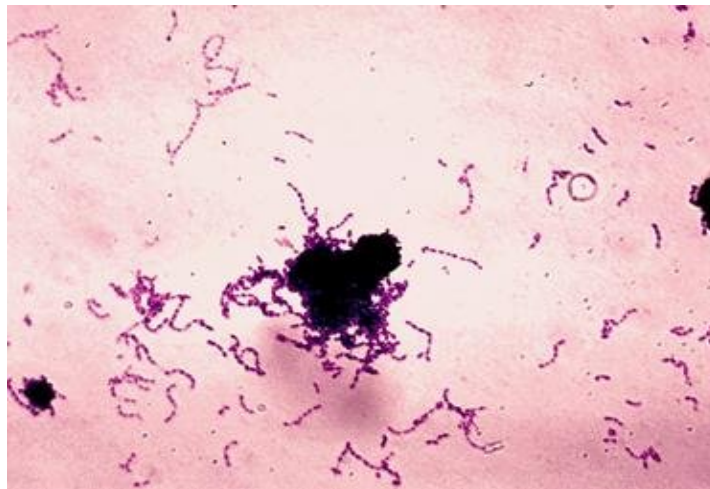
Klasifikasi ilmiah *S. mutans*:

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Order	: Lactobacillales
Family	: Streptococeae
Genus	: <i>Streptococcus</i>
Spesies	: <i>Streptococcus mutans</i> (Wikipedia, 2010).

2.6.2 Morfologi

S. mutans tumbuh dalam suasana fakultatif anaerob. Dalam keadaan anaerob, bakteri ini memerlukan 5% CO₂ dan 95% nitrogen serta memerlukan amonia

sebagai sumber nitrogen agar dapat bertahan hidup dalam lapisan plak yang tebal. Dinding sel *S. mutans* mengandung 6.8% protein, 8.9% *glycerol teichoic acid*, 33.6% *nonpeptidoglycan polysaccharide*, dan 49.9% *peptidoglycan* (Nolte, 1982).



Gambar 2.3 *S. mutans* (Anonim, 2008)

2.6.3 Patogenitas

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 tersebut kemudian berkembang menjadi noda pada permukaan gigi. Noda tersebut bersifat gel yang sangat lengket sekali. Proses pengeroposan gigi sendiri disebabkan pengaruh asam laktat, yaitu produk sampingan dari metabolisme fruktosa dan levans (Koswara, 2009).

2.7 Hipotesis

Inhibisi ekstrak biji pinang (*Areca catechu* L.) mempengaruhi pelepasan ion fosfor pada proses demineralisasi gigi yang distimulasi oleh *Streptococcus mutans*.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian jenis eksperimental laboratoris. Jenis ini dipilih karena baik pada sampel maupun perlakuan lebih terkendali, terukur dan pengaruh perlakuan lebih dapat dipercaya (Notoatmojo, 2005).

3.2 Rancangan Penelitian

Post-test only control group design, merupakan suatu metode penelitian yang membandingkan antara kelompok kontrol dan perlakuan (Wikipedia, 2011).

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

3.3.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biomedik bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember, dan di Laboratorium Kesuburan Tanah Jurusan Ilmu Tanah Fakultas Pertanian Universitas Jember.

3.3.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September 2011.

3.4 Identifikasi Variabel

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dari penelitian ini adalah ekstrak biji pinang.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dari penelitian ini adalah ion fosfor (P) pada gigi.

3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali dari penelitian ini adalah :

- 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 (*Areca catechu* L.) diperoleh dengan cara mengekstraksi zat aktif dari biji pinang muda yang dikeringkan dan dihaluskan, kemudian dilarutkan dengan menggunakan etanol 96% dan pelarut diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* (Ningsih, 2009). Ekstrak biji pinang diencerkan sesuai dengan konsentrasi yang diperlukan (100%, 50%, 25%) menggunakan aquadest.

3.5.2 Gigi

Menggunakan gigi premolar-1 rahang atas. Diekstraksi pada penderita dengan alasan perawatan ortodonsia, bebas dari karies dan hipoplasia email, dipotong secara vertikal menggunakan *straight hand piece* dan *safeside separating* disk dan ditimbang dengan berat masing-masing sampel 100 mg kemudian dibersihkan terlebih dahulu dan disimpan dalam larutan PZ (Lee dkk, 1999).

3.5.3 Pelepasan Ion Fosfor

Pengamatan pelepasan kadar ion fosfor pada proses demineralisasi menggunakan alat AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometry*). Dengan menentukan sumber sinar yang sesuai, dilanjutkan pemisahan atom fosfor menggunakan nyala api dengan panjang gelombang yang disesuaikan dengan ion fosfor. Energi sinar fosfor

dideteksi, kemudian diubah menjadi energi listrik untuk pembacaan hasil berupa angka digital konsentrasi fosfor (*ppm*).

3.5.4 *Streptococcus mutans*

S. 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 $18^{\circ} - 40^{\circ}$ Celsius (Nugraha, 2007). *S. mutans* yang dipakai adalah ATCC *strain* nomor 2517, satu macam konsentrasi 3×10^{-8} sel/ml.

3.6 Sampel Penelitian

3.6.1 Besar Sampel

Besar sampel yang diperoleh dari rumus (Daniel, 2005) adalah minimal 4 buah sampel, maka pada penelitian ini digunakan 4 sampel untuk masing-masing kelompok. Perhitungan jumlah sampel dapat dilihat pada (Lampiran A).

3.6.2 Pengelompokan Sampel

Penelitian ini menggunakan sampel sebanyak 16 buah botol vial yang terbagi menjadi 4 kelompok. (1). Kelompok kontrol (K) yaitu hasil perendaman dari aquadest, *Streptococcus mutans*, sukrosa, dan gigi. (2).Kelompok perlakuan 1 (P1) yaitu ekstrak biji pinang (*Areca catechu* L.)100%, *Streptococcus mutans*, sukrosa, dan gigi. (3). Kelompok perlakuan 2 (P2) yaitu ekstrak biji pinang (*Areca catechu* L.) 50%, *Streptococcus mutans*, sukrosa, dan gigi. (4). Kelompok perlakuan 3 (P3) yaitu ekstrak biji pinang (*Areca catechu* L.) 25%, *Streptococcus mutans*, sukrosa, dan gigi.

3.7 Alat dan Bahan Penelitian

3.7.1 Alat Penelitian

- | | |
|---|-----------------------------------|
| a. Botol vial | k. Tabung reaksi |
| b. <i>Laminar air flow</i> | l. Spektrofotometer Serapan Atom. |
| c. <i>Syringe</i> | m. Alat saring dan <i>vacuum</i> |
| d. Timbangan (<i>Ohaus, Germany</i>) | n. Tabung ukur |
| e. Spatula kaca | o. <i>Shaker bath</i> |
| f. <i>Thermolyne</i> | p. <i>Rotary evaporator</i> |
| g. Desikator (<i>Schott, Germany</i>) | q. <i>Beaker glass</i> |
| h. Pinset | r. Corong <i>Buchner</i> |
| i. pH meter (<i>Hanna HI 98107</i>) | s. Timbangan Elektrik |
| j. Pipet <i>volume</i> | |

3.7.2 Bahan Penelitian

- Potongan gigi premolar-1 rahang atas.
- Ekstrak biji pinang (*Areca catechu L.*),
- Biakan *Streptococcus mutans* (Laboratorium Biomedik bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember).
- Aquadest steril (PT. Aditama Farmindo, Surabaya).
- Larutan garam fisiologis (PZ) (PT. Widatra Bhakti)
- Etanol 96% (PT. Panadia Corporation Indonesia).
- Sukrosa

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Tahap Persiapan

Tahapan pertama adalah pembuatan potongan gigi, diambil dari gigi premolar-1 rahang atas pada penderita yang telah diekstraksi dengan alasan perawatan ortodonsia, dibelah empat secara vertikal dari arah oklusal dengan menggunakan *straight hand piece* dan *safeside separating disk* (Lee dkk, 1999).

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. 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 (Lee dkk, 1999). Potongan-potongan gigi selanjutnya ditimbang dengan timbangan elektrik masing-masing 100 mg, setelah itu direndam dalam larutan garam fisiologis (PZ), sampai dilakukan uji kelarutan fosfor. Semua alat yang digunakan dalam penelitian ini dibersihkan dan disterilkan terlebih dahulu dalam oven selama 15 menit dengan suhu 100°C.

Tahapan selanjutnya yaitu mempersiapkan ekstrak biji pinang (*Areca catechu* L.). Biji pinang (*Areca catechu* L.) diambil dari buah yang masih muda. Kemudian biji pinang dikupas/ dibuang kulit bijinya kemudian biji pinang dijemur di bawah sinar matahari hingga kering. Biji tersebut kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender kering hingga menjadi serbuk. Sebanyak 250 gram serbuk kering dimasukkan ke dalam maserator, ditambahkan etanol 96% sebanyak 7 ½ kali bobot serbuk dan diaduk. Biarkan termaserasi selama 5 hari dalam maserator tertutup dengan pengadukan setiap hari. Setelah itu saring maserat dari ampas dengan corong *Buchner*. Maserat diendapkan selama 2 hari dan dipisahkan antara maserat dari endapan dengan hati-hati. Kemudian maserat diuapkan dalam cawan porselen diatas 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 dan ntuk 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%.

Kemudian mempersiapkan suspensi bakteri *Streptococcus mutans* yang diambil dari ACTT *Strain* 6125. Kemudian dilakukan penanaman pada media spesifik TYC (Trypticase Yeast Casein). Untuk memastikan kemurnian dengan melakukan uji gram (gram+), uji gula dan bentuk koloninya. Selanjutnya 2 ml media BHI-B steril dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambah 1 ose *S. mutans*. Perlakuan ini dilakukan dengan melewatkannya di atas lampu spiritus yang sedang menyala. Diukur kekeruhannya menggunakan spektrofotometer sesuai dengan larutan standart Mc Farland absorbansi 1 (0,15 dengan panjang gelombang 560 nm), konsentrasi bakteri yaitu 3×10^8 sel/ml.

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 *Streptococcus mutans*.

3.8.2 Tahap Perlakuan

Sebelum melakukan percobaan, dilakukan uji coba (trial) untuk menentukan konsentrasi bakteri *Streptococcus mutans*, konsentrasi sukrosa, dan lama waktu perendaman hingga di dapatkan pH yang sesuai dengan pH kritis terjadinya demineralisasi (5,2-5,5) (Kidd, 1991). Didapatkan hasil yang signifikan penurunan pH pada hari ke-2 (perendaman 2x24 jam), dengan konsentrasi bakteri 3×10^8 sel/ml, dan konsentrasi sukrosa 3 gr/10ml (dapat dilihat pada Tabel di Lampiran A.2).

Semua perlakuan dilakukan di dalam *laminar flow* untuk mencegah kontaminasi dengan lingkungan luar. Kemudian dilakukan perendaman sampel, dengan cara:

- 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) Pada masing-masing kelompok, baik kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan dipapar *S. mutans*, 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, 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) Sampel 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.

3.8.3 Tahap Pengukuran Pelepasan Fosfor

- 1) Setelah proses pemaparan dengan *Streptococcus mutans* selesai, dilanjutkan proses destruksi dengan menambahkan HNO_3 . Dan dilakukan pengamatan kadar fosfor.
- 2) Pengamatan ion fosfor dengan AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometry*).
- 3) Menentukan sumber sinar yang sesuai dengan fosfor, yaitu lampu katoda berongga (*Hollow Catode Lamp*).
- 4) Pengamatan dengan nyala api.
- 5) Isolasi panjang gelombang yang sesuai dengan fosfor.

- 6) Energi sinar fosfor dideteksi, kemudian diubah menjadi energi listrik.
- 7) Dari energi listrik tersebut digunakan pembacaan hasil yang berupa angka digital konsentrasi fosfor dengan satuan *Parts Per Million (ppm)* (Riyanto, 2009).

3.8.4 Tahap Pengukuran pH

Dilakukan pada setiap sampel pada jam ke-0 dan 2x24 jam dengan menggunakan Ph meter (*Hanna HI 98107*). Ph meter (*Hanna 98107*) adalah suatu alat yang digunakan untuk mengukur Ph suatu larutan. Spesifikasi alat yaitu range Ph yang diukur dari 0,0 – 14,0 resolusi 0,1 ketelitian \pm Ph 0,1. Sebelum mengoperasikannya, terlebih dahulu kita melakukan kalibrasi dengan cara Ph meter direndam ke dalam larutan buffer (contoh aquadest) lalu stabilkan dengan menggunakan *screwdriver* agar pHnya 7. Harus diingat bahwa larutan buffer yang digunakan haruslah senantiasa dalam keadaan baru dan bersih. Kenaikan bacaan Ph pada Ph meter disebabkan karena tidak atau kurang melakukan kalibrasi sebelum mengambil bacaan, elektroda yang kering atau battery yang lemah. Untuk menggunakannya, pertama sekali penutupnya dibuka. Lalu digeser ke tombol on dan direndam ke dalam larutan yang akan diuji pHnya tanpa meningkatkan level maximum yang ada pada Ph meter. Lalu tunggu sampai pHnya stabil dan lakukan pembacaan Ph (Chapter, 2010).

3.8.5 Tahap pembiakan bakteri *S. mutans* pada media BHI- A

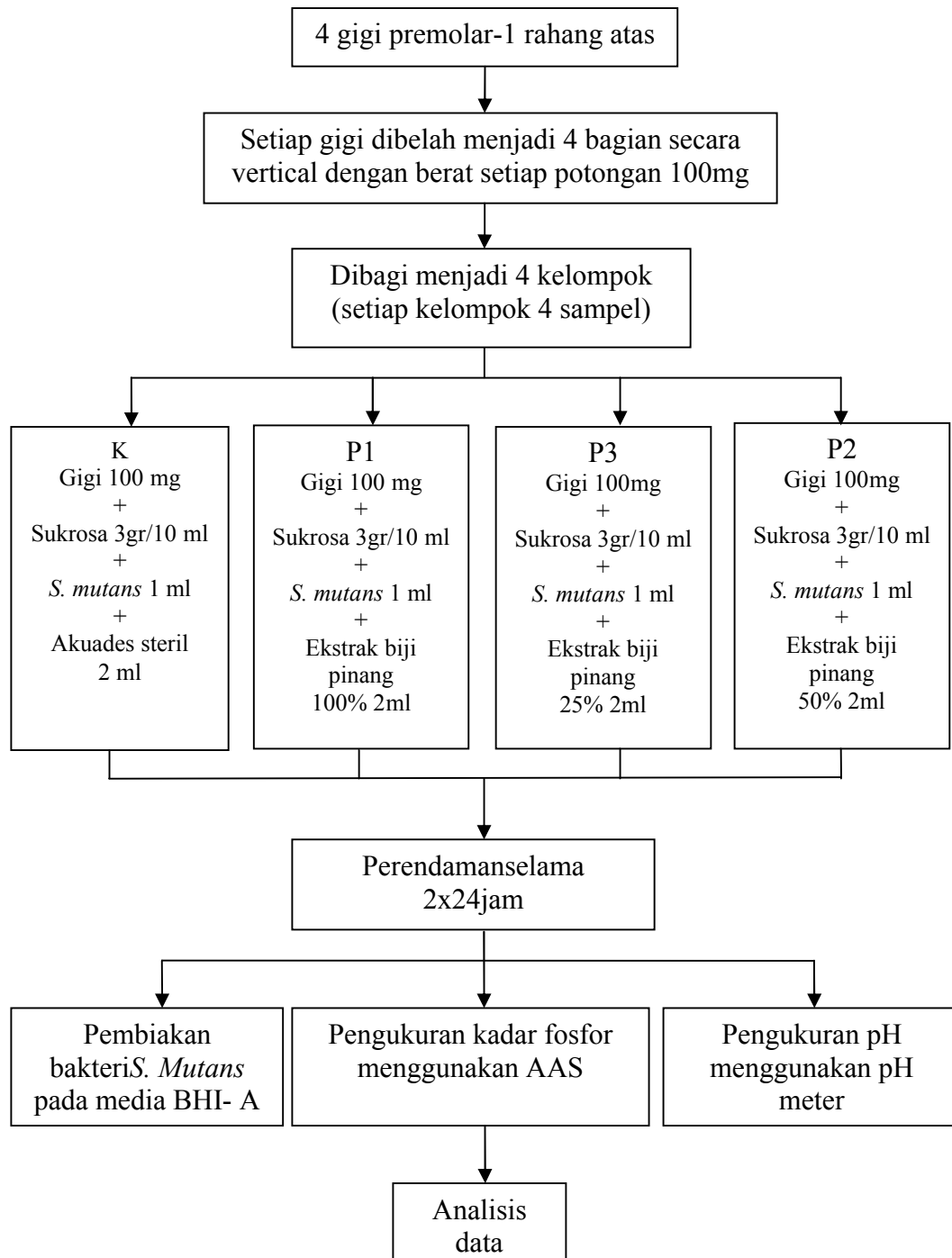
Dengan menggunakan teknik goresan (*streaking*): (a). Tuangkan media agar pada cawan petri yang steril kira-kira $\frac{3}{4}$ dari tinggi cawan petri, diamkan sampai dingin dan padat sehingga didapatkan lempeng agar. (b). Lempeng agar dibagi menjadi 3 daerah (I, II, III) membentuk huruf T dengan menggunakan spidol pada bagian luar dasar cawan petri. (c). Pijarkan ose dan dinginkan, kemudian secara aseptik ambil 1 mata ose sampel hasil perendaman dan gores daerah I permukaan lempeng agar dengan gerakan sinambung tanpa tekanan yang keras. (d). Pijarkan ose dan dinginkan, penggoresan kedua dimulai dengan melewati daerah I lebih dahulu dan dilanjutkan ke daerah II dengan goresan yang tidak serapat daerah I. (e). Pijarkan

ose dan dinginkan, penggoresan ketiga dimulai dengan melewati daerah II lebih dahulu dan dilanjutkan ke daerah III dengan goresan yang tidak serapat daerah II. (f). Masukkan cawan petri dalam inkubator dengan posisi terbalik untuk diinkubasikan pada suhu 37⁰C selama 24 jam (Gunadi, 2011).

3.9 Analisis Data

Data hasil penelitian akan dilakukan uji normalitas dengan *Kolmogorov-Smirnov test* dan uji homogenitas *Levene statistic test*. Kemudian diuji dengan *Analysis of Varians one-way annova* dengan derajat kemaknaan 95% ($\alpha= 0,05$), untuk menguji beda rata-rata kelarutan fosfor pada gigi setelah direndam dengan ekstrak biji pinang (*Areca catechu L.*). Dan dilakukan Uji *Least Significant Different* (LSD) derajat kemaknaan 95% ($p>0,05$).

3.10 Alur Penelitian

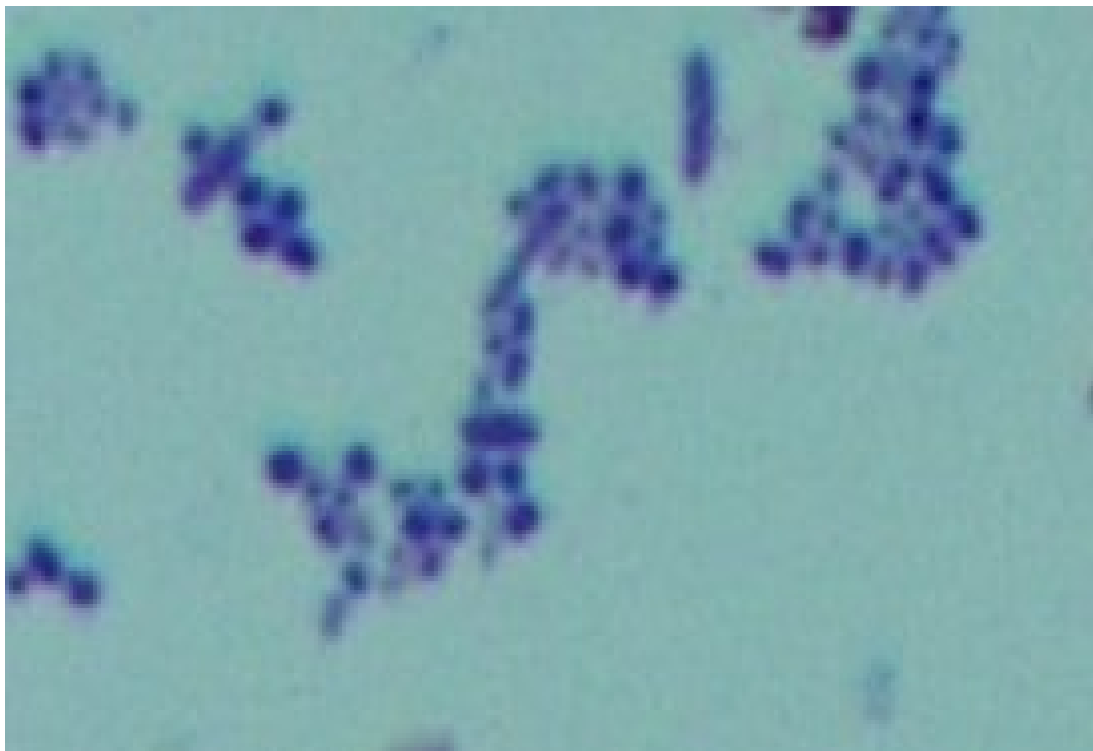


BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

4.1.1 Hasil Sub Kultur *Streptococcus mutans*

Pada penelitian ini bakteri yang digunakan adalah bakteri *Streptococcus mutans*. Setelah diinkubasi selama 24 jam dan dibuat preparat hapus dengan pewarnaan Gram, bakteri tampak berwarna ungu (Gram positif) dan bentuk bakteri yang seragam yaitu berbentuk bulat.



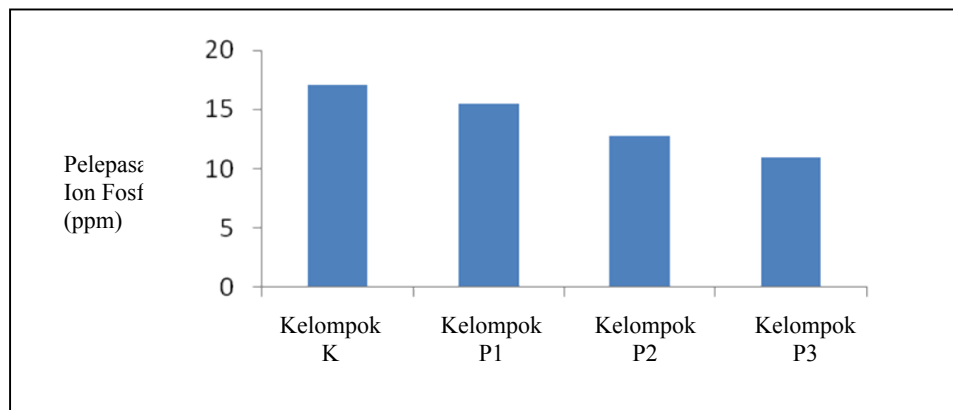
Gambar 4.1 Sediaan *S. mutans* terlihat berwarna ungu pada pemeriksaan mikroskopik sesuai dengan sifat *Streptococcus*, yaitu gram positif berbentuk kokus berpasangan atau berantai (Pengecatan Gram, pembesaran 1000x)

4.1.2 Hasil Pelepasan Ion Fosfor

Pengukuran pelepasan ion fosfor dilakukan setelah proses perendaman gigi 2x24 jam. Sebelum dilakukan pengukuran, potongan gigi pada masing-masing tabung perendaman diambil terlebih dahulu.

Tabel 4.1 Hasil Pengukuran Pelepasan Ion Fosfor pada Setiap Kelompok Sampel

No	Kelompok Perlakuan	Rata-rata Pelepasan Ion Fosfor (ppm) ($\bar{x} \pm SD$)
1.	Kontrol (akuades)	17,11 \pm 0,76
2.	Ekstrak biji pinang 100%	15,48 \pm 0,41
3.	Ekstrak biji pinang 50%	12,74 \pm 0,49
4.	Ekstrak biji pinang 25%	11,00 \pm 0,52



Gambar 4.2 Diagram batang rata-rata pelepasan ion fosfor pada proses demineralisasi gigi yang distimulasi *S. mutans* pada setiap kelompok setelah inkubasi selama 2x24 jam. (1). Kelompok K (Kontrol) yaitu: aquadest, *S. mutans*, sukrosa, dan gigi. (2). Kelompok P1 (Perlakuan 1) yaitu: ekstrak biji pinang 100%, *S. mutans*, sukrosa, dan gigi. (3). Kelompok P2 (Perlakuan 2) yaitu ekstrak biji pinang 50%, *S. mutans*, sukrosa, dan gigi. (3). Kelompok P3 (Perlakuan 3) yaitu ekstrak biji pinang 25%, *S. mutans*, sukrosa, dan gigi

Hasil analisa pelepasan ion fosfor pada proses demineralisasi gigi dengan menggunakan *Atomic Absorption Spectrophotometry* (AAS) menunjukkan bahwa kelompok kontrol (aquadest/ tanpa ekstrak biji pinang) mengalami pelepasan ion fosfor yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok perlakuan (dengan pem-

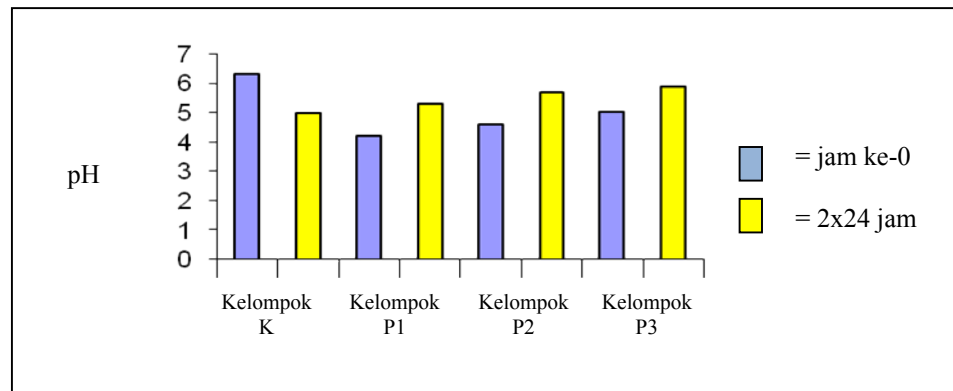
berian ekstrak biji pinang). Sedangkan jumlah pelepasan ion fosfor antar kelompok perlakuan, semakin tinggi konsentrasi biji pinang yang diberikan semakin tinggi pula jumlah pelepasan ion fosfornya, lihat Tabel 4.1 dan Gambar 4.2.

4.1.3 Hasil Pengukuran pH

Pengukuran pH pada sampel perendaman gigi dilakukan pada jam ke-0 dan setelah 2x24 jam proses perendaman gigi.

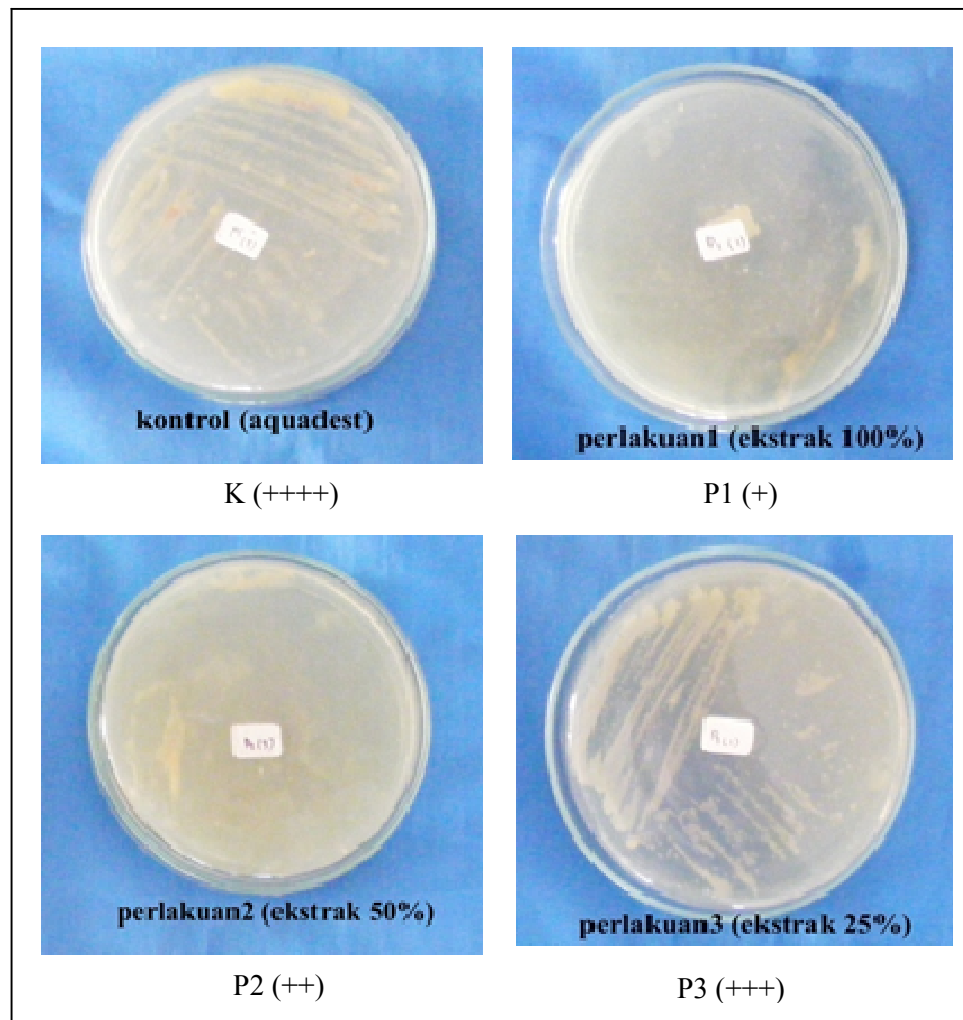
Tabel 4.2 Perbandingan Nilai Rata-rata pH pada Setiap Kelompok Sampel

No	Kelompok	Rata-rata pH	
		jam ke-0	2x24 jam
1.	Kontrol (akuades)	6,3	5,0
2.	Perlakuan 1 (Ekstrak biji pinang 100%)	4,3	5,3
3.	Perlakuan 2 (Ekstrak biji pinang 50%)	4,6	5,7
4.	Perlakuan 3 (Ekstrak biji pinang 25%)	5,1	5,9



Gambar 4.3 Diagram batang rata-rata nilai pH pada setiap kelompok setelah inkubasi 2x24jam pada proses demineralisasi gigi yang distimulasi *S. mutans*. (1). Kelompok K (Kontrol) yaitu: aquadest, *S. mutans*, sukrosa, dan gigi. (2). Kelompok P1 (Perlakuan 1) yaitu: ekstrak biji pinang 100%, *S. mutans*, sukrosa, dan gigi. (3). Kelompok P2 (Perlakuan 2) yaitu ekstrak biji pinang 50%, *S. mutans*, sukrosa, dan gigi. (3). Kelompok P3 (Perlakuan 3) yaitu ekstrak biji pinang 25%, *S. mutans*, sukrosa, dan gigi

Dapat dilihat pada Tabel 4.2 dan Gambar 4.3 hasil pengukuran pH pada kelompok kontrol mengalami penurunan sedangkan pada kelompok perlakuan mengalami peningkatan pH. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak biji pinang yang diberikan maka semakin rendah pH yang didapatkan.



Gambar 4.4 Hasil pembiakan *S. mutans* pada media BHI-A dari medium perendaman pada masing-masing kelompok percobaan (setelah inkubasi 2x24 jam). Kelompok K yang tidak diinkubasi biji pinang pertumbuhan *S. mutans* sangat banyak (++++), kelompok P1 dengan inkubasi biji pinang 100% pertumbuhan *S. mutans* sangat sedikit (+), kelompok P2 dengan inkubasi biji pinang 50% pertumbuhan *S. mutans* sedikit (++), kelompok P3 dengan inkubasi biji pinang 25% pertumbuhan *S. mutans* masih banyak (+++)

4.1.4 Hasil Pemiakan *Streptococcus mutans* pada Masing-masing Kelompok pada Media BHI-A

Pemiakan *S. mutans* pada media BHI-A dari hasil perendaman sampel didapatkan perbedaan pertumbuhan *S. mutans* antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Pada kelompok kontrol (tanpa pemberian ekstrak biji pinang) pertumbuhan bakteri sangat banyak, sedangkan pada kelompok perlakuan (dengan ekstrak biji pinang) pertumbuhan *S. mutans* lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok kontrol. Perbandingan pertumbuhan *S. mutans* antar kelompok perlakuan menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi pemberian ekstrak biji pinang semakin sedikit pula pertumbuhan bakteri pada media BHI-A, lihat Gambar 4.4.

4.2 Analisis Data

Analisis data hasil penelitian didahului dengan uji normalitas dan homogenitas data untuk mengetahui bahwa data terdistribusi normal dan homogen sebagai prasyarat dalam pengujian statistik parametrik. Data dilakukan uji normalitas dengan menggunakan *One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test*, diperoleh nilai yang signifikan yaitu 0,993 ($>0,05$), berarti data penelitian yang diperoleh pada masing-masing kelompok berdistribusi normal. Data penelitian kemudian dilanjutkan dengan menganalisa menggunakan uji homogenitas varian *Levene Test*, diperoleh hasil yang signifikan yaitu 0,272 ($>0,05$) yang berarti data berasal dari populasi (varian) yang sama atau homogen. Data penelitian diuji lebih lanjut dengan uji statistik parametrik. Uji statistik parametrik menggunakan uji *One Way Anova* untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang bermakna pada kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Hasil menunjuk kan jumlah pelepasan ion fosfor yang probabilitas .000 ($p<0,05$) yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna dalam tiap kelompok.

Untuk mengetahui tingkat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan dan perbedaan antar kelompok perlakuan, maka dilanjutkan dengan uji *LSD (Least Significant Different)* derajat kemaknaan 95% ($p>0,05$) dapat dilihat pada Tabel 4.3 dan Tabel 4.4.

Tabel 4.3 Perbandingan Pelepasan Ion Fosfor Kelompok Kontrol dan Kelompok dengan Pemberian Ekstrak Biji Pinang

Kelompok	Pelepasan Ion Fosfor ($\bar{x} \pm SD$)		
Kontrol (akuades)	17,11 \pm 0,76	17,11 \pm 0,76	17,11 \pm 0,76
Ekstrak biji pinang 100%	15,48 \pm 0,41	-	-
Ekstrak biji pinang 50%	-	12,74 \pm 0,49	-
Ekstrak biji pinang 25%	-	-	11,00 \pm 0,52
Signifikansi	p=0.001*	p=0,000*	p=0,000*

Keterangan : * = Ada perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

Data pada tabel 4.3 menunjukkan hasil uji *LSD (Least Significant Different)* rata-rata jumlah pelepasan ion fosfor pada gigi antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan yang diberi ekstrak biji pinang masing-masing menunjukkan hasil yang signifikansi ($p < 0,05$) artinya terdapat perbedaan yang bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan yang diberi ekstrak biji pinang. Dari tabel 4.4 dapat dilihat bahwa semua kelompok yang diberi ekstrak biji pinang memiliki perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$).

Tabel 4.4 Perbandingan Pelepasan Ion Fosfor pada Kelompok dengan Pemberian Ekstrak Biji Pinang

Kelompok	Pelepasan Ion Fosfor ($\bar{x} \pm SD$)		
Ekstrak biji pinang 100%	15,48 \pm 0,41	15,48 \pm 0,41	-
Ekstrak biji pinang 50%	12,74 \pm 0,49	-	12,74 \pm 0,49
Ekstrak biji pinang 25%	-	11,00 \pm 0,52	11,00 \pm 0,52
Signifikansi	p=0,000*	p=0,000*	p=0,001*

Keterangan : * = Ada perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

4.3 Pembahasan

Penelitian *eksperimental laboratories* ini dilakukan untuk mengetahui inhibisi ekstrak biji pinang (*Areca catechu* L.) dengan konsentrasi 100%, 50%, dan 25% terhadap pelepasan ion fosfor pada proses demineralisasi gigi yang distimulasi

S. mutans. Dengan melakukan pengamatan jumlah pelepasan ion fosfor menggunakan *Atomic Absorption Spectrophotometry* (AAS), serta pengukuran pH dengan menggunakan pH meter, dilakukan juga pembiakan hasil perendaman pada media BHI-A untuk mengetahui kandungan ekstrak biji pinang sebagai antibakteri yang dapat menghambat proses demineralisasi pada gigi yang mempengaruhi pelepasan ion fosfor. Dari hasil yang telah didapat, dapat dibandingkan: (1). Jumlah pelepasan ion fosfor dan perubahan nilai pH antara kelompok kontrol yang hanya diberi akuades steril dengan kelompok yang diberi ekstrak biji pinang konsentrasi 100%, 50%, dan 25%. (2). Jumlah pelepasan ion fosfor dan perubahan nilai pH antara kelompok perlakuan yang diberi ekstrak biji pinang.

Perbandingan jumlah pelepasan ion fosfor dan perubahan nilai pH antara kelompok kontrol yang hanya diberi akuades steril dengan kelompok yang diberi ekstrak biji pinang konsentrasi 100%, 50%, dan 25%. Dari hasil penelitian yang didapatkan jumlah pelepasan ion fosfor pada kelompok kontrol lebih tinggi dibandingkan dengan jumlah pelepasan ion fosfor pada kelompok perlakuan. Nilai rata-rata pelepasan ion fosfor tertinggi sebesar 17,11 *ppm* terdapat pada kelompok kontrol yaitu kelompok yang tanpa pemberian ekstrak biji pinang (*Areca catechu* L) dengan rata-rata pH pada jam ke 0 sebesar 6,3 dan turun menjadi 5,0 setelah perendaman 2x24 jam. Penurunan pH yang terus-menerus akan menyebabkan demineralisasi gigi (Kidd, 1990). Demineralisasi dapat terjadi bila enamel berada dalam suatu lingkungan pH di bawah 5,5 (Prasetyo, 2005). Pada kelompok kontrol, penurunan pH yang terjadi disebabkan karena tidak adanya penghambat kegiatan metabolisme dari *S. mutans* sehingga jumlah pelepasan ion fosfor tinggi. Aktivitas *S. mutans* memfermentasikan sukrosa menyebabkan suasana asam dan pH menurun.

Sedangkan pada kelompok perlakuan dengan penambahan ekstrak biji pinang didapatkan hasil jumlah pelepasan ion fosfor yang lebih rendah dibandingkan dengan jumlah pelepasan ion fosfor pada kelompok kontrol. Pada pengukuran pH dari kelompok perlakuan dari jam ke-0 hingga lama perendaman 2x24 jam, nilai pH mengalami kenaikan. Hal ini disebabkan karena ekstrak biji pinang dapat meng-

hambat aktivitas metabolisme *S. mutans* sebagai antibakteri dan mempengaruhi jumlah pelepasan ion fosfor. Bakteri akan menghasilkan asam dan melarutkan kristal apatit di permukaan email sehingga terjadi proses demineralisasi (Rimawati, 2010).

Dari hasil uji antibakteri pada biji pinang pada media BHI-A didapatkan perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Pertumbuhan bakteri pada kelompok kontrol sangat padat, berbeda dengan pertumbuhan bakteri pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak biji pinang terlihat lebih sedikit. Pertumbuhan yang paling sedikit bahkan hampir tidak ada terdapat pada bahkan kelompok perlakuan 1 yang diberi ekstrak biji pinang dengan konsentrasi 100%. Hal ini sesuai dengan analisa sebelumnya tanaman pinang mengandung sejumlah komponen utama senyawa berbasis Selenium (Se) sebagai antibakteri dan mengandung senyawa bioaktif yaitu flavonoid di antaranya tanin, yang dapat menguatkan gigi (Bartholomew, 2010). Oleh karena itu, jumlah pelepasan ion fosfor pada kelompok perlakuan (dengan pemberian ekstrak biji pinang) didapatkan hasil yang lebih rendah daripada kelompok kontrol (tanpa pemberian ekstrak biji pinang). Hal ini disebabkan karena pengaruh biji pinang sebagai anti bakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri, sehingga derajat keasaman (pH) tetap terjaga dan proses pelepasan ion fosfor (demineralisasi) tidak terjadi.

Perbandingan jumlah pelepasan ion fosfor dan perubahan nilai pH antar kelompok perlakuan yang diberi ekstrak biji pinang konsentrasi 100%, 50%, dan 100%. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa konsentrasi ekstrak biji pinang (*Areca catechu* L.) yang semakin tinggi dapat menyebabkan penurunan pH, sehingga jumlah pelepasan ion fosfor menjadi semakin tinggi pada konsentrasi ekstrak biji pinang yang semakin tinggi pula. Dari pengukuran pH pada ekstrak biji pinang (*Areca catechu* L.) mempunyai sifat asam, semakin tinggi konsentrasi ekstrak biji pinang maka semakin asam (dapat dilihat pada Lampiran). Erosi gigi merupakan demineralisasi jaringan keras gigi yang disebabkan oleh asam, namun penyebabnya adalah asam dari makanan-minuman yang secara langsung berkontak dengan gigi tanpa aktivitas bakteri (Chapter,2010).

Perlu diperhatikan dalam penggunaan konsentrasi dari ekstrak biji pinang (*Areca catechu* L.), karena sifat dari biji pinang (*Areca catechu* L.) itu sendiri adalah asam, akan tetapi biji pinang (*Areca catechu* L.) mempunyai daya hambat pertumbuhan bakteri yang mengandung tanin. Tanin 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). Dapat disimpulkan bahwa sifat antibakteri ini juga yang dapat mengurangi jumlah pelepasan ion fosfor dibandingkan dengan kelompok kontrol yang tidak diberi ekstrak biji pinang, hal ini disebabkan oleh karena produksi asam oleh *S. mutans* direduksi sehingga pH nya meningkat.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk membuktikan bahwa inhibisi ekstrak biji pinang efektif terhadap pelepasan ion fosfor pada proses demineralisasi gigi yang distimulasi *S. mutans*. Biji pinang dapat digunakan bersama sirih dan kapur, yang berkhasiat untuk menguatkan gigi. Air rebusan biji pinang juga digunakan sebagai obat kumur dan penguat gigi (Bartholomew, 2010). Pada hasil penelitian ini konsentrasi ekstrak biji pinang yang paling efektif digunakan yaitu konsentrasi 25%, karena pelepasan ion fosfor yang terjadi paling rendah. Selain disebabkan karena daya antibakteri yang dimiliki ekstrak biji pinang, hal ini disebabkan pH yang dihasilkan dengan pemberian ekstrak biji pinang 25% tidak terlalu asam dibandingkan pemberian ekstrak biji pinang 50% dan ekstrak biji pinang 100%.

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

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

5.2 Saran

1. Dalam keseharian, biji pinang (*Areca catechu* L.) dapat digunakan sebagai obat kumur dan penguat gigi .
2. Ekstrak biji pinang bersifat asam sehingga perlu diperhatikan konsentrasi yang efektif dalam implikasi klinisnya.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai bahan-bahan lain yang perlu ditambahkan dalam pengaplikasian biji pinang agar pH tidak asam.

DAFTAR BACAAN

- Anonim. 2008. *Tooth Enamel Demineralization* [online]. <http://www.toothiq.com>. [26 Desember 2010].
- Anonim. 2010. *Demineralization and Remineralization* [online]. [http:// mizar5. com/ restore.html](http://mizar5.com/restore.html). [26 Desember 2010].
- Anonim. 2011. Karbohidrat. [serial on line]. [http://wanenoor.blogspot.com/2011/06/ pengertian-karbohidratklasifikasi.html](http://wanenoor.blogspot.com/2011/06/pengertian-karbohidratklasifikasi.html) [1 Januari 2012]
- Asra, I. K. 2010. *Mass Media Competition Gerakan Nasional Senyum Indonesia Senyum Pepsodent* [on line]. [http:/ wordpress.com](http://wordpress.com). [29 November 2010].
- Litbang, Balitro. 2010. *Demineralisasi* [online]. [http: //balitro. Litbang . Deptan. Go. Id/index. Php?option=com_content &task= view & id=76&Itemid=38](http://balitro.Litbang.Deptan.Go.Id/index.Php?option=com_content&task=view&id=76&Itemid=38). [29 Maret 2010].
- Barthlomew, A. 2010. *Kombucha Tea Therapy* [online]. [www. positivehealth. com. html](http://www.positivehealth.com.html). [15 Mei 2010].
- Bintang, Maria. 2008. *Pengaruh Asam Asetat Terhadap Erosi Gigi*. Bandung : FMIPA-IPB.
- Chapter. 2010. *Demineralisasi* [online]. [http:// repository. usu. pdf](http://repository.usu.pdf). [15 Mei 2010].
- Daniel, W. 2005. *Biostatistic A Foundation 4 Analysis in the Health Science*. Eight Edition. Georgia : Willey.
- Depkes RI, 1989, *MateriaMedika Indonesia*, Jilid V, p. 55-58.
- Ellis, D.R. and D.E. Salt. 2003. *Plant, selenium and human health*. *Current Opinion in Plant Biology* 6273-279.
- Ford, T.R.P. 1993. *Restorasi Gigi (The Restoration of Teeth)*. Penerjemah : Sumawinata, N. Edisi ke-2. JakartaEGCPenerbitBukuKedokteran.
- Gunadi, Achmad. 2011. *Petunjuk dan Laporan Praktikum Mikrobiologi Blok Sistem Tubuh III*. Jember: Universitas Jember.

- Kidd, E. A. M, *et all.* 1990. *Pickard's Manual Of Operative Dentistry*. New York : Oxford University Press.
- 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, Sutrisno. 2009. *Makanan Bergula dan Kerusakan Gigi* [online]. <http://www.Ebook.pangan.com> [26 Desember 2010].
- Linder, M.C. 1992. *Biokimia Nutrisi dan Metabolisme dengan Pemahaman secara Klinis*. Penerjemah Parakkasi, A. Jakarta UI Press.
- Lee, K.K., and Choi, J.D. 1999. The Effects of Areca Catechu L Extract on Anti-Inflammation and Anti-Melanogenesis. *International Journal of Cosmetic Science* 21(4):275-284.
- Menik. 2010. *Peranan Fosfor bagi Tubuh Manusia* [on line]. <http://id.shvoong.com/medicine-and-health/nutrition/2059082-peranan-fosfor-bagi-tubuh-manusia/>. [15 Desember 2010].
- Najib, Ahmad. 2009. Tanin. [serial on line]. <http://www.nadjeeb.wordpress.com>. [18 November 2011].
- Ningsih, Indah Yulia, dkk. 2009. *Buku Petunjuk Praktikum Fitokimia*. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Nolte, A. W. 1982. *Oral Microbiology with Basic Microbiology and Immunology*. 4th Edition. London: CV Mosby Company.
- Notoatmodjo, Soekidjo. 2005. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: PT. Asdi Mahasatya.
- Nugraha, A. W. 2007. *Streptococcus mutans, Plak Dimana-mana*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta.
- Pelczar, M.J. dan E.C.S. Chan. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi I*. Penerjemah Siri, R. Jakarta UI Press.
- Prasetyo, Edhie Arif. 2005. *Keasaman Minuman Ringan Menurunkan Kekerasan Permukaan Gigi*. *Dental Journal* Vol 38 (2) : 60-63.

- Pratiwi, I. 2009. *Uji Antibakteri Ekstrak Kasar Daun Acalycha Indica Terhadap Bakteri Salmonella choleraesuis dan Salmonella tythimurium*. Skripsi. Surakarta: Jurusan Biologi FMIPA UNS.
- Rimawati, H. 2010. *Pencegahan Penyakit Gigi [on line]*. [www. Suara - muhamadiyah. com](http://www.Suara-muhamadiyah.com). [4 Februari 2010].
- Riyanto. 2009. *Spektrofotometer Serapan Atom*. Jakarta : Lab Terpadu Universitas Islam Indonesia.
- Scalbert. 2010. *Antimicrobial Properties of Tannins [on line]*. [http://grande. nal. usda. goy/ibids/index.php](http://grande.nal.usda.gov/ibids/index.php) [23Februari 2011].
- Syamsuhidayat, S.S., Hutapea, J.R., 1991, Inventaris Tanaman Obat Indonesia, Balitbang Departemen Kesehatan, Vol I: 64-65.
- Weatherell, J. A. 2000. *Composition Of Dental Enamel [online]*. [http://www . bmb. Oxford-journals. org](http://www.bmb.Oxford-journals.org) [21 Januari 2011].
- Wikipedia. 2010. *Streptococcus [online]*. <http://en.wikipedia.org/wiki/streptococcus>. [1 Januari 2011].
- Wikipedia. 2011. *Eksperiment Laboratorium Terkontrol [online]*. [http:// id. Wiki- pedia.org/ wiki/ laboratorium_ terkontrol](http://id.Wikipedia.org/wiki/laboratorium_terkontrol). [05 Januari 2011].

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. Pengamatan Hasil Trial

Tabel B.1 Pengamatan Hasil Trial Nilai pH Hasil Perendaman pada Proses Demineralisasi Gigi yang Distimulasi *S. mutans*

Sampel	<i>S. mutans</i> (sel/ml)	Sukrosa (gr/ml)	Hari ke	pH
1	3×10^{-6}	1	2 (2x24 jam)	5,7
2	3×10^{-6}	2	2 (2x24 jam)	5,1
3	3×10^{-6}	3	2 (2x24 jam)	5,0
4	3×10^{-8}	1	2 (2x24 jam)	5,4
5	3×10^{-8}	2	2 (2x24 jam)	5,6
6	$*3 \times 10^{-8}$	*3	*2 (2x24 jam)	*4,6

Keterangan:

(*) = Hasil yang dipakai dalam penelitian (pH kritis terjadinya karies gigi).

Lampiran C. Tabulasi Data

Tabel C.1 Nilai Pelepasan Ion Fosfor Masing-masing Sampel pada Proses Demineralisasi Gigi yang Distimulasi *S.mutans*

No.	Kode Sampel	Absorbansi	P ₂ O ₅ (ppm)	Pengenceran (20x)	P (ppm)
1	K (1)	0,181	2,06122449	41,2244898	18,00196061
2	K (2)	0,165	1,897959184	37,95918367	16,57606274
3	K (3)	0,175	2	40	17,46724891
4	K (4)	0,163	1,87755102	37,55102041	16,39782551
5	P1 (1)	0,155	1,795918367	35,91836735	15,68487657
6	P1 (2)	0,158	1,826530612	36,53061224	15,95223242
7	P1 (3)	0,15	1,744897959	34,89795918	15,23928349
8	P1 (4)	0,148	1,724489796	34,48979592	15,06104625
9	P2 (1)	0,128	1,520408163	30,40816327	13,27867391
10	P2 (2)	0,119	1,428571429	28,57142857	12,47660636
11	P2 (3)	0,125	1,489795918	29,79591837	13,01131806
12	P2 (4)	0,116	1,397959184	27,95918367	12,20925051
13	P3 (1)	0,103	1,265306122	25,30612245	11,05070849
14	P3 (2)	0,101	1,244897959	24,89795918	10,87247126
15	P3 (3)	0,096	1,193877551	23,87755102	10,42687817
16	P3 (4)	0,11	1,336734694	26,73469388	11,67453881

Tabel C.2 Nilai Pelepasan Ion Fosfor pada Masing-masing Konsentrasi Ekstrak Biji Pinang

No	Kode Sampel	Absorban	P ₂ O ₅ (ppm)	Pengenceran	P (ppm)
1	25%	0,013	0,260869565	5,217391304	2,278336814
2	50%	0,032	0,673913043	13,47826087	5,885703436
3	100%	0,274	5,934782609	1186,956522	518,3216252

Lampiran D. Uji Statistik

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kontrol	Perlakuan 1	Perlakuan 2	Perlakuan 3
N		4	4	4	4
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	17.1050	15.4800	12.7375	11.0025
	Std. Deviation	.75818	.40817	.48931	.51790
Most Extreme Differences	Absolute	.260	.230	.211	.213
	Positive	.260	.230	.208	.213
	Negative	-.180	-.188	-.211	-.151
Kolmogorov-Smirnov Z		.520	.460	.422	.427
Asymp. Sig. (2-tailed)		.950	.984	.994	.993

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Pelepasan Ion

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.472	3	12	.272

Oneway

ANOVA

Pelepasan Ion

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	89.536	3	29.845	95.575	.000
Within Groups	3.747	12	.312		
Total	93.283	15			

Descriptives

Pelepasan Ion

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol	4	17.1050	.75818	.37909	15.8986	18.3114	16.39	18.00
Perlakuan 1	4	15.4800	.40817	.20408	14.8305	16.1295	15.06	15.95
Perlakuan 2	4	12.7375	.48931	.24466	11.9589	13.5161	12.20	13.27
Perlakuan 3	4	11.0025	.51790	.25895	10.1784	11.8266	10.42	11.67
Total	16	14.0813	2.49377	.62344	12.7524	15.4101	10.42	18.00

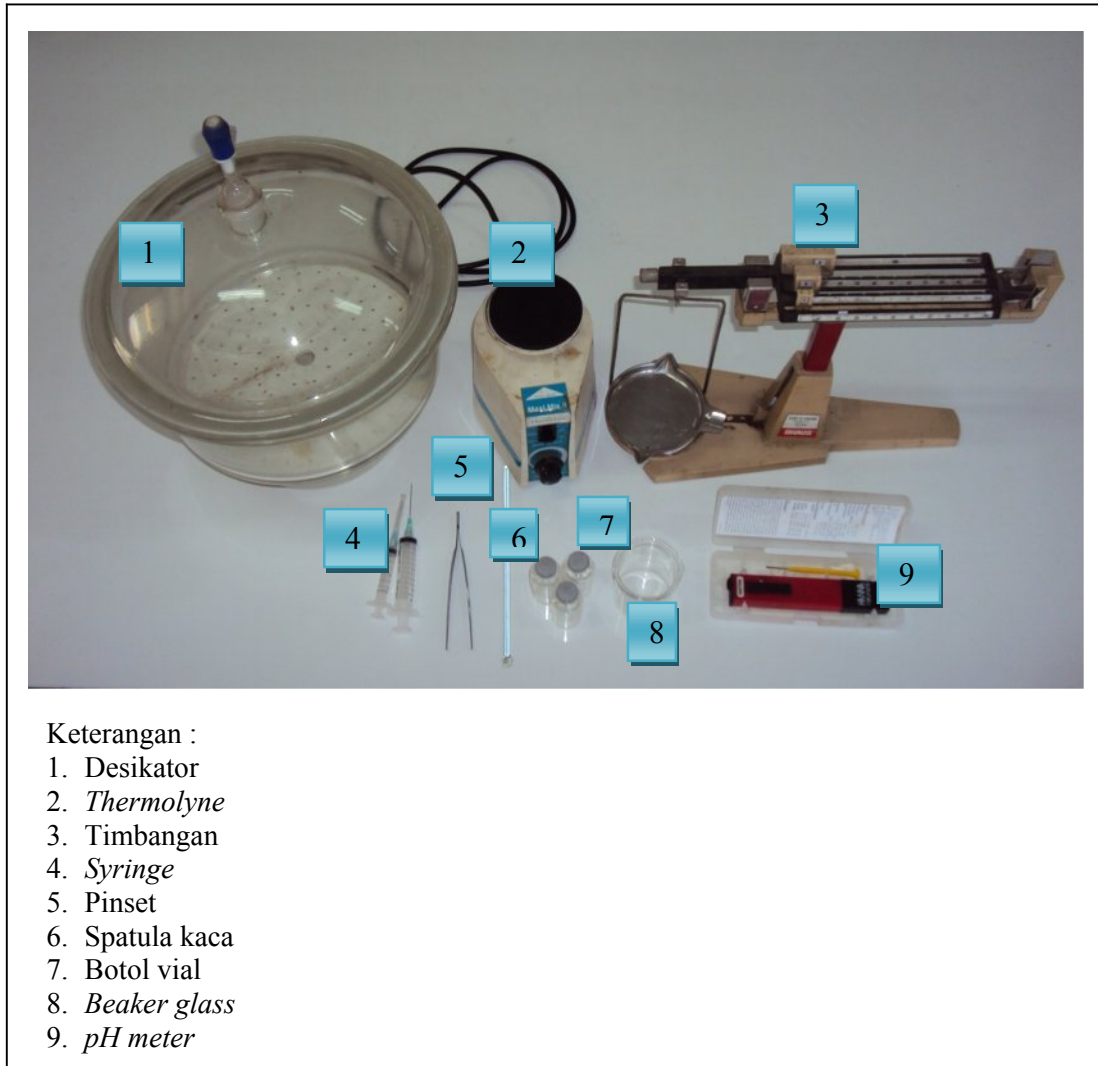
Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

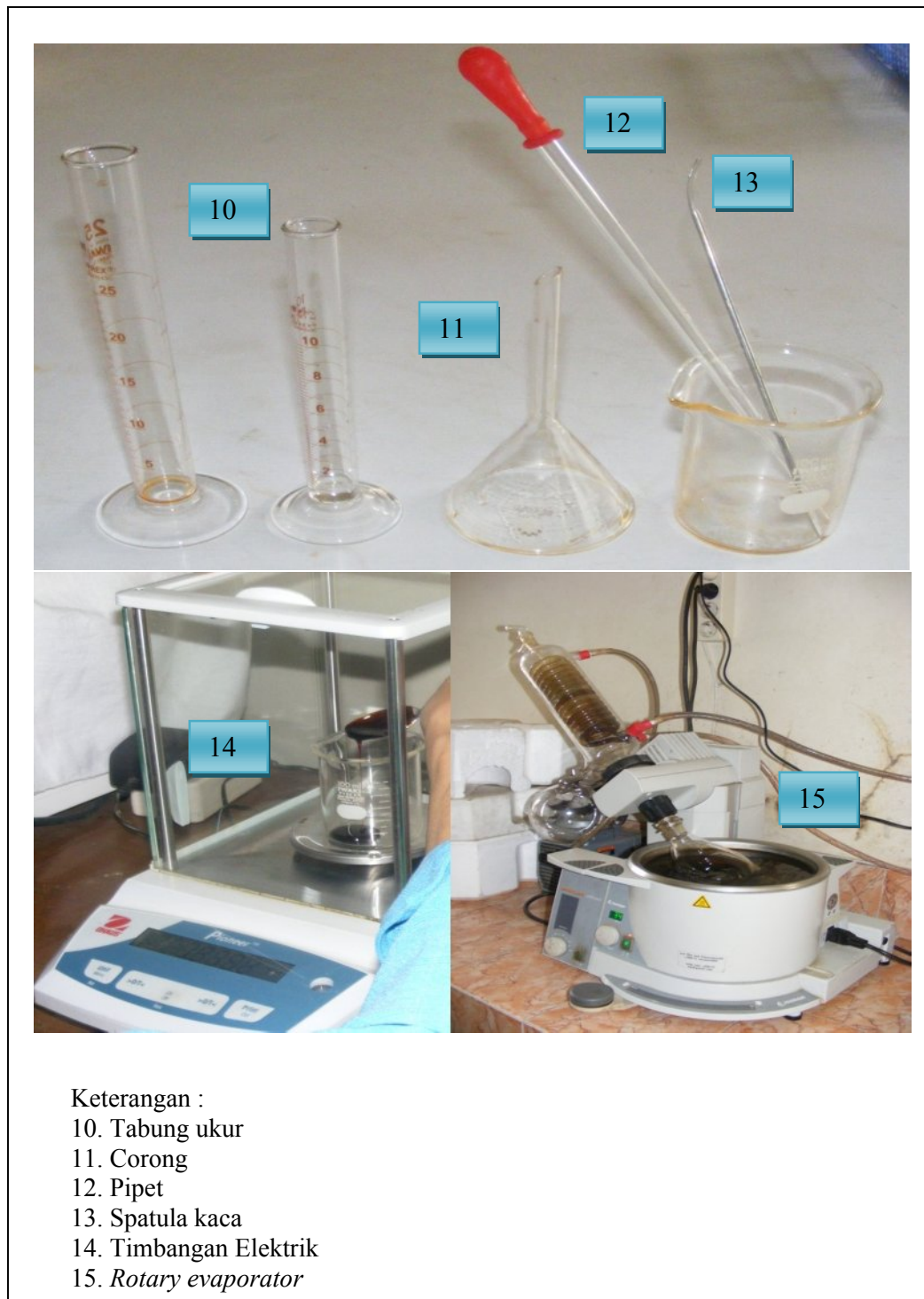
Dependent Variable: Pelepasan Ion

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
					Lower Bound	Upper Bound	
LSD	Kontrol	Perlakuan 1	1.6250*	.39514	.001	.7641	2.4859
		Perlakuan 2	4.36750*	.39514	.000	3.5066	5.2284
		Perlakuan 3	6.10250*	.39514	.000	5.2416	6.9634
	Perlakuan 1	Kontrol	-1.62500*	.39514	.001	-2.4859	-.7641
		Perlakuan 2	2.74250*	.39514	.000	1.8816	3.6034
		Perlakuan 3	4.47750*	.39514	.000	3.6166	5.3384
	Perlakuan 2	Kontrol	-4.36750*	.39514	.000	-5.2284	-3.5066
		Perlakuan 1	-2.74250*	.39514	.000	-3.6034	-1.8816
		Perlakuan 3	1.73500*	.39514	.001	.8741	2.5959
Perlakuan 3	Kontrol	-6.10250*	.39514	.000	-6.9634	-5.2416	
	Perlakuan 1	-4.47750*	.39514	.000	-5.3384	-3.6166	
	Perlakuan 2	-1.73500*	.39514	.001	-2.5959	-.8741	

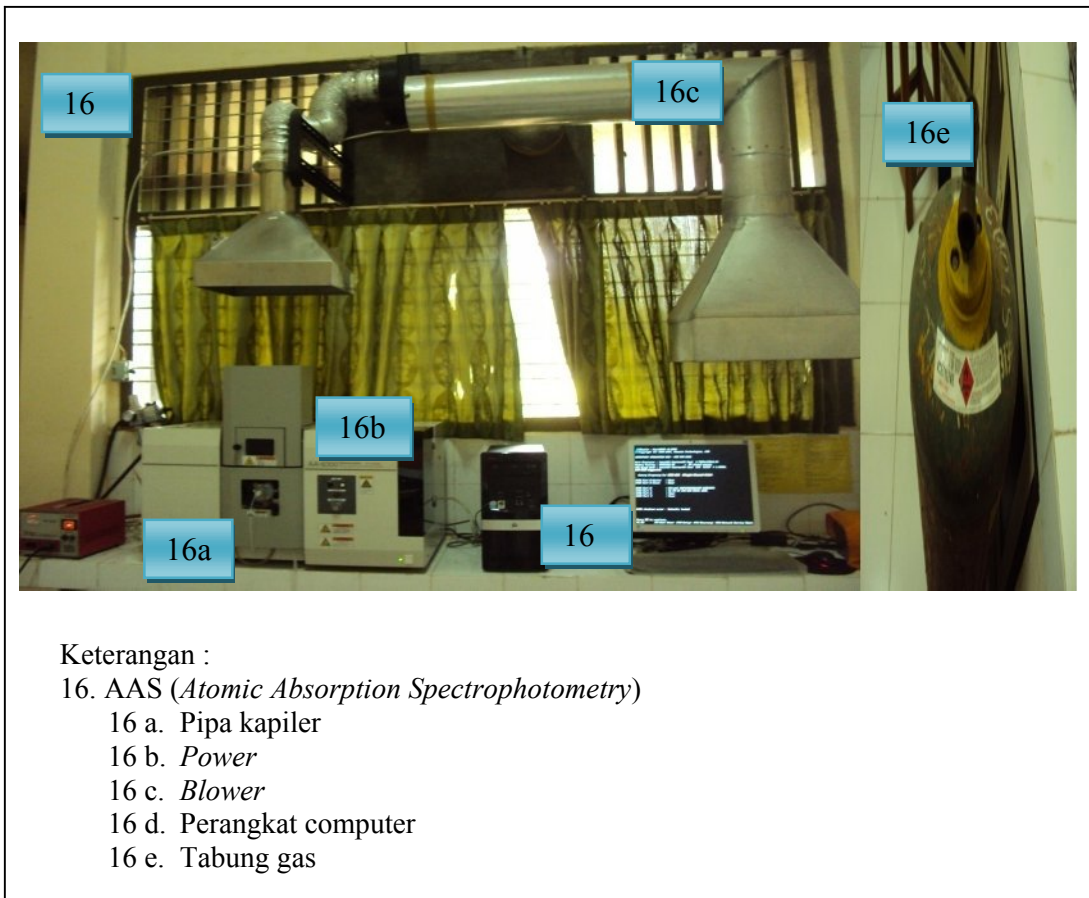
*. The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran E. Foto Penelitian

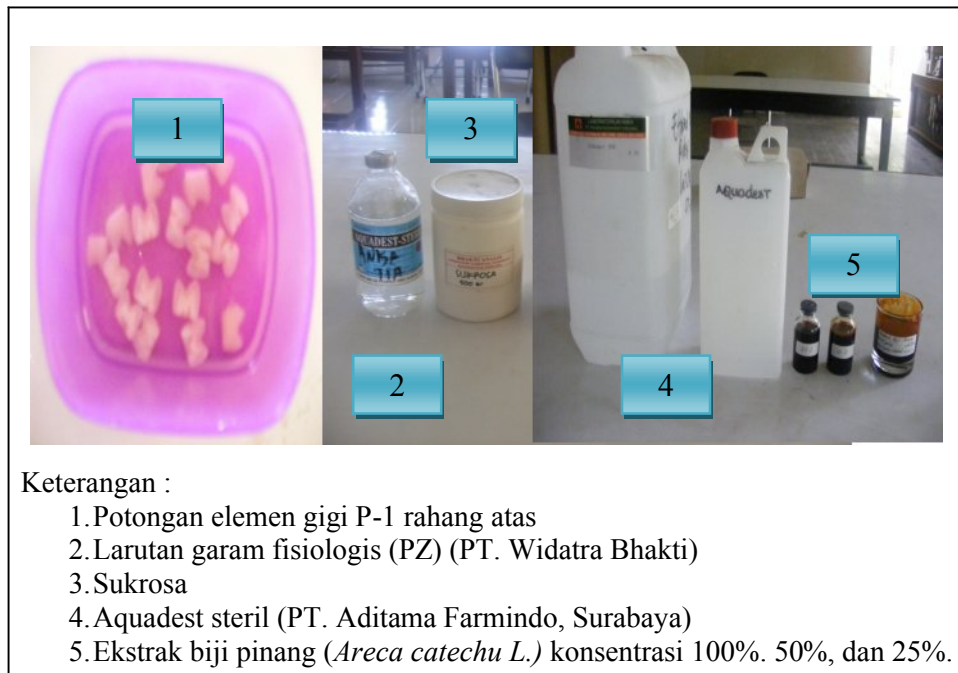
Gambar E.1 Alat-alat Penelitian



Gambar E.2 Alat-alat Pembuatan Ekstrak Biji Pinang



Gambar E.3 AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometry*)



Gambar E.4 Bahan-bahan Penelitian

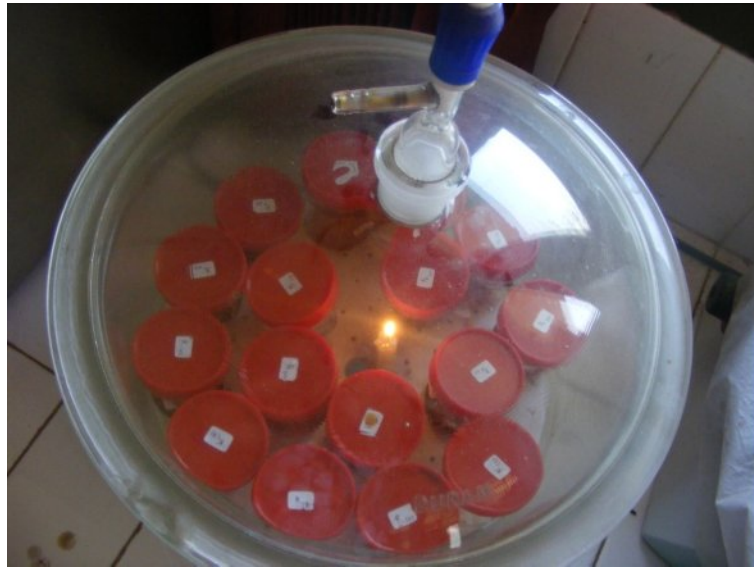
Gambar E.5 Proses Absorbansi Bakteri *Streptococcus mutans*



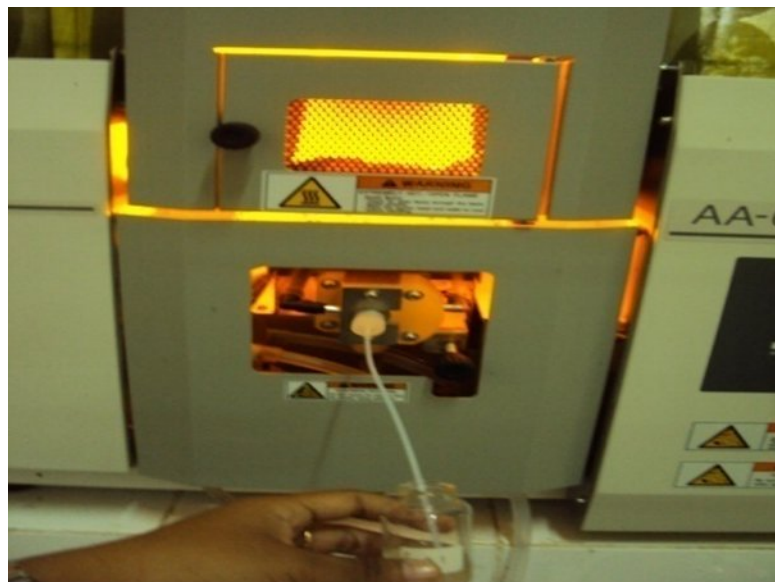
Gambar E.6 Proses Pembuatan Ekstrak Biji Pinang (*Areca catechu* L.)



Gambar E.7 Suspensi Bakteri *Streptococcus mutans* dan Ekstrak Biji Pinang (*Areca catechu* L.) Dalam *Laminar Flow*



Gambar E.8 Proses Perendaman Elemen Gigi Dalam Desikator



Gambar E.9 Pengukuran Kadar Ion Fosfor (P) Dengan Menggunakan AAS



Gambar E.10 Pengukuran pH Dengan pH Meter