



**UJI DAYA ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN SALAM
(*Eugenia polyantha* Wight) DALAM PASTA GIGI TERHADAP
PERTUMBUHAN *Streptococcus mutans***

SKRIPSI

Oleh

**Angger Waspodo Dias Adrianto
NIM 0516101012**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2012**



**UJI DAYA ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN SALAM
(*Eugenia polyantha Wight*) DALAM PASTA GIGI TERHADAP
PERTUMBUHAN *Streptococcus mutans***

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan studi pada Fakultas Kedokteran Gigi (S-1)
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi

Oleh
AnggerWaspodo Dias Adrianto
NIM 051610101012

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2012**

PERSEMBAHAN

Kupersembahkan karya tulis ini untuk:

1. Allah SWT tidak ada daya dan kekuatan kecuali karena Allah Yang Maha Agung;
2. Ayahanda dan Ibunda tercinta, Dadi Martopo dan Titi Asti, terima kasih atas doa tulus yang tak terhingga, bimbingan disetiap langkahku;
3. Saudaraku, Bayu Ganjar Hudoyo, Agus Priyo Murdoko dan Puguh Joko Nugroho yang selalu memberikan doa, dukungan, dan menjadi pembangkit semangatku;
4. Sahabat dan teman-teman terbaikku yang setia mendampingi dalam susah dan senangku, member semangat dan dukungan.
5. Almamater yang kubanggakan.

MOTTO

Sesungguhnya beserta kesukaran ada kemudahan. Maka apabila engkau telah selesai (dari suatu urusan maka kerjakanlah (urusan lain) dengan sungguh-sungguh. Dan hanya kepada Tuhanmu hendaklah engkau berharap.^{*)}

Keduanya berkata, ” Ya Tuhan kami, kami telah menganiayadiri kami sendiri dan sekiranya Engkau tidak mengampuni kami dan member rahmat kepada kami, tentulah kami termasuk orang-orang yang merugi”.^{*)}

Mengalirlah di sekitar kesulitan, jangan menentang mereka. Berhentilah bersikukuh dengan kepribadianmu, dan lihatlah semua makhluk seolah mereka adalah dirimu. Jangan berjuang meraih sukses. Tunggulah saat yang tepat. Diamlah, dan biarkan lumpur mengendap. Tetaplah diam, sampai tiba waktunya untuk bertindak.^{**)}

^{*)}Markas Besar TNI AD. 1997. *Al-Quran Terjemah Indonesia*. Jakarta: TNI AD

^{**)} Tzu, Lao. 2000. *Tao Te Ching*, terjemahan T. Freke, pengantar oleh M. Palmer. London: Piatkus

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : AnggerWaspodo Dias Adrianto

NIM : 051610101012

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Uji Daya Antibakteri Ekstrak Daun Salam (*Eugenia polyantha* Wight) dalam Pasta Gigi terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*” adalah benar-benar hasil karya saya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 10 Februari 2012

Yang Menyatakan,

Angger Waspodo Dias Adrianto

051610101012

SKRIPSI

UJI DAYA ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN SALAM (*Eugenia polyantha* Wight) DALAM PASTA GIGI TERHADAP PERTUMBUHAN *Streptococcus mutans*

Oleh

Angger Waspodo Dias Adrianto
NIM 051610101012

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : drg. Agus Sumono, M.Kes

Dosen Pembimbing Anggota : drg. Amiyatun Naini, M.Kes

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Uji Daya Antibakteri Ekstrak Daun Salam (*Eugenia polyantha Wight*) dalam Pasta Gigi terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*” telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal :Kamis, 16 Februari 2012

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Tim penguji

Ketua,

drg. AgusSumono, M.Kes

NIP. 196804012000121001

Anggota I,

Anggota II,

drg. Amiyatun Naini, M.Kes
NIP. 197112261999032001

drg.Agustin Wulan Suci D. MD.Sc.
NIP. 197908142008122003

Mengesahkan
Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember

drg. Hj. Herniyati, M.Kes
NIP. 195909061985032001

RINGKASAN

Uji Daya Antibakteri Ekstrak Daun Salam (*Eugenia polyantha* Wight) dalam Pasta Gigi terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*; Angger Waspo D. Dias Adrianto, 051610101012, 2012, 57 Halaman. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyakit gigi dan mulut yang banyak ditemukan pada masyarakat adalah karies gigi. Karies gigi merupakan suatu penyakit jaringan keras gigi yaitu enamel, dentin dan sementum yang disebabkan aktivitas meragikan karbohidrat oleh suatu mikroorganisme, ditandai adanya dekalsifikasi enamel. Mikroorganisme yang berperan penting pada karies gigi adalah *Streptococcus mutans*. Karies gigi dapat dicegah dengan menggosok gigi. Penambahan antibakteri pada pasta gigi dapat mengurangi jumlah bakteri penyebab karies. Beberapa bahan anti bakteri yang biasa ditambahkan dalam pasta gigi antara lain fluor, triklosan dan sodium monofosfat. Pada penelitian ini, peneliti ingin mengembangkan pasta gigi alternatif dengan ekstrak daun salam sebagai bahan antibakterinya.

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan penelitian *post test only control group design*. Konsentrasi ekstrak daun salam yang digunakan dalam penelitian ini adalah 20%, 30%, 40%, 50%, 60%. Konsentrasi tersebut lalu dicampur dengan pasta gigi placebo sehingga menjadi pasta gigi ekstrak daun salam dengan berbagai konsentrasi. Pasta gigi ekstrak daun salam kemudian diujikan pada media lempeng agar yang sudah terdapat biakan *Streptococcus mutans*. Tahap terakhir adalah penghitungan zona hambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*. Selain itu terdapat pasta gigi herbal daun sirih sebagai kontrol positif dan pasta gigi placebo sebagai kontrol negatif.

Hasil penelitian ini menunjukkan zona hambatan yang terbentuk adalah 8,45 mm (60%), 8,06 mm (50%), 7,74 mm (40%), 6,95 mm (30%), dan 6,59 mm (20%).

Hal ini disebabkan oleh semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun salam semakin banyak pula kandungan bioaktif antibakteri. Bahan bioaktif daun salam mampu mendenaturasikan molekul-molekul protein dan asam nukleat. Hal ini akan menyebabkan koagulasi dan pembekuan protein, akhirnya akan terjadi gangguan metabolisme dan fungsi fisiologis bakteri.

Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun salam dalam pasta gigi dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*

PRAKATA

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa karena atas karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah yang berjudul "Uji Daya Antibakteri Ekstrak Daun Salam (*Eugenia polyantha* Wight) dalam Pasta Gigi terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*". Karya tulis ilmiah ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan strata (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 yang tiada terhingga kepada:

1. drg.Hj. Herniyati, M.Kes, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember;
2. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp. Pros. selaku Pembantu Dekan I terima kasih atas segala motivasi dan dukungan yang telah diberikan;
3. drg. AgusSumono, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Utama dan drg. AmiyatunNaini, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Anggota, yang telah meluangkan waktu dan pikiran serta perhatiannya guna memberi bimbingan dan pengarahan demi terselesaikannya penulisan skripsi ini;
4. drg.Agustin Wulan Suci D. MD.Sc., selaku sekretaris penguji, terima kasih atas saran dan petunjuknya demi kesempurnaan penulisan skripsi ini;
5. drg. ZainulCholid, Sp.BM selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing penulis selama masa studi;
6. Seluruh staf Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Ibu Indria Cahyani, A.Mddan Bapak Setyo Pinardi, A.Md. Terimakasih atas waktu yang diluangkan dan bantuan dalam menyelesaikan penelitian ini;
7. Seluruh Staf Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Jember, Ibu Widiyantini, A.Md.

8. Orangtuaku tercinta, DadiMartopo dan Titi Asti atas segala doa, kasih sayang, perhatian serta pengorbanan yang tak terhingga selama ini;
9. Mas BayuGanjar Hudoyo, Mas Agus Priyo Murdoko, dan Adikku Puguh Joko Nugroho serta seluruh keluargaku tercinta yang selalu mendukungku menuju kesuksesan;
10. AlifCandraAryono, Edi Yudoseno, GilangWahyu P, Amar Fahmi, HendrikSiswono, YahyaZakaria terimakasih atas semua bantuannya;
11. Para guru yang telah membagi ilmunya kepadaku, setiap pertemuanku dengan kalian adalah limpahan rahmat dari-Nya;
12. Teman-teman FKG 2005, 2006, 2007dan juga semua yang telah membantu kelancaran penyusunan skripsi ini, yang tidak dapatsaya sebutkan satu-persatu. Terima kasih.

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

Jember, 10 Februari 2012

Penulis

DAFTAR ISI

SKRIPSIi
PERSEMBAHANii
MOTTOiii
PERNYATAANiv
SKRIPSIv
PENGESAHANvii
RINGKASANvii
PRAKATAix
DAFTAR ISIxi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBARxv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN1
1.1 Latar Belakang1
1.2 Rumusan Masalah3
1.3 Tujuan Penelitian3
1.4 Manfaat Penelitian3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA4
2.1 Tumbuhan Salam4
2.1.1 Taksonomi dan Asal Tempat Tumbuhan Salam	4
2.1.2 Habitat dan Morfologi Tumbuhan Salam	5
2.1.3 Kandungan Tumbuhan Salam	5
2.2 Pasta Gigi7
2.3 <i>Streptococcus</i>	12
2.3.1 Morfologi dan Identifikasi	12
2.3.2 Klasifikasi <i>Streptococcus</i>	13

2.3.3 <i>Streptococcus mutans</i>	16
2.4 Daya Antibakteri.....	18
2.5 Hipotesis.....	20
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	21
3.1 Jenis Penelitian.....	21
3.2 Rancangan Penelitian.....	21
3.3 Tempat dan Waktu Penelitian.....	21
3.4 Subyek dan Sampel Penelitian.....	21
3.4.1 Besar Sampel.....	21
3.4.2 Jumlah Sampel Penelitian.....	22
3.4.3 Penggolongan Sampel Penelitian.....	22
3.5 Identifikasi Variabel Penelitian.....	23
3.5.1 Variabel Bebas.....	23
3.5.2 Variabel Terikat.....	23
3.5.3 Variabel Terkendali.....	23
3.6 Definisi Operasional.....	25
3.6.1 Ekstrak Daun Salam.....	26
3.6.2 Pasta Gigi Ekstrak Daun Salam.....	23
3.6.3 Bakteri <i>Streptococcus mutans</i>	24
3.7 Bahan dan Alat Penelitian.....	24
3.7.1 Bahan.....	24
3.7.2 Alat.....	25
3.8 Prosedur Penelitian.....	26
3.8.1 Pembuatan Ekstrak Daun Salam.....	26
3.8.2 Prosedur Pembuatan Pasta Gigi Placebo.....	26
3.8.3 Pembuatan Pasta Gigi yang Mengandung Ekstrak Daun Salam 60%, 50%, 40%, 30%, 20%.....	27
3.8.4 Prosedur Pembuatan Media BHI-B.....	28
3.8.5 Prosedur Pembuatan Media BHI-A.....	28

3.8.6	Prosedur Pembuatan Suspensi <i>Streptococcus mutans</i>	28
3.8.7	Prosedur Uji Daya Antibakteri.....	29
3.8.8	Tahap Pengamatan	29
3.9	Alur Penelitian.....	30
3.10	Analisis Data.....	31
BAB 4.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	32
4.1	Hasil Penelitian.....	32
4.2	Analisis Hasil Penelitian	33
4.3	Pembahasan	35
BAB 5.	PENUTUP.....	39
5.1	Kesimpulan	39
5.2	Saran	39
DAFTAR BACAAN	40
LAMPIRAN	46

DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Perbedaan daya hambat terhadap <i>Streptococcus mutans</i>	33
4.2 Hasil uji perbedaan daya hambat menggunakan LSD.....	34

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Rumus kimia Triklosan.....	10
2.2 Morfologi koloni dan reaksi hemolitik.....	13
2.3 Gambaran mikroskopis <i>Streptococcus mutans</i>	18
3.1 Cara Pengukuran zonahambat.....	30
4.1 Grafik daya hambat ekstrak daun salam terhadap pertumbuhan <i>Streptococcus mutans</i>	34

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Perhitungan Besar Sampel Penelitian.....	47
B. Perbedaan Daya Hambat (Lebar Zona Inhibisi dalam mm) Terhadap <i>Streptococcus mutans</i> dalam Pasta Gigi Setelah 24 Jam.....	48
C. Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas.....	49
D. Hasil Uji <i>One-Way Anova</i>	50
E. Hasil Uji LSD.....	51
F. Gambar Alat dan Bahan.....	52
G. Gambar Proses Penelitian.....	55

Abstrak

Uji Daya Antibakteri Daun Salam (*Eugenia polyantha Wight*) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*

Oleh

Angger Waspodo Dias Adrianto¹⁾

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Streptococcus sp merupakan salah satu mikroorganismeyang banyak ditemukan di rongga mulut, dan merupakan bakteri penyebab awal proses karies gigi. Ada banyak cara untuk mencegah karies gigi, salah satunya adalah menggosok gigi. Menggosok gigi dengan pasta gigi merupakan salah satu cara yang paling banyak digunakan dan efektif untuk mencegah pembentukan plak. Penambahan antibakteri pada pasta gigi dapat mengurangi jumlah bakteri penyebab karies. Salah satu zat yang umum ditambahkan pada pasta gigi adalah dari bahan herbal, salah satunya adalah daun salam (*Eugenia polyantha Wight*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya antibakteri ekstrak daun salam dalam pasta gigi terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* dan konsentrasi paling efektif dari ekstrak daun salam dalam pasta gigi yang dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*.

Daun salam diambil dari berbagai di daerah Jember lalu diekstrak dan dijadikan 5 kelompok perlakuan (20%, 30%, 40%, 50%, 60%), 1 kelompok kontrol positif, dan 1 kelompok kontrol negatif. Kelompok perlakuan dengan konsentrasi 20%, 30%, 40%, 50% dan 60% tersebut dimasukkan ke dalam pasta gigi placebo dan diinokulasikan pada media BHI-B dan diinkubasi selama 24 jam sebelum dilakukan uji daya hambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*.

Hasil uji *One-Way Anova test* menunjukkan perbedaan bermakna zona daya hambat pasta gigi daun salam konsentrasi 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, kontrol positif dan kontrol negatif terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* ($p < 0,05\%$). Pada *LSD test* menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna pada masing-masing kelompok perlakuan ($p < 0,05\%$). Berdasarkan

penelitian diatas dapat disimpulkan bahwa pasta gigi ekstrak daun salam mempunyai daya antibakteri terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*.

Kata kunci: daun salam, *Streptococcus mutans*

1) Mahasiswa Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit gigi dan mulut yang banyak ditemukan pada masyarakat adalah karies gigi. Karies gigi merupakan suatu penyakit jaringan keras gigi yang disebabkan aktivitas mikroorganisme dalam meragikan karbohidrat. Hal ini ditanda demineralisasi enamel (Kidd dan Bechal, 1992). Secara normal, rongga mulut terdapat berbagai macam koloni mikroorganisme, salah satunya adalah *Streptococcus mutans*. *Streptococcus mutans* merupakan bakteri penyebab karies gigi (Sulistiyani, 2002).

Streptococcus mutans merupakan bakteri kariogenik yang dapat meragikan karbohidrat dan menghasilkan asam. *Streptococcus mutans* tumbuh dalam suasana asam dan dapat menempel pada permukaan gigi. Hal ini disebabkan *Streptococcus mutans* mampu mensintesis polisakarida ekstraseluler yang bersifat lengket. Polisakarida ekstraseluler tersebut terdiri dari polimer glukosa dan menyebabkan perlekatan bakteri lain pada permukaan gigi sehingga pembentukan plak (Kidd dan Bechal, 1992).

Karies gigi dapat dicegah dengan cara menghilangkan plak gigi. Salah satu tindakan pencegahan karies gigi adalah menggosok gigi. Dalam menggosok gigi biasanya menggunakan pasta gigi. Menurut Natamiharja (1999), fungsi utama suatu pasta gigi adalah membantu sikat gigi dalam membersihkan permukaan gigi dan sisa-sisa makanan serta dapat pula memberi aroma dan rasa yang nyaman dalam mulut. Suatu pasta gigi biasanya mengandung bahan abrasif, *surface active agent*, humektan, bahan pengikat, bahan perasa atau penyedap, dan flourida (Kidd dan Bechal, 1992).

Kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi menyebabkan berbagai produsen pasta gigi membuat inovasi untuk menambahkan zat lain yang bermanfaat bagi kesehatan gigi. Penambahan bahan tertentu pada pasta gigi dapat mengurangi jumlah bakteri penyebab karies (Lestari dan Boesro, 1999). Bahan

tertentu yang biasa ditambahkan dalam pasta gigi adalah antibakteri. Salah satu zat yang umum ditambahkan pada pasta gigi adalah dari bahan herbal (Sasmita dkk, 2007). Pasta gigi herbal yang telah digunakan di Indonesia adalah pasta gigi daun sirih. Menurut Hasim (2003), daun sirih mempunyai kandungan aktif minyak atsiri, eugenol dan tannin. Minyak atsiri daun sirih merupakan antiseptik alami karena mengandung fenol alami. Bahan herbal lain yang banyak digunakan masyarakat Indonesia adalah daun salam. Daun salam digunakan sebagai tanaman herbal karena banyak ditemukan di Indonesia, murah dan sering digunakan sebagai rempah bumbu masakan.

Tumbuhan salam (*Eugenia polyantha wight*) merupakan tumbuhan herbal yang dapat bermanfaat selain sebagai bumbu masakan juga dapat digunakan sebagai tanaman obat. Winarto (2004) menyatakan bahwa daun salam mempunyai kandungan kimia yaitu tanin, flavonoid, dan minyak asiri 0,05% yang terdiri dari eugenol dan sitral. Kandungan *Eugenia polyantha* merupakan bahan aktif yang diduga mempunyai efek farmakologis. Tanin dan flavonoid merupakan bahan aktif yang mempunyai efek anti-inflamasi dan antimikroba, sedangkan minyak asiri mempunyai efek analgesic (Robinson, 1995).

Ekstrak etanol dari daun salam menunjukkan efek antijamur dan antibakteri, sedangkan ekstrak metanolnya merupakan anticacing, khususnya pada nematoda kayu pinus *Bursaphelenchus xylophilus* (de Guzman dan Siemonsma, 1999). Umboh (2009) menyatakan bahwa perasan daun salam dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, 100% efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*. Penelitian lain telah membuktikan bahwa subyek yang berkumur air rebusan daun salam konsentrasi 100 %, 75 % dan 50 % dapat menurunkan jumlah koloni *Streptococcus mutans* (Sumono dan Agustin, 2009).

Berdasarkan uraian di atas maka peneliti ingin meneliti daya antibakteri ekstrak daun salam dalam pasta gigi terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* sebagai bakteri utama penyebab karies di rongga mulut.

1.2 Rumusan Masalah

Permasalahan yang dapat dirumuskan yaitu :

1. Apakah ekstrak daun salam dalam pasta gigi mempunyai daya antibakteri terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*?
2. Berapa konsentrasi paling efektif dari ekstrak daun salam dalam pasta gigi yang masih dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini yaitu :

1. Mengetahui daya antibakteri ekstrak daun salam dalam pasta gigi terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*.
2. Mengetahui konsentrasi paling efektif dari ekstrak daun salam dalam pasta gigi yang masih dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini yaitu :

1. Menambah pengetahuan tentang kemampuan tanaman obat tradisional khususnya ekstrak daun salam dalam pasta gigi untuk menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* yang merupakan bakteri kariogenik.
2. Sebagai acuan untuk penelitian lebih lanjut dalam mengembangkan ilmu pengetahuan terutama di bidang kedokteran gigi.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tumbuhan Salam (*Eugenia polyantha* Wight)

Tumbuhan Salam adalah namapohon penghasil daun rempah yang digunakan dalam masakan nusantara. Daun salam digunakan terutama sebagai rempah pengharum masakan di sejumlah negeri di Asia Tenggara, baik untuk masakan daging, ikan, sayur mayur, maupun nasi. Daun ini dicampurkan dalam keadaan utuh, kering atausegar, dan turut dimasak hingga makanan tersebut matang. Rempah ini memberikan aroma herba yang khas namun tidak keras (deGuzman dan Siemonsma,1999).

Selain sebagai rempah, daun salam juga dapat digunakan untuk pengobatan tradisional. Dewasa ini masyarakat mulai melirik pengobatan tradisional karena obat tradisional tidak memerlukan biaya yang mahal dan dapat diramu sendiri, selain itu obat tradisional memiliki efek samping yang relatif kecil dibandingkan obat-obat sintetik (Dalimartha, 1999).

Berbagai literatur menyebutkan bahwa *Eugenia polyanthum* mempunyai banyak khasiat pengobatan, antara lain untuk mengobati kencing manis, hipertensi, kolesterol tinggi, gastritis, diare, asam urat, eksim, kudis, dan gatal-gatal (Dalimartha, 1999).

2.1.1 Taksonomi dan Asal Tempat Tumbuhan Salam

Nama botani : *Eugenia polyantha* Wight

Sinonim : *Eugenia lucidula* Miq.; *Syzygium polyanthu* (Wight) Walp

Klasifikasi : Kingdom : *Plantea*

Divisi : *Spermatophyta*

Sub divisi : *Pinophyta*

Kelas : *Coniferopsida*

Bangsa : *Myricales*

Suku	: <i>Myricaceae</i>
Marga	: <i>Eugenia</i>
Jenis	: <i>Eugenia polyantha</i>
Nama Asing	: Indonesian <i>bayleaf</i> atau Indonesian <i>laurel</i> (Inggris)
Nama Daerah : Sumatera	: ubar serai, meselangan
Jawa	: manting, salam
Madura	: salam(Katzer,2000)

2.1.2 Habitat dan Morfologi Tumbuhan Salam

Salam tumbuh liar di hutan dan pegunungan, atau ditanam di pekarangan atau disekitar rumah. Tanaman ini dapat ditemukan di dataran rendah sampai 1400 m dpl (Tjitrosoepomo, 2002).

Salam merupakan pohon dengan tinggi mencapai 25 m, batang bulat, permukaan licin, bertajuk rimbun dan berakar tunggang. Daun tunggal, letakberhadapan, panjang tangkai daun 0,5-1 cm. Helaian daun berbentuk lonjong sampai elips atau bundar telur sungsang, ujung meruncing pangkal runcing, tepi rata, pertulangan menyirip, permukaan atas licin berwarna hijau tua, permukaan bawah berwarna hijau muda, panjang 5-15 cm, lebar 3-8 cm, jika diremas berbau harum (Tjitrosoepomo, 2002).

Bunga majemuk yang tersusun dalam malai yang keluar dari ujung ranting, berwarna putih, baunya harum. Buahnya buah buni, bulat, diameter 8-9 mm, buah muda berwarna hijau, setelah masak menjadi merah gelap, rasanya agak sepat. Biji bulat, diameter sekitar 1 cm, berwarna coklat (Tjitrosoepomo, 2002).

2.1.3 Kandungan Tumbuhan Salam

Kandungan tanaman salam antara lain adalah saponin, triterpenoid, flavonoid, polifenol, alkaloid, tanin dan minyak atsiri yang terdiri dari sesquiterpen, lakton dan fenol (Sudarsono dkk, 2002). Winarto (2004) menyatakan bahwa daun salam mempunyai kandungan kimiayaitu tanin, flavonoid, dan minyak asiri 0,05 % yang terdiri dari eugenol dan sitral.

Minyak atsiri atau dikenal orang dengan nama minyak ateris atau minyakterbang (essential oil, volatile) dihasilkan oleh tanaman tertentu. Mekanismetoksisitas fenol dalam minyak atsiri menyebabkan denaturasi protein pada dindingsel kuman dengan membentuk struktur tersier protein dengan ikatan nonspesifikatau ikatan disulfide (Ganiswara, 1995).Minyak atsiri mengandung sitral dan eugenol yang berfungsi sebagai anestetik dan antiseptik (Dalimarta,2005).Antiseptik adalah obat yang meniadakan atau mencegah keadaan sepsis, zat ini dapat membunuh atau mencegah pertumbuhan mikroorganisme (Ganiswara,1995).Eugenol adalah sebuah senyawa kimia aromatik, berbau, banyak didapat dari butir cengkeh, sedikit larut dalam air dan larut pada pelarut organik.Bidang medis sering menggunakan eugenol.Kandungan eugenol merupakan analgesik dan antiseptik lokal yang baik.Beberapa minyak atsiri dapat digunakan sebagai bahan antiseptik internal dan eksternal, bahan analgesik, hemolitik atau enzimatik, sedatif, stimulan, untuk obat sakit perut, bahan pewangi kosmetik dan sabun (Guenther, 1987).

Selain minyak atsiri terdapat kandungan tanin.Tanin, tannic acid atau gallotanic acid dapat ditemukan pada berbagai macam tanaman.Tanin yang mempunyai rumus empiris $C_{76}H_{52}O_{46}$, berasal dari kulit pohon ek, cemara dan bak.Tannin telah terbukti mempunyai efektifitas antioksidan dan menghambat pertumbuhan tumor (Robinson,1995).Tannin menyebabkan denaturasi protein dengan membentuk kompleks protein.Pembentukan kompleks protein melalui kekuatan nonspesifik seperti ikatan hidrogen dan efek hidrofobik sebagaimana pembentukan ikatan kovalen, menginaktifkan adhesi kuman (molekul untuk menempel pada sel inang), menstimulasi sel-sel fagosit yang berperan dalam respon imun selular (Soebowo,1993).

Flavonoid adalah senyawa yang terdapat pada sebagian besar tumbuh-tumbuhan.Senyawa ini terdapat pada biji, kulit buah dan buah.Sebagian besar tumbuhan obat mengandung flavonoida (Miller,2005).Pada tumbuhan, flavonoida tidak hanya berperan sebagai pigmen yang member warna pada bunga dan daun saja, namun juga sangat penting bagi pertumbuhan, perkembangan dan pertahanan tumbuhan.Misalnya sebagai enzim inhibitor, perkusor bahan toksik, melindungi

tumbuhan (dari bakteri, virus, radikal bebas dan radiasi sinar UV) (Sabir,2003).Beberapa penelitian terakhir menunjukkan bahwa flavonoid memiliki efek antimikroba, antiinflamasi, merangsang pembentukan kolagen, melindungi pembuluh darah, antioksidan dan antikarsinogenik (Sabir,2003).Flavonoid sebagai antibakterial dapat menekan bakteri yang menkontaminasi luka sehingga infeksi dapat dihindarkan (Dharmayanti dan Sulistyowati,2000). Pelezar (1988) menyatakan bahwa sebagai antibakteri, flavonoid bekerja dengan menghambat perkembangan mikroorganisme karena mampu membentuk senyawa kompleks dengan protein melalui ikatan hidrogen. Mekanisme kerjanya dengan mendenaturasikan molekul-molekul protein dan asam nukleat yang menyebabkan koagulasi dan pembekuan protein yang akhirnya akan terjadi gangguan metabolisme dan fungsi fisiologis bakteri. Jika metabolisme bakteri terganggu maka kebutuhan energi tidak tercukupi sehingga mengakibatkan rusaknya sel bakteri secara permanen yang pada akhirnya menyebabkan kematian bakteri.Pelezar (1988) juga menyatakan bahwa berdasarkan tingkat oksidasi sertasubsituennya kerangka flavonoid dibedakan menjadi berbagai jenis seperti flavon,flavonol, khalkon, santon, auron, flavon, antosianidin dan leukoantosianidin.

2.2 Pasta Gigi

Pasta gigi adalah bahan yang digunakan bersama sikat gigi untuk membersihkan dan memoles seluruh permukaan gigi, biasanya berbentuk pasta, dan ada juga dalam bentuk tepung atau cairan. Fungsi utama suatu pasta gigi adalah membantu sikat gigi dalam membersihkan permukaan gigi dan sisa-sisa makanan serta dapat pula memberi aroma dan rasa yang nyaman dalam mulut. Sedangkan fungsi sekundernya untuk memperkilat gigi, mempertinggi kesehatan gingiva serta untuk mengurangi bau (Natamiharja, 1999).

Adapun konstitusi pasta gigi sebagai berikut:

- a. Bahan abrasif sebagai pemberi sifat yang terpenting dalam pasta gigi. Suatu abrasif yang terlalu lunak tidak akan sanggup mengeluarkan semua tumpukan sisa makanan dari gigi. Senyawa yang dipakai sebagai bahan ini yang baik

- yaitu: endapan CaCO_3 , endapan apatit dengan basis $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (kalsium fosfat), Na_3PO_3 (natrium fosfat), dan $\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 3\text{H}_2$ (alumina hidrat), MgCO_3 ;
- b. *Surface active agents*. Bahan detergen sintetis dapat disertakan untuk meningkatkan kemampuan pasta membasahi permukaan gigi, misalnya Sodium Lauryl Sulfat (SLS), Polietil Glikol (PEG);
 - c. Suatu humektan (misalnya gliserol), berguna untuk mempertahankan kelembaban bahan sewaktu terbuka, bertujuan untuk mencegah mengerasnya pasta;
 - d. Bahan pengikat (emulgator) biasanya berupa koloid, untuk mencegah pemisahan konstitusi padatan dan cairan, TEA (Tri Etanol Amin)
 - e. Bahan penyedap misalnya *spearmint* atau *peppermint*, minyak permin, *oilum citri, essence*;
 - f. Fluorida sebagai bahan tambahan misalnya SnF, NaF, dan *sodium monofluorophosphate* $\text{Na}_2\text{PO}_4\text{F}$,
 - g. Komponen lain berupa *preservative (Metil Paraben)*, *astringent (Anise Oil)*, dan bahan pengoksidasi.

Menurut Prahasanti (2000), penambahan bahan kimia tertentu bertujuan untuk menjadikan pasta gigi sebagai obat mengatasi kelainan yang terjadi dalam mulut. Pembersihan gigi secara mekanis dengan menggunakan sikat gigi saja sudah dianggap cukup, akan tetapi dengan menggunakan pasta gigi yang ditambahkan berbagai bahan akan membantu pemeliharaan kebersihan dan kesehatan gigi dan mulut.

Kriteria yang harus dipenuhi oleh bahan kimia yang akan ditambahkan pada pasta gigi yaitu memiliki aktivitas antiplak dan antibakteri, stabil dalam penyimpanan, dapat diformulasikan dalam pasta gigi, dapat bertahan lama dalam mulut dengan waktu kontak yang pendek, aman dari toksisitas, serta bebas dari efek samping seperti menimbulkan pewarnaan, mengiritasi mukosa dan mengganggu ekologi mikroflora normal dalam mulut (Hartono, 1998).

Lay (dalam Amani, 2003) menambahkan bahwa senyawa kimia tertentu dapat bertindak sebagai antibakteri. Bahan antibakteri ini dapat mengurangi populasi bakteri baik sebagai agen pembunuh atau penghambat bakteri.

Pasta gigi yang beredar di pasaran dibedakan atas pasta gigi berfluor dan non fluor dan biasanya ditambahkan beberapa bahan antibakteri antara lain sebagai berikut:

1. Pasta gigi fluor.

Di berbagai negara lebih dari 96% pasta gigi yang dijual adalah pasta gigi yang mengandung fluor. Oleh karena itu, setiap orang yang menyikat gigi akan memperoleh keuntungan dari fluor yang diberikan secara topikal. Konsentrasi fluor dalam pasta gigi umumnya mengandung 0,001 ppm fluorida (0,1%). Fluor merupakan mikromineral atau elemen sisa yang dibutuhkan tubuh manusia terutama untuk tulang dan gigi. Fluor diperlukan gigi untuk melindungi enamel dan dentin dari serangan karies. Mekanisme fluor dalam menghambat karies gigi adalah karena ion fluor menghambat kerja enzim pada jalur glikolisis. Kebanyakan pasta gigi yang kini dijual di seluruh dunia berisi fluor dalam bentuk *sodium monofluorophosphate*, karena fosfat yang dikandung dapat berikatan baik dengan fluor dan tidak menimbulkan reaksi yang berbahaya terhadap gigi. Selain itu, diduga bahwa anion MFP (PO_3F) itu sendiri mempunyai sifat anti karies dan akan bertukar tempat dengan kelompok fosfat yang ada dalam kristal apatit sehingga nantinya akan mengeluarkan ion F (Kidd dan Bechal, 1992).

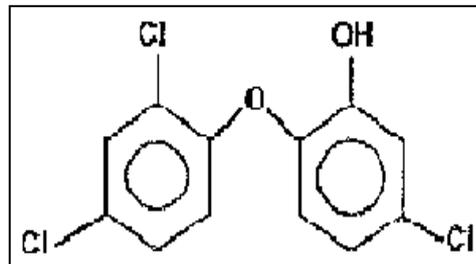
2. Pasta gigi khusus (Non Fluor)

Pada beberapa pasien dengan daerah servikal gigi yang sensitif, dapat digunakan pasta gigi desensitisasi. Walaupun ada beberapa pasien yang mengatakan bahwa mereka dianjurkan untuk merawat gingivitis atau periodontitis, tetapi penggunaan pasta gigi dengan kandungan stronsium klorida dan kalium nitrat adalah untuk menghilangkan gejala-gejala sensitifitas dentin, bukan untuk merawat gingiva. Sebelum merawat daerah yang menimbulkan rasa sakit dengan cara ini, harus dilakukan penelitian lebih menyeluruh tentang penyebabnya (Kidd dan Bechal, 1992).

3. Triklosan

Triklosan sebagai bahan antibakteri atau antibakteri berspektrum luas dengan struktur *5-kloro-2-(2,4-diklorofenoksi)fenol* yaitu $\text{C}_{12}\text{H}_7\text{Cl}_3\text{O}_2$ yang

biasanya terlarut dalam air sabun dan pasta gigi. Triklosan merupakan derivat dari *difenil eter (bis-phenol)* (gambar 2.1). Terdapat hubungan struktural dengan sejumlah ikatan *bis-fenil poliklorinat* dan *bis-fenil klorofenol*. Sesuai dengan sintesis kimia *poliklorodifenil eter* dan *fenoksi fenol* yang keduanya berpotensi dalam pembentukan sejumlah kecil produk samping yang tidak diinginkan (Randal, 2006).



Gambar 2.1 Rumus kimia Triklosan $C_{12}H_7Cl_3O_2$ (Houwink, 1993)

Triklosan sudah digunakan sejak 35 tahun yang lalu sebagai bahan antibakteri yang potensial (Amerongen, 1992). Triklosan efektif melawan organisme gram positif dan sebagian besar gram negatif serta menunjukkan sedikit aktivitas melawan ragi dan jamur. Penggunaan senyawa Triklosan ini sudah sangat luas antara lain sebagai bahan yang ditambahkan pada deterjen untuk sterilisasi alat bedah, sabun, deodoran, obat kumur dan pasta gigi (Houwink, 1993).

4. Bahan Alami

Al-Lafi dan Ababneh (1995) melakukan penelitian terhadap kayu siwak dan melaporkan bahwa siwak mengandung mineral-mineral alami yang dapat membunuh dan menghambat pertumbuhan bakteri, mengikis plak, mencegah gigi berlubang serta memelihara gusi. Siwak memiliki kandungan kimiawi yang bermanfaat, meliputi:

a. *Antibacterial Acids*, seperti *astringents*, abrasif dan detergen yang berfungsi untuk membunuh bakteri, mencegah infeksi, menghentikan pendarahan pada gusi. Penggunaan kayu siwak yang segar pertama kali, akan terasa agak pedas dan sedikit membakar, karena terdapat kandungan serupa *mustard* yang merupakan substansi *antibacterial acid* tersebut.

- b. Kandungan kimiawi seperti Klorida, Pottasium, Sodium Bikarbonat, Fluorida, Silika, Sulfur, Vitamin C, Trimetilamin, Salvadorin, Tannin dan beberapa mineral lainnya yang berfungsi untuk membersihkan gigi, memutihkan dan menyehatkan gigi dan gusi. Bahan-bahan ini sering diekstrak sebagai bahan pasta gigi.
- c. Minyak aroma alami yang memiliki rasa dan bau yang segar, yang dapat menyegarkan mulut dan menghilangkan bau tidak sedap.
- d. Enzim yang mencegah pembentukan plak yang merupakan penyebab radang gusi dan penyebab utama tanggalnya gigi secara prematur.
- e. Anti *Decay Agent* (Zat anti pembusukan) dan *Antigerma System*, yang bertindak seperti penisilin menurunkan jumlah bakteri di mulut dan mencegah terjadinya proses pembusukan. Siwak juga turut merangsang produksi saliva, dimana saliva sendiri merupakan organik mulut yang melindungi dan membersihkan mulut. Secara kimiawi, kulit batang kayu siwak yang kering bila diekstrak dengan alkohol 80% dan kemudian diekstrak dengan eter, lalu diteliti secara terperinci kandungannya melalui ECP (*Exhaustive Procedure Chemicle*), maka akan ditemukan zat-zat kimia sebagai berikut: Trimetilamin, klorida, resin, sejumlah besar fluorida dan silika, sulfur dan vitamin C.

Penyikatan dengan pasta gigi telah banyak dipergunakan di berbagai negara. Dimana seiring dengan kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi, berbagai produsen pasta gigi membuat inovasi untuk menambahkan zat lain yang bermanfaat bagi kesehatan gigi. Penambahan zat lain pada pasta gigi harus aman dan efektif, serta pemakaiannya telah disetujui oleh American Dental Association. Salah satu zat yang umum ditambahkan pada pasta gigi adalah herbal (Sasmita, dkk. 2007).

2.3 *Streptococcus*

Streptococcus adalah bakteri gram positif berbentuk bulat yang khas membentuk pasangan atau rantai selama masa pertumbuhannya. Streptokokus adalah golongan bakteri yang heterogen. Beberapa diantaranya merupakan anggota

flora normal pada manusia.(Jawetz dkk,1996).Streptokokus merupakan Gram positif, non motil, tidak berspora, kokus katalase-negatif yang menjadi pasangan atau rantai.Pada biakan tua dapat kehilangan sifat Gram positif. Sebagian besar streptokokus merupakan anaerob fakultatif, dan diantara yang lain adalah anaerob obligat (Patterson,1996).

2.3.1 Morfologi dan Identifikasi

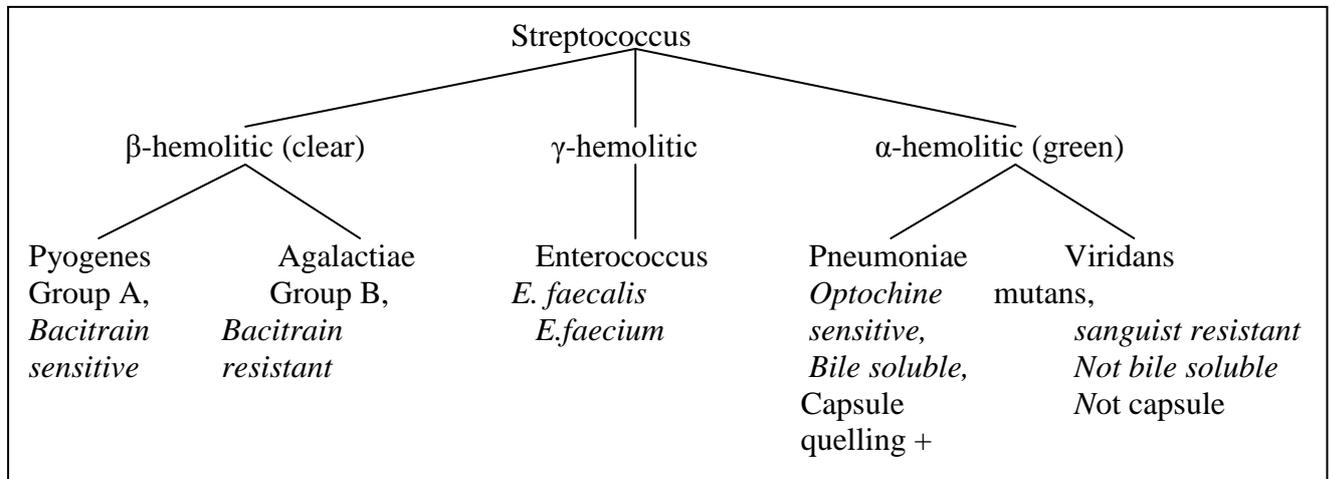
Jawetz (1996) menyatakan bahwa streptokokus adalah kokus tunggal berbentuk bulat atau bulat telur dan tersusun dalam bentuk rantai.Kokus membelah pada bidang yang tegak lurus sumbu panjang rantai.Panjang rantai sangat bervariasi dan sebagian besar ditentukan oleh faktor lingkungan.Streptokokus bersifat gram positif, namun pada biakan tua dan bakteri yang mati, bakteri ini menjadi Gram negatif, keadaan ini dapat terjadi jika bakteri dieramkan semalam.Dinding sel mengandung protein, karbohidrat (spesifik untuk golongan), dan peptidoglikan.Pili seperti rambut menonjol keluar menembus simpai streptokokus golongan A. Pili tersebut sebagian terdiri atas protein M dan ditutupi oleh asam lipoteikoat.Asam lipoteikoat sangat penting untuk perlekatan streptokokus pada sel epitel.

Kebanyakan streptokokus tumbuh dalam perbenihan padat sebagai koloni diskoid dengan diameter 1-2 mm. Strain yang menghasilkan bahan simpai sering membentuk koloni mukoid. Varian strain streptokokus yang sama dapat menunjukkan bentuk koloni yang berbeda. Energi untuk pertumbuhan terutama diperoleh dari penggunaan gula.Pertumbuhan streptokokus cenderung menjadi kurang subur pada perbenihan padat atau dalam kaldu kecuali yang diperkaya dengan darah atau cairan jaringan.Kebutuhan makanan bervariasi untuk setiap spesies.Kebanyakan streptokokus bersifat fakultatif anaerob (Jawetz,1996).

2.3.2 Klasifikasi Streptococcus

Jawetz, dkk (1996) menyatakan bahwa klasifikasi streptokokus dikelompokkan menjadi beberapa kategori utama yaitu:

1. Morfologi koloni dan reaksi hemolitik pada agar darah



Gambar 2.2 Morfologi koloni dan reaksi hemolitik

Streptokokus dibagi menjadi 3 kelompok berdasarkan hemolisis dalam agar darah yaitu: alpha hemolisis (tidak komplit, hemolisis hijau), beta hemolisis (terang, lisis komplit sel darah), dan gamma hemolisis (tidak terjadi hemolisis) (Patterson,1996).

Alpha hemolisis disebabkan reduksi zat besi dalam hemoglobin, menjadikan streptokokus warna hijau dalam agar darah. Hemolisis beta adalah sel darah merah yang meluruh secara penuh, terang, luas, daerah bersih sekitar koloni bakteri dalam agar darah. Gamma hemolisis merupakan jenis streptokokus yang tidak mengalami hemolisis.

2. Spesifitas serologi dari unsur dinding sel golongan spesifik (klasifikasi Lancefield) dan dinding sel lain.

Pengelompokkan serologi didasarkan pada perbedaan antigen dalam dinding sel karbohidrat (A sampai V), dinding sel protein yang berikatan dengan pili, dan kapsul polisakarida pada streptokokus kelompok B (Patterson,1996). Penentuan jenis ini umumnya dilakukan hanya pada kelompok A sampai D, F, G, yang menyebabkan penyakit pada manusia dan merupakan reagen yang memungkinkan penentuan jenis dengan menggunakan aglutinasi sederhana atau reaksi warna. (Jewetz dkk, 1996).

3. Reaksi biokimia dan resistensi terhadap faktor-faktor fisik dan kimia

Uji biokimia meliputi reaksi peragian gula, tes untuk keberadaan enzim, dan tes-tes untuk kepekaan dan resistensi terhadap zat-zat kimia tertentu. Uji biokimia paling sering digunakan untuk mengklasifikasikan streptokokus setelah pertumbuhan koloni dan sifat khas hemolitik dilakukan. Uji biokimia digunakan untuk spesies yang secara khas tidak bereaksi dengan antibodi yang umumnya digunakan untuk zat golongan spesifik. Untuk menentukan spesies dari streptokokus viridan memerlukan sederetan berbagai uji biokimia. (Jawetz dkk, 1996).

4. Sifat ekologi

Ekologi streptokokus penting diketahui untuk menentukan penyakit berdasarkan daerah yang dijadikan inang.

Secara garis besar *Streptococcus* diklasifikasikan menjadi dua yaitu reaksi hemolisis pada media agar darah dan klasifikasi serologikal dari Lancefield.

Klasifikasi *streptococcus* berdasarkan reaksi hemolitik terdiri dari:

a. *Streptococcus beta-hemolitic*

- (1) Golongan A- *Streptococcus pyogenic* merupakan kelompok besar patogen manusia yang berhubungan dengan invasi lokal atau sistemik dan kelainan pasca *Streptococcus* yang disebabkan oleh reaksi-reaksi imunologik. Bakteri ini biasanya sensitif terhadap basitrasin.
- (2) Golongan B- *Streptococcus agalactiae* merupakan anggota flora normal dari saluran kelamin wanita dan merupakan penyebaran yang penting pada sepsis dan mengiritasi neonatal.
- (3) Golongan C dan G, kadang-kadang terdapat pada faring dan dapat menyebabkan sinusitis, bakterimia dan dapat dikacaukan oleh organisme golongan A.
- (4) Golongan D termasuk *Enterokokus* (misalnya *S. faecalis*, *S. faectum*) dan non *Enterokokus* (misalnya *S. bovis*, *S. equinus*).
- (5) Golongan E, F, H, K dan L jarang menimbulkan patogenesis pada manusia.

b. *Streptococcus non beta-hemolitic*

- (1) *Streptococcus pneumoniae* (Pneumokok) merupakan bakteri yang larut dalam empedu dan pertumbuhannya dihambat oleh cakram optokhin (etilhidrokuphrein hidrokloride).
- (2) *Streptococcus viridans* termasuk *S. salivarius*, *S. mitis*, *Streptococcus mutans*, *S. sanguis* dan lain-lain tidak larut dalam empedu dan pertumbuhannya tidak dihambat oleh cakram optokhin. Kelompok ini merupakan anggota flora normal saluran manusia dan penting untuk keadaan kesehatan selaput lendir. Beberapa jenisnya *Streptococcus mutans* mampu mensintesis polisakarida bermolekul besar seperti levan dan dekstran yang penting peranannya dalam proses karies gigi.
- (3) *Streptococcus* golongan D meliputi beberapa strain yang menghasilkan hemolisin alfa tetapi selebihnya berlaku seperti *Enterokokus*.
- (4) *Streptococcus* golongan N memiliki kemampuan hemolitik yang bervariasi. Bakteri ini dinamakan *S. laktat* (Brooks dkk, 2007).

2.3.3 *Streptococcus mutans*

Golongan *Streptococci* mempunyai beberapa strain, tetapi yang dominan dan banyak ditemukan dalam rongga mulut manusia adalah jenis *Streptococcus mutans* (strain c, e, f) serta *Streptococcus obrinus* (strain d, g). Hasil penelitian terdahulu menyatakan bahwa *Streptococcus muntans* merupakan bakteri penyebab karies gigi paling dominan pada manusia (Heriandi dkk, 2003).

Streptococcus mutans merupakan bakteri gram positif, bersifat nonmotil (tidak bergerak), bakteri anaerob fakultatif. Memiliki bentuk kokus yang sendirian berbentuk bulat atau bulat telur dan tersusun dalam rantai. Bakteri ini tumbuh secara optimal pada suhu sekitar 18⁰-40⁰ Celsius (Nugraha, 2008). *Streptococcus mutans* telah dikenal sebagai primadona penyebab karies gigi. Kuman tersebut ditemukan di plak gigi dan air liur dengan berbagai strain *Streptococcus mutans* lokal. Pada isolasi subjek karies positif dan karies negatif ditemukan beberapa varian *Streptococcus mutans* 1. *Streptococcus mutans* 2. *Streptococcus mutans* 3 dan *Streptococcus mutans* 4 pada penduduk pulau Panggang Kepulauan Seribu Jakarta Utara (Mangundjaja, 2002). Di antara semua strain lokal *Streptococcus*

mutans adalah paling dominan pada penduduk pulau tersebut (Mangundjaja dan Muthalib, 1995).

Streptococcus mutans merupakan kelompok spesies yang ditemukan di rongga mulut dan dapat menyebabkan endokarditis setelah masuk ke dalam masuk ke peredaran darah setelah ekstraksi gigi. Bakteri ini juga ditemukan pada gigi yang karies. *Streptococcus mutans* termasuk alfa hemolitik. Berdasarkan penelitian longitudinal terbukti bahwa *Streptococcus mutans* stabil dalam jumlah besar yang diasosiasikan dengan pengembangan lesi karies pada email. Lesi yang telah menembus dentin dihubungkan dengan *Lactobacillus*. Pada karies akar *Streptococcus mutans* juga terdapat bakteri-bakteri anaerob yang sebagian mempunyai pengaruh proteolitik terhadap matriks dentin. Walaupun demikian, *Streptococcus mutans* juga ditemukan di dalam plak yang dibawahnya tidak terbentuk karies, sebaliknya tidak ditemukan di dalam plak yang dibawahnya lesi berkembang. Situasi ini menunjukkan bahwa karies tidak diasosiasikan dengan spesies bakteri unik (Schuurs, 1993).

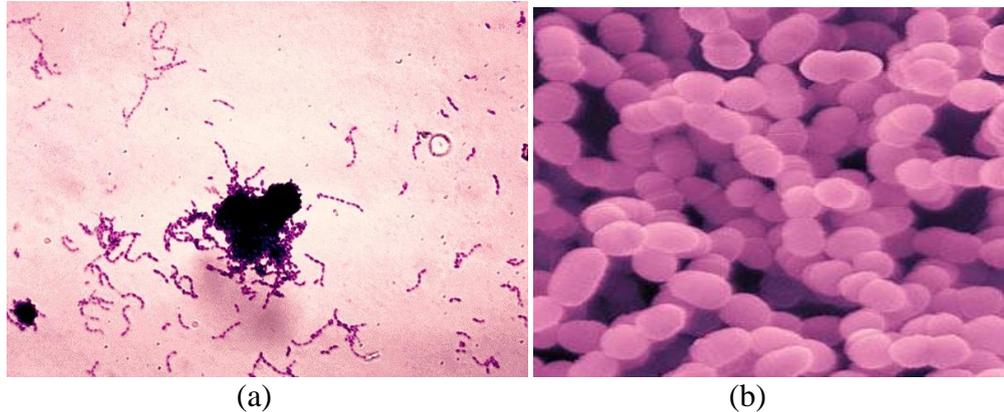
Streptococcus mutans adalah penghuni normal rongga mulut, tetapi bila lingkungan menguntungkan dan terjadi peningkatan populasi dapat berubah menjadi patogen (Kidd dan Bechal, 1992). *Streptococcus mutans* melekat pada permukaan gigi dan paling banyak terdapat pada plak karies gigi. Koloni kuman ini memerlukan permukaan yang bukan deskuamatik, karena itu didalam mulut pertama kali ditemukan pada plak gigi. *Streptococcus mutans* mempunyai dua sistem enzim yang dapat membentuk dua macam polisakarida ekstraseluler dari sukrosa, yaitu fruktan dan glukukan (Indrawati dan Retno, 1999). Bakteri ini mampu melekat pada permukaan gigi; memproduksi enzim glukuronil transferase. Enzim tersebut menghasilkan glukukan yang tidak larut dalam air dan berperan dalam menimbulkan plak dan koloni pada permukaan gigi (Zaenab dan Mardiasuti, 2004).

Bakteri ini mempunyai kemampuan untuk mensintesis sukrosa, glukosa atau karbohidrat lain menjadi polisakarida ekstraselular dan asam (Panjaitan, 2002). Bakteri ini juga dapat menurunkan pH menjadi 5,2- 5,5 dan menyebabkan demineralisasi gigi. Polisakarida ekstraselular akan membentuk

plak gigi bila terdapat bakteri *Streptococcus mutans* dalam mulut. Pembentukan plak dan pembentukan asam berlangsung setiap kali konsumsi gula dan selama gula tersebut berada dalam mulut. Risiko pembentukan plak dan asam ditentukan oleh frekuensi konsumsi gula bukan oleh banyaknya gula dimakan (Ariningrum, 2002). Bakteri *Streptococcus mutans* akan berkembang biak pada suhu 37°C selama 48 jam di media selektif. Di dalam mulut, bakteri ini dapat hidup bila terdapat permukaan padat seperti gigi atau gigi tiruan (Sosiawati, 2002)

Streptococcus mutans bersifat asidogenik, karena *Streptococcus mutans* mampu menghasilkan pH < 5 dalam waktu 1-3 menit bila dibandingkan bakteri lainnya (Kidd dan Bechal, 1992). Virulensi dari *Streptococcus mutans* disebabkan oleh kemampuannya untuk memproduksi polimer glukosa (glukan) yang merupakan bahan untuk membentuk plak gigi. *Streptococcus mutans* bisa mensintesis glukan dari katalis sukrosa oleh *glucosyltransferase* melalui glikosis anaerob kemudian menjadi laktat, propionat, dan asam asetat. Produksi dari asam akan menurunkan pH dalam beberapa menit. Lingkungan asam ini meningkatkan pertumbuhan bakteri yang toleran terhadap asam mulut seperti *Streptococcus mutans* (Mangundjaja, 2002). Selain itu *Streptococcus mutans* juga mudah melekat pada gigi oleh karena enzim *glucosyltransferase* yang tidak mudah larut dalam air (Indrawati, 1999).

Pertumbuhan *Streptococcus mutans* cenderung menjadi kurang subur pada perbenihan padat atau dalam kaldu, kecuali yang diperkaya dengan darah atau cairan gingiva. Kebutuhan makanan setiap spesies bervariasi (Brooks dkk, 2007). Media yang memberi hasil lebih baik untuk pertumbuhan *Streptococcus mutans* yaitu agar milis salivarius ditambah 0,2 unit/ml basitrasin dan sukrosa dengan konsentrasi akhir 20% (agar MSB). Media lain yang dapat digunakan menumbuhkan *Streptococcus mutans* adalah BHIB (*Brain Heart Infusion Broth*), TYC (*Tryptone-Yeast Extract L-Cystein*) dan agar darah (Roeslan, 1996).



(a) (b)
Gambar 2.3 Gambaran mikroskopis *Streptococcus mutans* menggunakan
(a) mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x dan (b) mikroskop elektron
Sumber: Kenneth Todar University, 2002

2.4 Daya Anti Bakteri

Antibakteri adalah obat pembasmi bakteri, khususnya bakteri yang merugikan manusia. Obat antibakteri yang baik harus mempunyai sifat toksisitas selektif. Toksisitas selektif memiliki arti antibakteri yang digunakan harus bersifat sangat toksik untuk bakteri tetapi tidak membahayakan untuk inang. Toksisitas selektif dapat berupa fungsi dari suatu reseptor khusus yang dibutuhkan untuk perlekatan obat, atau dapat bergantung pada penghambatan proses biokimia yang penting untuk parasit tetapi tidak untuk inang (Katzung, 1997).

Berdasarkan sifat toksisitas selektif, daya antibakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri dikenal sebagai aktivitas bakteristatik dan ada yang bersifat membunuh bakteri dikenal sebagai bakterisid. Antibakteri yang bersifat bakterisid pada konsentrasi rendah dapat bersifat bakteristatik. Mekanisme kerja sebagian besar obat antimikroba belum dimengerti secara jelas.

Namun, untuk mudahnya dapat dibagi menjadi empat cara, yaitu:

1. Penghambatan sintesis dinding sel

Dinding – dinding sel sangat berbeda dengan membran sel mengandung struktur kimia (mukopeptida, peptidoglikan) yang tidak terdapat dalam sel mamalia. Obat-obat seperti penisilin dan sefalosporin dapat terikat kepada reseptor khusus dan menghambat reaksi transpeptidasi yang penting untuk sintesis dinding sel. Obat ini juga dapat melumpuhkan penghambat enzim autolitik dinding sel.

2. Penghambatan fungsi selaput sel

Obat-obat tertentu bekerja sebagai detergen (umpamanya polimiksin). Obat lain dapat terikat kepada komponen membran yang hanya dijumpai dalam sel mikroba seperti ergosterol (seperti antimikroba). Beberapa obat antifungi golongan imidasol secara selektif menghambat sintesa sterol.

3. Penghambatan sintesis protein (yaitu: hambatan translasi dan transkripsi bahan genetik)

Banyak antimikroba menghambat sintesis protein bakteri dengan berbagai mekanisme yang berbeda. Aminoglikosida dapat terikat kepada reseptor khusus pada subunit ribosoma 30S, menghambat pembentukan ikatan peptida dan menyebabkan salah baca kode. Tetrasiklin bersatu dengan komponen yang berbeda dari subunit 30S menghambat perlekatan t-RNA aminosil pada kompleks ribosom. Antimikroba lain, termasuk kloramfenikol dan eritromisin, menghambat sintesis protein dengan dengan mengikat konstituen subunit ribosom 50S.

4. Penghambatan sintesis asam nukleat

Beberapa obat bekerja dengan cara-cara berikut. Rifampin menghambat polimerase RNA yang tergantung pada DNA. Sulfonamida berkompetensi dengan PABA untuk menghambat tahapan awal sintesis asam folat yang diperlukan oleh sel-sel jenis mikroba tertentu, tetapi oleh sel mamalia. Trimetoprim adalah suatu antimetabolit asam folat yang menghambat enzim reduktase dihidrofolat kuman dan protozoa secara selektif (Katzung, 1997).

Aktivitas antibakteri ditentukan oleh spektrum kerja (spektrum kerja luas atau spektrum kerja sempit), cara kerja (bakterisid dan bakteriostatik) dan ditentukan pula oleh konsentrasi hambat minimal serta potensi pada konsentrasi hambat minimal. Suatu antibakteri dikatakan mempunyai aktivitas yang tinggi bila konsentrasi antibakteri yang rendah tetapi mempunyai daya bunuh atau daya hambat yang besar. Pada percobaan *in vitro* dengan metode lempeng agar, hal ini dapat dilihat pada besar diameter hambat pertumbuhan mikroba di sekeliling

cakram, bila antibakteri pada konsentrasi yang rendah dapat memberikan diameter hambatan yang luas dan bening di sekeliling cakram, maka antibakteri tersebut berpotensi tinggi terhadap bakteri uji yang digunakan (Wattimena dkk, 1991).

Pada penelitian sebelumnya diketahui kemampuan aktivitas antibakteri ekstrak daun salam dalam terhadap pertumbuhan *S.mutan*sterjadi pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% (Umboh, 2009).

2.5 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah:

1. Ekstrak daun salam dalam pasta gigi mempunyai daya antibakteri terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*.
2. Konsentrasi 20% ekstrak daun salam dalam pasta gigi sudah dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*.

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris.

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap dengan desain *post test control group design*.

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

3.4 Subyek dan Sampel Penelitian.

3.4.1 Besar Sampel

Besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah berdasarkan rumus sebagai berikut :

$$n = \frac{(Z\alpha + Z\beta)^2 \sigma^2 D}{\delta^2}$$

Keterangan :

n = besar sample minimal

$Z\alpha$ = batas atas nilai konversi pada tabel distribusi normal untuk batas kemaknaan (1.96)

$Z\beta$ = batas bawah nilai konversi pada tabel distribusi normal untuk batas kemaknaan (0.85)

$$\sigma^2 D / \delta^2 = 1$$

α = tingkat signifikan (0,05)

Maka hasil perhitungan sampel adalah sebagai berikut

$$n = \frac{(1,96+0.85)^2 \sigma^2 D}{\delta^2}$$

$$n = 7.896$$

$$n = 8$$

Jadi besar sampel minimal berdasarkan perhitungan di atas adalah 8 sampel untuk tiap kelompok (Steel dkk, 1995).

3.4.2 Jumlah Sampel Penelitian

Jumlah sampel pada penelitian ini adalah 8 sampel untuk tiap kelompok.

3.4.3 Penggolongan Sampel Penelitian

Menurut Umboh (2009), ekstrak kasar daun salam ini mampu menghambat pertumbuhan *Escheria coli*APEC (Avian Pathogenic *Escherichia coli*) mulai dari konsentrasi terkecil 20% dan pada konsentrasi 40% merupakan konsentrasi efektif dalam menghambat pertumbuhan APEC.

Berdasarkan penelitian tersebut maka dalam penelitian ekstrak daun salam dalam pasta gigi terhadap pertumbuhan *S.mutans* sampel digolongkan dalam 5 kelompok konsentrasi yaitu:

- a. Ekstrak daun salam konsentrasi 20% dalam pasta gigi
- b. Ekstrak daun salam konsentrasi 30% dalam pasta gigi
- c. Ekstrak daun salam konsentrasi 40% dalam pasta gigi
- d. Ekstrak daun salam konsentrasi 50% dalam pasta gigi
- e. Ekstrak daun salam konsentrasi 60% dalam pasta gigi

3.5 Identifikasi Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak daun salam konsentrasi 20%, 30%, 40%, 50%,60% dalam pasta gigi.

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat penelitian ini adalah zona inhibisi pada biakan bakteri *Streptococcus mutans*.

3.5.3 Variabel Terkendali

- a. Media biakan *Streptococcus mutans*
- b. Suhu dan lama inkubasi

3.6 Definisi Operasional

3.6.1 Ekstrak daun salam

Ekstrak daun adalah ekstrakdaun salam yang didapatkan dari 4 ruas daun dari pucuk ranting. Daun salam segar 5,42 kg dikeringkan digiling dan dibuat serbuk seberat 756 gram, kemudian dimaserasi dengan etanol 96% (sebanyak 7,5 x berat serbuk) selama 5 hari dan dilakukan pengadukan tiap harinya. Setelah itu dipekatkan dengan rotavapor menjadi ekstrak kental daun salam 100%. Ekstrak daun salam konsentrasi 100% kemudian diencerkan menjadi konsentrasi 60%, 50%, 40%, 30% dan 20%.

3.6.2 Pasta gigi ekstrak daun salam

Pasta gigi yang mengandung ekstrak daun salam (*Eugenia polyantha*) 60%, 50%, 40%, 30% dan 20% adalah pasta gigi placebo sebanyak 30 gram tiap konsentrasi ditambah dengan ekstrak daun salam 60%, 50%, 40%, 30%, 20% sebanyak 20 gram dalam tiap konsentrasi.

3.6.3 Bakteri *Streptococcus mutans*

Bakteri *Streptococcus mutans* adalah penghuni normal rongga mulut, tetapi bila lingkungan menguntungkan dan terjadi peningkatan populasi dapat berubah menjadi patogen (Kidd dan Bechal, 1992). *Streptococcus mutans* melekat pada permukaan gigi dan paling banyak terdapat pada plak karies gigi (Indrawati, 1999). Pertumbuhan *Streptococcus mutans* pada media padat ditandai

dengan adanya koloni bakteri yang berdiameter 0,5-1,5 mm, cembung, berwarna putih dan pinggiran koloninya agak kasar.

3.7 Bahandan Alat Penelitian

3.7.1 Bahan :

1. Pasta gigi yang mengandung ekstrak daun salam dan bahan dasar pasta gigi yang lain: *anis oil*, *menthol crystal*, minyak permin, *calcium carbonat*, *magnesium carbonate*, gliserin, metil paraben, polietil glikol, *trietanol amin*, *essence*, *oilum citridan* air.
2. Pasta gigi *Pepsodent* herbal daun sirih
3. Air
4. Aquades steril
5. Kapas dan kasa steril
6. Alkohol
7. Kertas saring
8. Bubuk BHI-A /*Brain Heart Infusion Agar* (Merck, Germany)
9. Bubuk BHI-B /*Brain Heart Infusion Broth* (Merck, Germany)
10. Galur murni *Streptococcus mutans*
11. Daun salam segar 5,42 kg
12. Larutan standar Mac Farland no. 0,5 (CV Bhakti Analisis, Surabaya)

3.7.2 Alat :

1. Tabung reaksi (Pyrex, Japan)
2. Etanol 96%
3. Rotavapor
4. *Petridish*
5. Tabung reaksi (Pyrex, Japan)
6. *Autoclave* (Smic, China)
7. *Oven* (Memert, Germany)
8. Inkubator (Binder, USA)
9. Tabung erlenmeyer (Pyrex, Japan)

10. *Laminar flow* (Suzhou Antai Air Tech Co_LTD type HF 100, *China*)
11. *Mortar dan pastle*
12. *Beaker glass*
13. Pengaduk
14. Pipet ukur
15. Gelas ukur
16. Pot obat
17. *Disposable syringe* (B-D, *Singapore*)
18. Lampu bunsen
19. Gigaskrin
20. Tabung reaksi (Pyrex, *Japan*)
21. Spektrofotometer (Milton Roy, *Germany*)
22. Jangka sorong (Medesy, *Italy*)
23. *Ose*
24. Pinset
25. *Thermolyne* (Maxi Mix, *USA*)
26. *Desicator* (Duran, *Germany*)
27. *Perforator*
28. *Laminar flow* (Suzhou Antai Air Tech Co_LTD type HF 100, *China*)
29. Inkubator (Binder, *USA*)

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Proses pembuatan ekstrak daun salam

Daun salam segar seberat 5,42 kg dikeringkan pada ruangan yang tidak terkena matahari secara langsung, digiling, diayak dan dibuat serbuk seberat 756 gram, kemudian dimaserasi dengan etanol 96% (sebanyak 7,5 x berat serbuk) selama 5 hari dan dilakukan pengadukan tiap harinya. Setelah itu ekstrak cair daun salam dipisahkan dengan rotavapor menjadi ekstrak kental daun salam 100% seberat 56 ml. Ekstrak daun salam konsentrasi 100% kemudian diencerkan menjadi 60%, 50%, 40%, 30%, 20% yaitu sebagai berikut:

- b. Ekstrak daun salam konsentrasi 60% adalah 12 ml ekstrak daun salam dicampur 8 ml aquadest sampai volume 20 ml.
- c. Ekstrak daun salam konsentrasi 50% adalah 10 ml ekstrak daun salam dicampur 10 ml aquadest sampai volume 20 ml.
- d. Ekstrak daun salam konsentrasi 40% adalah 8 ml ekstrak daun salam dicampur 12 ml aquadest sampai volume 20 ml.
- e. Ekstrak daun salam konsentrasi 30% adalah 6 ml ekstrak daun salam dicampur 14 ml aquadest sampai volume 20 ml.
- f. Ekstrak daun salam konsentrasi 20% adalah 4 ml ekstrak daun salam dicampur 16 ml aquadest sampai volume 20 ml.

3.8.2 Prosedur Pembuatan Pasta Gigi Placebo

- a. Campuran I: 0,6 ml *anis oil* + 0,05 gr *menthol crystal* + 0,5 ml minyak permin diaduk menggunakan *mortar* dan *pastle* sampai homogen.
- b. Campuran II: 6,5 gr *magnesium carbonate* + 7,5 gr *calcium carbonate* diaduk menggunakan *mortar* dan *pastle* sampai homogen.
- c. Campuran III: 1,5 ml gliserin + 10 ml air hangat + 2,0 gr polietil glikol + 0,75 ml trietanol amin + 0,5 ml *oilum citri* diaduk menggunakan *mortar* dan *pastle* sampai homogen.
- d. Campuran I + campuran II + campuran III + diaduk rata sampai menjadi pasta halus 30 gram yang homogen dan berwarna putih.
- e. Masukkan dalam pot obat dan tutup rapat supaya tidak kering.

3.8.3 Prosedur Pembuatan Pasta Gigi yang Mengandung Ekstrak Daun Salam 60%, 50%, 40%, 30%, 20%

- a. Campurkan 30 gram pasta gigi placebo dan 20ml ekstrak daun salam konsentrasi 60%, 50%, 40%, 30% atau 20%.
- b. Masukkan dalam pot obat dan tutup rapat supaya tidak kering.

3.8.4 Prosedur Pembuatan Media BHI-B (*Brain Heart Infusion Broth*)

Prosedur Pembuatan Media BHI-B adalah 3 gram bubuk BHI-B dan 100 ml aquades steril dicampur dalam tabung erlenmeyer, diaduk sampai homogen dan disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121° C selama 15 menit. setelah itu dimasukkan *desicator* dan diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam dengan suhu 37° C. Hal ini dilakukan untuk membuktikan bahwa media BHI-B dalam keadaan steril sebelum inokulasi.

3.8.5 Prosedur Pembuatan Media Lempeng BHI-A (*Brain Heart Infusion Agar*)

Prosedur Pembuatan Media Lempeng BHI-A adalah 4,7 gram bubuk BHI-A dan 100 ml aquades steril dicampur dalam tabung Erlenmeyer, diaduk sampai homogen dan disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121° C selama 15 menit. Setelah itu dituangkan ke *petridish* dengan ketebalan 2 mm, didiamkan sampai padat dan dimasukkan *desicator*. Uji sterilisasi dilakukan dengan meletakkan dalam inkubator dan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37° C.

3.8.6 Prosedur Pembuatan Suspensi *Streptococcus mutans*

Pada penelitian ini dilakukan uji identifikasi kuman sebelum mempersiapkan suspensi *Streptococcus mutans* yang diperoleh dari galur murni koleksi Laboratorium Mikrobiologi FK UNAIR dan dibiakkan di Laboratorium Mikrobiologi FKG UNEJ. Cara pembuatan suspensi *Streptococcus mutans* adalah 2 cc media BHI-B steril dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambah 1 ose *Streptococcus mutans*. Selanjutnya tabung reaksi diletakkan dalam *desicator* dengan cara :

- a. Lilin menyala dimasukkan ke dalam *desicator*.
- b. Tabung reaksi dimasukkan ke dalam *desicator*.
- c. *Desicator* ditutup dengan penutupnya yang dilengkapi dengan pengatur udara.
- d. Pengatur udara ditutup dan ditunggu sampai lilin mati (tidak ada oksigen).

Desicator kemudian dimasukkan *inkubator* selama 24 jam dengan suhu 37° C. Setelah 24 jam suspensi dikocok dengan *thermolyne* dan diukur tingkat

kekeruhan atau absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 560 nm dengan absorbansi 0,005 sesuai dengan larutan standar MacFarland untuk bakteri yaitu 0,5.

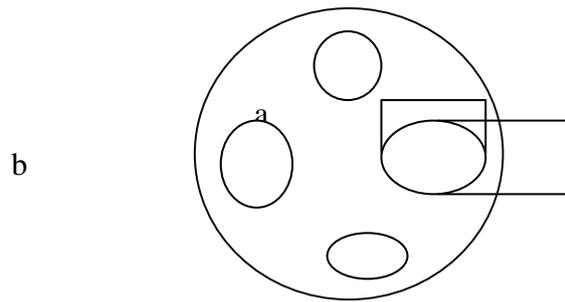
3.8.7 Prosedur Uji Daya Antibakteri

Uji daya antibakteri pada penelitian ini menggunakan metode difusi dengan cakram kertas saring. Prosedur yang dilakukan sebagai berikut :

- a. Pada bagian bawah *petridish* yang berisi media lempeng BHI-A dibagi menjadi 4 bagian yang sama besar dengan menggunakan spidol.
- b. Suspensi *Streptococcus mutans* diinokulasikan pada media lempeng agar BHI-A sebanyak 0,5 ml menggunakan *syringe* secara aseptis kemudian diratakan dengan gigaskrin. Biarkan mengering selama 5 menit.
- c. Cakram diolesi dengan pasta gigi ekstrak daun salam konsentrasi 20%, 30%, 40%, 50%, 60%.
- d. Tempatkan cakram diatas media lempeng BHI-A menggunakan pinset. Jangan ditekan terlalu kuat agar tidak melukai permukaan media. Jarak antara cakram harus cukup luas, sehingga zona hambatan tidak berhimpitan.
- e. Seluruh *plate* dimasukkan ke *desicator* dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam.

3.8.8 Tahap Pengamatan

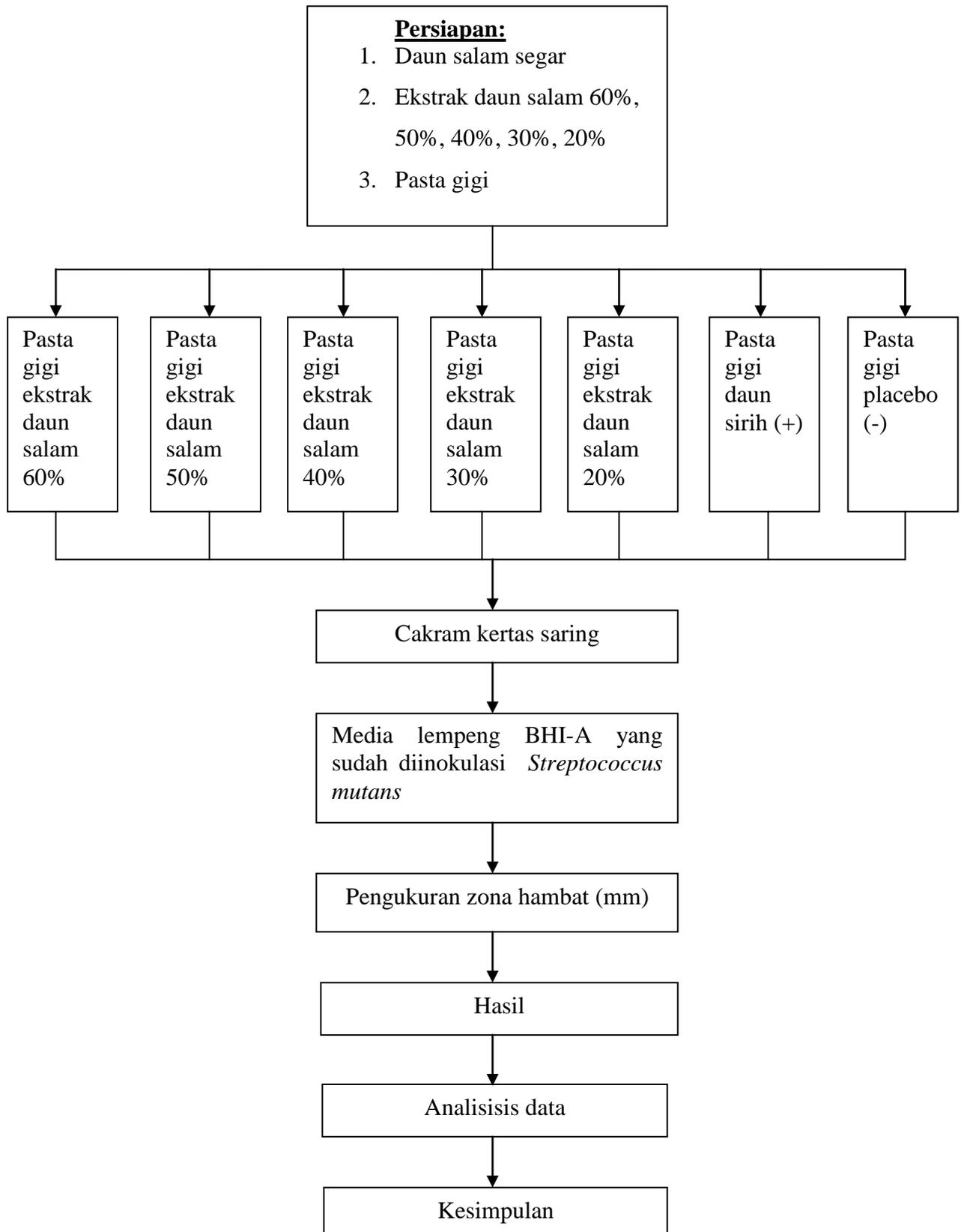
Setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰ C dalam inkubator, *petridish* diambil dan diamati. Daerah inhibisi (daerah yang jernih) diukur dengan jangka sorong dan dicatat. Pengukuran daerah inhibisi yaitu dengan membalikkan *petridish* sehingga terlihat daerah hambatan yang tampak transparan, kemudian dengan jangka sorong daerah inhibisi diukur diameternya dan dicatat. Cara pengukuran pada gambar di bawah ini:



Gambar 3.1 Cara pengukuran zona hambatan

Apabila ada diameter yang besar dan kecil maka keduanya dijumlah lalu dibagi dua. Misalnya, didapatkan zona hambatan berbentuk lonjong, maka pengukuran dilakukan pada diameter yang panjang (a mm) dan diameter yang pendek (b mm) kemudian keduanya dijumlah dan dibagi dua. Jadi diameter zona hambatan $(x) = (a+b):2$ (Prihatini, 2000).

3.9 Alur Penelitian



3.10 Analisis Data

Data pada penelitian ini dilakukan uji normalitas dengan test *Kolmogorov-Smirnov* dan diuji homogenitasnya dengan uji Levene. Kemudian dilanjutkan dengan uji Anova Satu Arah untuk mengetahui pengaruh pemakaian pasta gigi dengan penambahan ekstrak daun salam konsentrasi 600%, 50%, 40%, 30%, 20% terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* tingkat kepercayaan 95% ($p < 0,05$), jika data yang diperoleh terdapat perbedaan yang nyata antar kelompok, maka dilakukan uji beda dengan LSD untuk mengetahui perbedaan bermakna terhadap masing-masing kelompok (Notoatmojo, 2002).

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

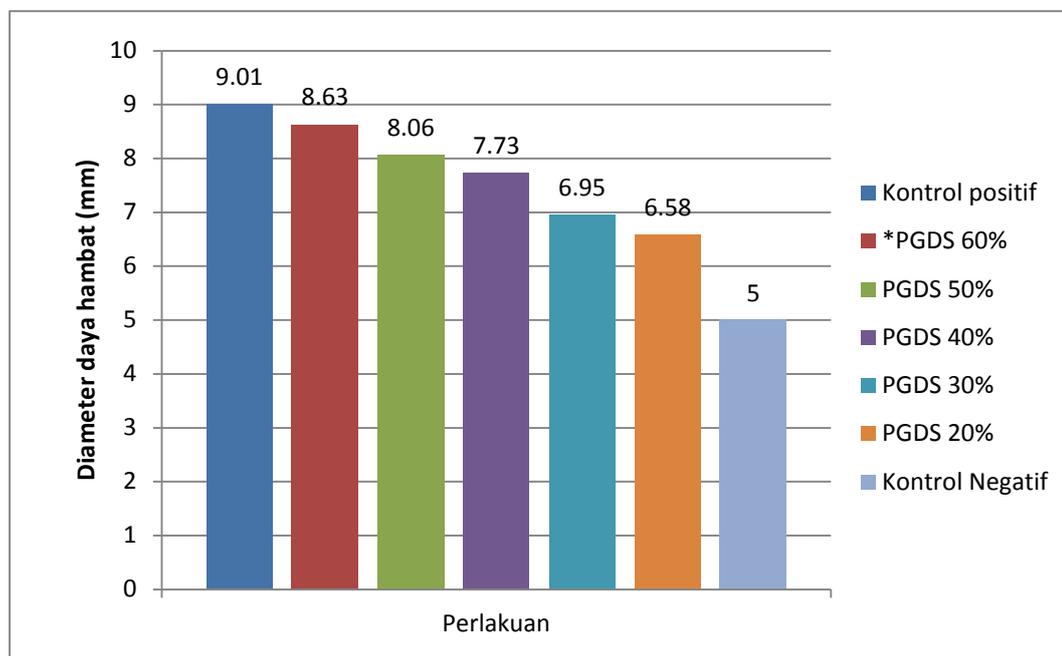
Berdasarkan penelitian yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi fakultas Kedokteran Gigi univesitas Jember mengenai daya hambat ekstrak daun salam dalam pasta gigi terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*.

Tabel 4.1 Perbedaan daya hambat (lebar zona inhibisi dalam mm) terhadap *Streptococcus mutans* dalam pasta gigi setelah 24 jam

No	Perlakuan	+	60%*	50%*	40%*	30%*	20%*	-
1	Rata-rata	9,02	8,45	8,06	7,74	6,95	6,59	5,00
2	Standar Deviasi	0,43	0,41	0,40	0,37	0,53	0,53	0,00
	Jumlah sampel	8	8	8	8	8	8	8

*konsentrasi ekstrak daun salam (20%-60%)

Tabel 4.1 menunjukkan rata-rata diameter zona hambatan yang diperoleh pada masing-masing kelompok. Kontrol positif menunjukkan bahwa rata-rata diameter zona hambat sebesar 9,02 mm. Pasta gigi ekstrak daun salam konsentrasi 60% mempunyai rata-rata diameter sebesar 8,45mm. Kemudian secara berturut-turut mengalami penurunan diameter zona hambatan pada kelompok pasta gigi ekstrak daun salam konsentrasi 50% yaitu 8,06 mm, pasta gigi ekstrak daun salam konsentrasi 40% yaitu 7,74 mm, pasta gigi ekstrak daun salam konsentrasi 30% yaitu 6,95 mm, pasta gigi ekstrak daun salam konsentrasi 20% yaitu 6,59mm, dan rata-rata diameter zona hambat terkecil adalah pada kelompok kontrol negatif yaitu 5,00mm.

Gambar 4.1. Grafik daya hambat ekstrak terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*

*PGDS = Pasta gigi daun salam konsentrasi 20%-60%

4.2 Analisis Hasil Penelitian

Hasil penelitian yang telah didapatkan kemudian dilakukan analisis data statistik. Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *Kolmogorov-Smirnov test* untuk uji normalitas, *Levene test* untuk uji homogenitas, lalu dilanjutkan dengan *One-Way Anova test* untuk melihat apakah ada perbedaan yang signifikan dari keseluruhan perlakuan. Bila terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) maka dilanjutkan *LSD test* untuk melihat perbedaan tiap kelompok perlakuan.

Uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov test* menunjukkan hasil probabilitas masing-masing kelompok lebih besar dari 0,05 ($\rho > 0,05$) yaitu $\rho = 0,570$ (60%); $\rho = 0,680$ (50%); $\rho = 0,519$ (40%); $\rho = 0,502$ (30%); $\rho = 0,681$ (20%). Hal ini dapat diartikan semua data yang dites berdistribusi normal karena $\rho > 0,05$.

Setelah diketahui data normal maka diuji homogenitasnya menggunakan *Levene test*. Uji homogenitas didapatkan hasil 0,067. Berdasarkan hasil uji homogenitas dengan *Levene test*, didapatkan probabilitasnya lebih dari 0,05 ($\rho > 0,05$) yang mempunyai arti bahwa data yang didapatkan homogen.

Setelah diketahui bahwa data terdistribusi normal dan data homogen maka dilanjutkan dengan *One-Way Anova test*. Uji ini dilakukan untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang signifikan antara seluruh kelompok penelitian. Hasil *One-Way Anova test* adalah $p = 0,000$, sehingga dapat diartikan bahwa ada perbedaan yang signifikan antara ketujuh kelompok penelitian di atas karena $p < 0,05$.

Setelah didapatkan hasil *One-Way Anova test* bahwa ada perbedaan yang signifikan antara ketujuh kelompok penelitian di atas, maka akan dilanjutkan dengan *LSD test*. *LSD test* ini dilakukan untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang signifikan antar kelompok daya hambat pasta gigi yang mengandung ekstrak daun salam konsentrasi 60%, 50%, 40%, 30%, 20% dengan kontrol positif dan kontrol negatif.

Tabel 4.2 Hasil analisis *LSD test* daya hambat pasta gigi ekstrak daun salam terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*

	*PGDS 20%	*PGDS 30%	*PGDS 40%	*PGDS 50%	*PGDS 60%	Kontrol positif	Kontrol negatif
PGDS 20%	1						
PGDS 30%	0.079	1					
PGDS 40%	0.000	0.000	1				
PGDS 50%	0.000	0.000	0.114	1			
PGDS 60%	0.000	0.000	0.000	0.006	1		
Kontrol positif	0.000	0.000	0.000	0.000	0.065	1	
Kontrol negatif	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1

Keterangan: PGDS=Pasta Gigi Ekstrak Daun Salam 20%-60%

Hasil *LSD test* di atas menunjukkan bahwa antar kelompok pasta gigi ekstrak daun salam 60%, 50%, 40%, 30%, dan 20% mempunyai perbedaan yang signifikan karena $p < 0,05$. Kontrol positif dengan pasta gigi ekstrak daun salam tidak ada perbedaan yang signifikan karena $p > 0,05$ yaitu $p = 0,065$. Hal ini menunjukkan daya hambat pasta gigi daun salam 60% hampir mendekati kontrol positif pasta gigi daun sirih dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*.

4.3 Pembahasan

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris yang bertujuan untuk mengetahui daya antibakteri pasta gigi ekstrak daun salam terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* selama 24 jam dengan cara mengukur diameter zona hambatan ekstrak daun sirih terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* menggunakan cakram kertas. Daun salam yang digunakan adalah daun salam yang didapatkan dari 4 ruas daun dari pucuk ranting. Menurut Ariana (2001), perasan daun salam adalah sediaan cair yang dibuat dengan cara memetik daun salam muda yang masih segar yaitu 4-6 daun dari pucuk.

Pada penelitian ini diperoleh hasil rata-rata daya hambat antibakteri pasta gigi ekstrak daun salam terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* yaitu pasta gigi ekstrak daun salam konsentrasi 60% mempunyai rata-rata diameter sebesar 8,45 mm, kemudian secara berturut-turut mengalami penurunan diameter zona hambatan pada kelompok pasta gigi ekstrak daun salam konsentrasi 50% yaitu 8,06 mm, pasta gigi ekstrak daun salam konsentrasi 40% yaitu 7,74 mm, pasta gigi ekstrak daun salam konsentrasi 30% yaitu 6,95 mm, pasta gigi ekstrak daun salam konsentrasi 20% yaitu 6,59mm. Penelitian lain telah membuktikan bahwa subyek yang berkumur air rebusan daun salam konsentrasi 100 %, 75 % dan 50 % dapat menurunkan jumlah koloni *Streptococcus mutans* (Sumono dan Agustin, 2009).

Zona hambatan adalah zona bening terdapat disekitar cakram pada media yang sudah diinokulasi *Streptococcus mutans*, menunjukkan zona yang tidak terdapat pertumbuhan *Streptococcus mutans*. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh bahwa pasta gigi ekstrak daun salam mempunyai daya antibakteri terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*. Hal ini ditunjukkan dari hasil *One-Way Anova test* dan *LSD test* adanya perbedaan bermakna diameter zona hambatan pasta gigi ekstrak daun salam konsentrasi 60%, 50%, 40%, 30%, 20% terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*.

Rata-rata diameter zona daya hambat pasta gigi ekstrak daun salam 60% lebih besar daripada zona daya hambat pasta gigi ekstrak daun salam 50%, 40%, 30%, 20% pada media lempeng agar. Semakin banyak kandungan bahan aktif

dalam suatu sediaan maka pengaruh yang dihasilkannya akan semakin besar juga. Umboh (2009) menyatakan bahwa zona hambat yang terbentuk semakin membesar dengan semakin tingginya konsentrasi ekstrak kasar daun salam.

Daun salam mampu menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* karena mempunyai daya antibakteri. Daya antibakteri daun salam dikarenakan ada flavonoid, minyak atsiri, eugenol dan tannin. Kandungan minyak atsiri mempunyai bahan aktif yang diduga mempunyai efek farmakologis. Tanin dan flavonoid merupakan bahan aktif yang mempunyai efek anti-inflamasi dan antimikroba, sedangkan minyak atsiri mempunyai efek analgesik (Robinson, 1995).

Minyak atsiri mengandung sitral dan eugenol yang berfungsi sebagai anestetik dan antiseptik (Dalimarta, 2005). Antiseptik adalah obat yang meniadakan atau mencegah keadaan sepsis, zat ini dapat membunuh atau mencegah pertumbuhan mikroorganisme (Ganiswara, 1995). Konsentrasi terkecil minyak atsiri yang mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* adalah 40%, sedangkan *Streptococcus aureus* sekitar 5% (Dalimartha, 2005). Kandungan eugenol merupakan analgesik dan antiseptik lokal yang baik. Eugenol atau fenol merupakan preparat analgesik gigi dan diperoleh dari minyak cengkeh atau sumber alami lainnya, preparat ini digunakan sebagai protektif gigi (Dorland, 1996). Eugenol mempunyai sifat sedative dan meredakan sakit (Harty dan Ogston, 1995).

Pelezar (1988) menyatakan bahwa sebagai antibakteri, flavonoid bekerja dengan menghambat perkembangan mikroorganisme karena mampu membentuk senyawa kompleks dengan protein melalui ikatan hidrogen. Mekanisme kerjanya dengan mendenaturasikan molekul-molekul protein dan asam nukleat yang menyebabkan koagulasi dan pembekuan protein yang akhirnya akan terjadi gangguan metabolisme dan fungsi fisiologis bakteri. Jika metabolisme bakteri terganggu maka kebutuhan energi tidak tercukupi sehingga mengakibatkan rusaknya sel bakteri secara permanen yang pada akhirnya menyebabkan kematian bakteri. (Sabir, 2003).

Tannin menyebabkan denaturasi protein dengan membentuk kompleks protein. Pembentukan kompleks protein melalui kekuatan nonspesifik seperti

ikatan hidrogen dan efek hidrofobik sebagaimana pembentukan ikatan kovalen, menginaktifkan adhesi kuman (molekul untuk menempel pada sel inang), menstimulasi sel-sel fagosit yang berperan dalam respon imun selular (Soebowo, 1993).

Streptococcus mutans merupakan bakteri gram positif yang mengandung peptidoglikan dan asam teikoid pada dinding selnya. Polaritas dari asam teikoid menyebabkan ekstrak etanol mampu berpenetrasi lebih mudah dibandingkan dengan ekstrak lainnya. Ekstrak etanol daun salam mengandung alkaloid dan fenol. Aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun salam menghambat pertumbuhan *Streptococcus* dapat berasal dari flavonoid dan fenol karena menurut Dwijoseputro (1994) menyatakan bahwa fenol dan komponen alkaloid menghambat sintesis dinding bakteri. Dinding sel bakteri terganggu karena rusaknya susunan dan perubahan mekanisme permeabilitas sehingga melemahkan bakteri dan akhirnya ekstrak etanol daun salam dapat menembus ke sel.

Pada kelompok kontrol positif yaitu menggunakan pasta gigi daun sirih dengan kandungan bahan aktif berupa *sodium monofluorophosphate, calcium glycerophosphate, sodium lauryl sulfatedan piper betle leaf oil* didapatkan diameter zona daya hambat terbesar dengan nilai rata-rata 9,0188 mm. Pasta gigi yang ditambahkan *sodium monofluorophosphate* memiliki sifat terapeutik yang artinya mampu langsung membunuh bakteri melalui beberapa cara antara lain: 1) ion fluornya menghambat glikolisis sel bakteri sehingga pembentukan energinya terganggu; 2) ion fosfat menyebabkan aglutinasi atau perlekatan dan terikatnya kuman sehingga tidak dapat melakukan fungsinya dengan baik (Putra, 2002).

Kontrol positif tentu jauh lebih efektif dibandingkan dengan pasta gigi ekstrak daun salam karena banyak komposisi lain yang berperan dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*. Daun salam yang kami gunakan adalah daun salam yang dipetik dari beberapa pohon salam yang tumbuh disekitar daerah Jember sehingga sampel yang digunakan adalah sampel dari berbagai pohon daun salam.

Kelompok kontrol negatif yaitu zona daya hambat pasta gigi plasebo memiliki diameter yang paling kecil dengan nilai rata-rata 5,000 mm. Pasta gigi

plasebo merupakan pasta gigi yang tidak mengandung bahan-bahan antibakteri namun hanya terdapat bahan dasar pasta gigi saja seperti *anis oil*, *menthol crystal*, *magnesium carbonate*, *calcium carbonate*, gliserin, polietil glikol, trietanol amin, oilum citri, dan air hangat. Diameter zona hambat pasta gigi plasebo pada semua kelompok nilainya sama yaitu 5 mm karena diameter cakram kertas saring yang digunakan adalah 5 mm.

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat diketahui pengaruh pasta gigi yang mengandung ekstrak daun salam (*Eugenia Polyantha Wight*) yaitu mempunyai daya antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*, dimana pasta gigi dengan kandungan ekstrak daun salam konsentrasi 60% lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan koloni *Streptococcus mutans* dibandingkan yang konsentrasi ekstrak daun salam 50%, 40%, 30%, 20%. Zona hambat antibakteri daun salam 60% tidak ada beda yang signifikan dengan kontrol positif pasta gigi daun sirih karena kandungan antibakteri daun salam (terutama flavonoid) pada konsentrasi 60% hampir sama efektif dengan kandungan antibakteri kontrol positif pasta gigi daun sirih, walaupun kita tidak tahu komposisi pasti produk pabrik. Zat yang diduga berkhasiat dari daun sirih adalah minyak atsiri. Kandungan minyak atsiri dalam daun sirih antara lain kadinen, kavikol, sineal, eugenol, karvakol dan zat samak (Suriawira, 2006). Selain itu, kandungan minyak atsiri dalam daun sirih juga berkhasiat sebagai desinfektan, antiseptik dan antioksidan (Heyne, 1997). Menurut Hasim (2003), pasta gigi yang mengandung minyak atsiri daun sirih memang tergolong baru, tetapi sebenarnya khasiat daun sirih sebagai antibakteri sudah diketahui dan dibuktikan sejak lama. Minyak atsiri yang terdapat dalam daun sirih yakni fenol betle dan kavikol menimbulkan aroma yang harum. Dua bahan ini dapat berfungsi sebagai antiseptik alami karena mengandung fenol alami. Hasim (2003) menyebutkan bahwa aktifitas antibakteri minyak atsiri daun sirih tampak efektif dibandingkan flour yang banyak digunakan pada pasta gigi selama ini.

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan bahwa:

1. Pasta gigi yang mengandung ekstrak daun salam mempunyai daya antibakteri terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*.
2. Konsentrasi ekstrak daun salam dalam pasta gigi yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* adalah 60%.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaplikasian pasta gigi yang mengandung ekstrak daun salam secara *in vivo* dan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui daya antibakteri yang berupa flavonoid dari daun salam dalam pasta gigi terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*.

DAFTAR BACAAN

- Al-Lafi T. dan Ababneh H.1995.The Effect of the Extract of the Miswak (Chewing Sticks) Used in Jordan and the Middle East on Oral Bacteria. *Research Journal*. UK: Dental School Periodontology Department University of Wales College of Medicine Cardiff.
- Amani, T.N.2003. Daya Anti Bakteri Pasta Gigi Yang Mengandung triclosan, Zinc Citrat dan Enzim terhadap Pertumbuhan Koloni Bakteri Saliva. Skripsi. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Amerongen.1992. *Ludah dan Kelenjar Ludah: Arti Bagi Kesehatan Gigi*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Ariana, D.N. 2002.Daya Hambat Perasan Daun Salam Eugenia Polyantha Wight Terhadap Pertumbuhan Candida Albicans.Skripsi. Jember: FAKultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Ariningrum, R.2002. Beberapa Cara Menjaga Kebersihan Gigi dan Mulut.*Cermin Dunia Kedokteran* 126: 45-51.
- Brooks, Geo, Janet S. Butel, L. Nicholas Ornston. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 23*.Jakarta: EGC.
- Dalimartha, S.1999. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia* jilid 1. Jakarta: Trubus Agriwidya.
- Dalimartha, S.2005. *Salam (Syzygium Polyanthum Wight)*. <http://www.pdpersi.co.id>. [05 Januari 2010]
- De Guzman, C.C. and J.S. Siemonsma (eds.).1999. *Plant Resources of South_East Asia 13: Spices*. PROSEA. Bogor.
- Dharmayanti, Sulistyowati E, dkk.2000. *Efektifitas Pemberian Propolis Lebah Dan Royal Jelly Pada Abses Yang disebabkan Staphylococcus aerus*. Pusat Penelitian Bogor: LIPI.

- Dorland. 1996. *Kamus Kedokteran Dorland*, Alih bahasa : Tim Penerjemah EGC. Judul Asli *Dorland's Illustrated Medical Dictionary (1985)*. Jakarta: EGC
- Dwidjoseputro, D. 1994. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Djambatan.
- Ganiswara, T.G.1995. *Farmakologi dan Terapi*. Jakarta: Farmakologi FK UI.
- Hartono.1998. Penilaian Klinis Pasta Gigi yang Mengandung Triclosan dan Zinc Citrate terhadap Gingivitis. Dalam *Jurnal Kedokteran Gigi*. Bandung: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran.
- Hasim. 2003. *Daun Sirih sebagai Antibakteri dalam Pasta Gigi*. <http://www.kompas.com> [02 Februari 201].
- Harty, F.J dan Ogston, R, 1995. *Kamus Kedokteran Gigi*. Terjemahan Harian Sumawinata dari Concise Illustrated Dental Dictionary (1987). Jakarta: EGC
- Heath, R.J., Rubin, J. R., Holland, D.R., Zhang, E, Snow, M.E., dan Rock, C.O. 1999.Mechanism of Triclosan Inhibition of Bacterial Fatty Acid Synthesis.*J Biol Chem*. Vol. 274, Issue 16, p.11110-11114
- Heriandi, Yuke Y dan Widya.2003. Genotipe Streptococcus mutans dan Streptococcus sobrinus Anak yang Mengonsumsi Makanan Kariogenik dan Non Kariogenik.*Jurnal PDGI* Thn 53 No3. Hal: 24-27.
- Heyne, K. 1997. *Tumbuhan Berguna di Indonesia*. Jakarta: Yayasan Sarana Wana Jaya.
- Houwink, B.1993.*Ilmu Kedokteran Gigi Pencegahan*. Yogyakarta : Gajah Mada University Press
- Indrawati, R. Retno.1999. Prevalensi Serotipe Streptococcus mutans yang Dominan pada Anak-Anak TK di Surabaya.*Majalah Ilmiah Kedokteran Gigi* Edisi Khusus FORIL VI. Hal: 11-15.

Jawetz, E., Melnick, J. L., & Adelbreg, E. A. 1995. *Mikrobiologi Kedokteran* Edisi 20. Jakarta: EGC.

Katzer, G. 2000. *Gernot Katzer's Spice Dictionary*. <http://www.ang.kfunigranz.ac.at/~katzer/engl/generic.html/Euge.p ol.html>. [05 Januari 2010].

Katzung, B.G. 1997. *Basic and Clinical Pharmacology. Farmakologi Dasar dan Klinik. Edisi 6*. Jakarta: EGC.

Kenneth Todor University. 2002. *The Bacterial Flora of Human*. http://textbookofbacteriology.net/nfstreptococcus_mutans1.jpeg.htm. [05 Januari 2010]

Kidd, E.A.M dan Bechal, S.J. 1992. *Essentials of Dental Caries: The Disease and It's Management. Dasar-dasar Karies: Penyakit dan Penanggulangannya*. Jakarta: EGC.

Lestari, S. dan Boesro, S. 1999. Pencegahan Karies Gigi Dengan Kumur-Kumur Larutan Fluor dan Pasta Gigi Berfluor di SDN Grogol 01, 03, dan 09 Jakarta Barat. *Majalah Ilmiah Kedokteran Gigi* Edisi Khusus Foril VI.

Mangundjaja, S, Muthalib, A dan Djais. 2001. The Effect of Dentrifice Containing Enzyme on Salivary Mutans Streptococcal Levels in Orthodontic Patients. *Dentika Dental Journal* Vol 6 No 1. Hal: 204-207

Mangundjaja, S. 2002. *Pengaruh Jamu terhadap Streptococcus mutans dan Stomatitis Aftosa Rekuren pada Pengidap HIV (Suatu kasus)*. <http://staff.ui.ac.id/internal/130366445/publikasi/PENGARUHJAMUTERHADAPPS.MUTANSDANSTOMATITSAFTOSAREKURENPADAPENGIDAPHI V.pdf> [05 Januari 2010]

Mangundjaja S, Muthalib, A. *Activity of Streptococcus mutans Isolated from Human Harboring Species in Kelapa Island Indonesia*. Hongkong: Poster Presentation at FDIC Conference October 1995.

Miller, A.L. 2005. *Antioksidant Flavonoids: Structure, Function and Clinical Usage*. <http://www.thorne.com/altcedrev/fulltext/flavonoid>

- Natamiharja. 1999. Pemilihan dan Pemakaian Sikat Gigi Masyarakat Kelurahan Beringin Kecamatan Medan Baru. *Majalah Kedokteran Gigi*. Vol. 4 No.2.
- Notoatmojo, S. 2002. *Metodologi Penelitian Edisi Revisi*. Jakarta: Rineka Pustaka
- Nugraha, AW. 2008. *Streptococcus mutans*. http://mikrobia.files.wordpress.com/2008/05/streptococcus-mutans_31.pdf [05 Januari 2010]
- Panjaitan, M. 2002. Hambatan natrium fluorida dan varnish fluorida terhadap pembentukan asam susu oleh mikroorganisme plak gigi. *Cermin Dunia Kedokteran* 126: 40-44.
- Parthasarathy VA, Chempakam B, Zachariah TJ. 2008. *Chemistry of Spices*. Oxfordshire: CABI.
- Patterson, MJ. 1996. *Streptococcus pyogenes, other Streptococci, and Enterococcus*. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=mmed&part=A800> [05 Januari 2010]
- Patterson MJ. 1996. *Streptococcus*. <http://en.wikipedia.org/wiki/Streptococcus> [05 Januari 2010]
- Pelezar W, Chan ESC. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 2*. Jakarta: UI Press
- Prahasanti, C. 2000. Pengaruh Pasta Gigi yang Mengandung Ekstrak Daun Sirih terhadap Pertumbuhan Plak Gigi. *Majalah Kedokteran Gigi* vol.33 No.4.
- Putra, T. 2002. Pasta Gigi yang Mengandung Fluor sebagai Salah Satu Bahan Mencegah Terjadinya Stomatitis Gigi Tiruan. *Jurnal PDGI* edisi Khusus Tahun ke-52:
- Randal, L.P. 2006. *Triclosan Information*. Available at: <http://www.cibasc.com/ind-pc-triclosan.htm>. [04 Maret 2006]

- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: ITB
- Roeslan, B.O. 1996. Karakteristik Streptococcus mutans Penyebab Karies Gigi. *Majalah Kedokteran Gigi* Thn. 10 No. 29-30. Hal: 47-50.
- Sabir, A. 2003. Pemanfaatan Flavonoid di Bidang Kedokteran Gigi. *Majalah Kedokteran Gigi Edisi Khusus Temu Ilmiah Nasional III*. Surabaya: Airlangga University Press
- Sasmita, I. Pertiwi, dan A. Halim. 2007. Gambaran Efek Pasta Gigi yang Mengandung Herbal Terhadap Penurunan Indeks Plak. *Jurnal PDGI*, Edisi Khusus PIN IKGA II:37-41.
- Schuurs, AHB.1993.*Patologi Gigi Geligi: Kelainan-Kelainan Jaringan Keras Gigi*. Yogyakarta:UGM
- Shelly, EMD. 2006. Pengaruh Berbagai Konsentrasi Perasan Daun Salam (Eugenia Polyantha Wight) sebagai Bahan Pembersih Gigi Tiruan Terhadap Jumlah Candida Albicans pada Lempeng Akrilik.Skripsi. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Soebowo. 1993. *Imunologi Klinik*. Bandung: Angkasa
- Sosialisih, L. 2002. *Penambahan Vitamin E dan Detergen terhadap Sifat Fisik dan Daya Anti Bakteri Pasta Gigi Minyak Atsiri Daun Sirih*.Skripsi. Bogor: IPB.
- Steel, Robert G.D. dan H. Torie. 1995. *Prinsip dan Prosedur Statistika Suatu Pendekatan Biometrik edisi 2*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Sulistiyani.2002. Pengaruh Konsentrasi Obat Kumur Sodium Fluoride terhadap KoloniStreptococcus mutans dan Biokompatibilitasnya. *Jurnal PDGI* Edisi Khusus thn 52. Hal: 48-51
- Suriawira, U. 2006. *Obat Berguna Sepanjang Masa*. <http://pikiranrakyat.com> [02 Februari 2012].

Syafiar, Lasminda.1992. Flouride Dentrifice. *Kumpulan Makalah Ilmiah Peringatan Ulang Tahun ke-31*. Medan: FKG USU.

Umboh, H. 2009. *Ekstrak Kasar Daun Salam (Syzgium Polyanthum) Sebagai Penghambat Pertumbuhan Esceria Coli PENY*. <http://www.hewansakit.com/news.php?showcn=8> [11 Januari 2010]

Wattimena, Joke.R, Nelly C. Sugiarto, Mathilda B. Widiyanto, Elin Y. Sukandar, Andreanus A. Soemardji, Anna R. Setiadi. 1991. *Farmakodinamik dan Terapi Antibiotik*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.

Winarto W. P., 2004, *Memfaatkan Bumbu Dapur untuk Mengatasi Aneka Penyakit*. Jakarta:Agromedia Pustaka.

Zaenab, Mardiasuti HW.2004.*Makara Kesehatan*, Vol. 8 No. 2 Desember 2004: 37-40.

LAMPIRAN A. Penghitungan Besar Sampel

Besar sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah berdasarkan rumus sebagai berikut:

$$n = \frac{(Z\alpha + Z\beta)^2 \sigma^2 D}{\delta^2}$$

Keterangan :

n : besar sampel minimal

$Z\alpha$: batas atas nilai konversi pada tabel distribusi normal untuk batas kemaknaan (1.96)

$Z\beta$: batas bawah nilai konversi pada tabel distribusi normal untuk batas kemaknaan (0.85)

$\sigma^2 D / \delta^2$: 1

α : tingkat signifikan (0,05)

maka hasil perhitungan sampel adalah sebagai berikut:

$$n = \frac{(Z\alpha + Z\beta)^2 \sigma^2 D}{\delta^2}$$

$$n = \frac{(1,96+0.85)^2 \sigma^2 D}{\delta^2}$$

$$n = (2,81)^2$$

$$n = 7.896$$

$$n = 8$$

Jadi besar sampel minimal berdasarkan rumus diatas adalah sebesar 8 sampel untuk masing-masing kelompok (Steel dkk, 1995).

LAMPIRAN B. Perbedaan Daya Hambat (Lebar Zona Inhibisi dalam mm) terhadap *Streptococcus mutans* dalam Pasta Gigi Setelah 24 Jam.

No sampel	Kontrol positif	PGDS 60%	PGDS 50%	PGDS 40%	PGDS 30%	PGDS 20%	PGDS negatif
1	9.00	7.60	8.00	7.80	5.90	6.40	5.00
2	10.20	8.50	7.70	7.50	6.50	6.50	5.00
3	8.75	8.40	7.60	7.60	7.00	6.50	5.00
4	9.00	8.00	8.20	8.00	7.00	6.60	5.00
5	8.50	8.30	8.00	7.50	7.20	5.80	5.00
6	8.90	8.30	8.90	8.50	6.00	8.00	5.00
7	1.10	9.00	9.00	8.30	7.80	7.30	5.00
8	1.10	9.10	9.00	8.70	8.00	7.40	5.00

LAMPIRAN C. Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		kontolpositif	PGDS60	PGDS50	PGDS40	PGDS30	PGDS20	PGDSnegatif
N		8	8	8	8	8	8	8
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	9,0188	8,4500	8,0625	7,7375	6,9500	6,5875	5,0000
	Std. Deviation	,43420	,41057	,39978	,37393	,52915	,53302	,00000 ^c
Most Extreme Differences	Absolute	,392	,202	,240	,184	,177	,241	
	Positive	,392	,202	,240	,184	,177	,241	
	Negative	-,143	-,160	-,124	-,138	-,163	-,159	
Kolmogorov-Smirnov Z		1,109	,570	,680	,519	,502	,681	
Asymp. Sig. (2-tailed)		,171	,901	,744	,950	,963	,743	

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. The distribution has no variance for this variable. One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test cannot be performed.

Test of Homogeneity of Variances

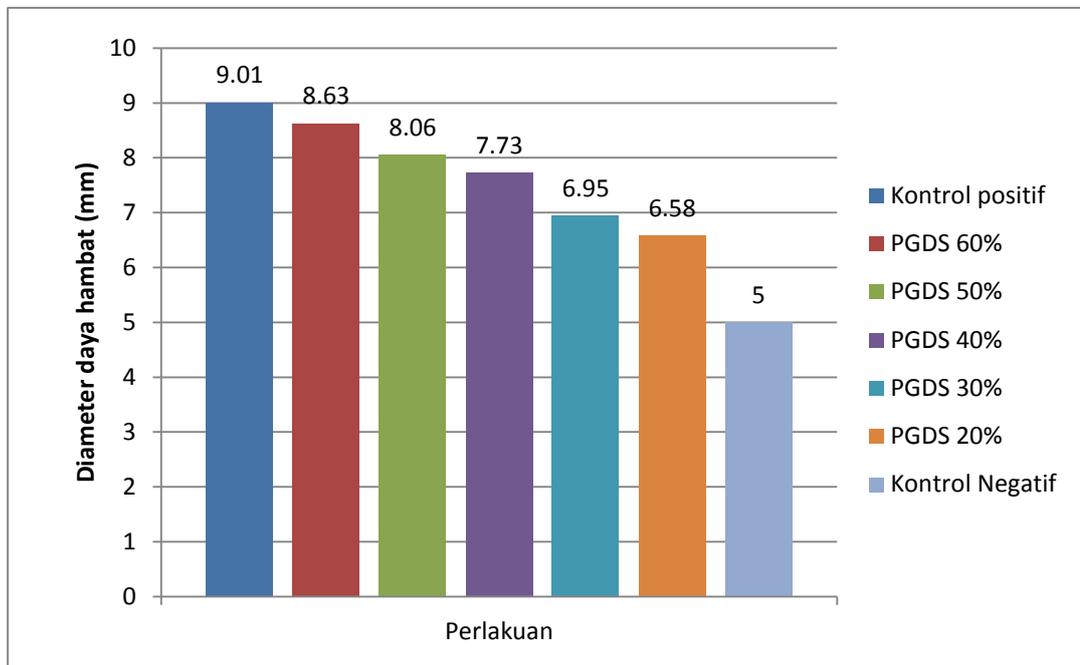
Zonainhibisi *S.Mutans*

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,129	6	49	,067

Lampiran D. Hasil Uji *One-Way Anova*

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kontrolpositif	8	9,0188	,43420	8,50	10,00
PGDS60	8	8,4500	,41057	8,00	9,10
PGDS50	8	8,0625	,39978	7,60	8,90
PGDS40	8	7,7375	,37393	7,30	8,50
PGDS30	8	6,9500	,52915	6,20	7,80
PGDS20	8	6,5875	,53302	5,80	7,40
PGDSnegatif	8	5,0000	,00000	5,00	5,00



ANOVA

Zonainhibisi S. Mutans

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	90,575	6	15,096	92,639	,000
Within Groups	7,985	49	,163		
Total	98,560	55			

Lampiran E. Hasil Uji LSD

Multiple Comparisons

Dependent Variable: zonainhibisi *S.mutans*

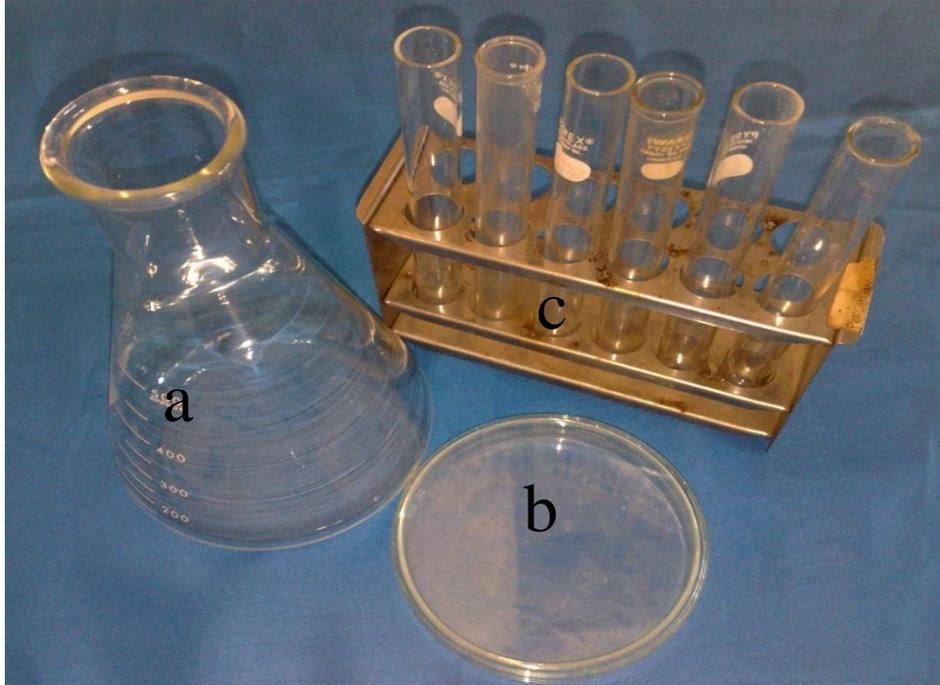
LSD

(I) pastagigi	(J) pastagigi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrolpositif	PGDS 60%	,38125	,20184	,065	-,0244	,7869
	PGDS 50%	,95625*	,20184	,000	,5506	1,3619
	PGDS 40%	1,28125*	,20184	,000	,8756	1,6869
	PGDS 30%	2,06875*	,20184	,000	1,6631	2,4744
	PGDS 20%	2,43125*	,20184	,000	2,0256	2,8369
	Kontrolnegatif	4,01875*	,20184	,000	3,6131	4,4244
PGDS 60%	kontrolpositif	-,38125	,20184	,065	-,7869	,0244
	PGDS 50%	,57500*	,20184	,006	,1694	,9806
	PGDS 40%	,90000*	,20184	,000	,4944	1,3056
	PGDS 30%	1,68750*	,20184	,000	1,2819	2,0931
	PGDS 20%	2,05000*	,20184	,000	1,6444	2,4556
	Kontrolnegatif	3,63750*	,20184	,000	3,2319	4,0431
PGDS 50%	kontrolpositif	-,95625*	,20184	,000	-1,3619	-,5506
	PGDS 60%	-,57500*	,20184	,006	-,9806	-,1694
	PGDS 40%	,32500	,20184	,114	-,0806	,7306
	PGDS 30%	1,11250*	,20184	,000	,7069	1,5181
	PGDS 20%	1,47500*	,20184	,000	1,0694	1,8806
	Kontrolnegatif	3,06250*	,20184	,000	2,6569	3,4681
PGDS 40%	kontrolpositif	-1,28125*	,20184	,000	-1,6869	-,8756
	PGDS 60%	-,90000*	,20184	,000	-1,3056	-,4944
	PGDS 50%	-,32500	,20184	,114	-,7306	,0806
	PGDS 30%	,78750*	,20184	,000	,3819	1,1931
	PGDS 20%	1,15000*	,20184	,000	,7444	1,5556
	Kontrolnegatif	2,73750*	,20184	,000	2,3319	3,1431
PGDS 30%	kontrolpositif	-2,06875*	,20184	,000	-2,4744	-1,6631
	PGDS 60%	-1,68750*	,20184	,000	-2,0931	-1,2819
	PGDS 50%	-1,11250*	,20184	,000	-1,5181	-,7069
	PGDS 40%	-,78750*	,20184	,000	-1,1931	-,3819
	PGDS 20%	,36250	,20184	,079	-,0431	,7681
	Kontrolnegatif	1,95000*	,20184	,000	1,5444	2,3556
PGDS 20%	kontrolpositif	-2,43125*	,20184	,000	-2,8369	-2,0256
	PGDS 60%	-2,05000*	,20184	,000	-2,4556	-1,6444
	PGDS 50%	-1,47500*	,20184	,000	-1,8806	-1,0694
	PGDS 40%	-1,15000*	,20184	,000	-1,5556	-,7444
	PGDS 30%	-,36250	,20184	,079	-,7681	,0431
	Kontrolnegatif	1,58750*	,20184	,000	1,1819	1,9931
Kontrolnegatif	kontrolpositif	-4,01875*	,20184	,000	-4,4244	-3,6131
	PGDS 60%	-3,63750*	,20184	,000	-4,0431	-3,2319
	PGDS 50%	-3,06250*	,20184	,000	-3,4681	-2,6569
	PGDS 40%	-2,73750*	,20184	,000	-3,1431	-2,3319
	PGDS 30%	-1,95000*	,20184	,000	-2,3556	-1,5444
	PGDS 20%	-1,58750*	,20184	,000	-1,9931	-1,1819

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

Lampiran F. Alat dan Bahan Penelitian

F.1 Alat yang digunakan dalam pembuatan media



Gambar F.1. Alat untuk pembuatan media: (a) tabung erlenmeyer, (b) tabung reaksi, (c) *petridish*



Gambar F.2. Spektrofotometer



Gambar F.3. Autoclave



Gambar F.4. Oven

F.2 Alat yang digunakan dalam inokulasi kuman dan daya uji antibakteri



Gambar F.5. Alat Penelitian: (a)thermolyne, (b) neraca ohaus, (c) lampu bunsen, (d) tabung reaksi, (e) desicator, (f) perforator, (g) jangka sorong, (h) gigaskrin, (i) ose, (j) pinset, (k) disposable syringe.

F.3 Bahan Penelitian



Gambar F.6. Bahan Penelitian: (a) kertas saring, (b) aquades steril, (c) bubuk BHI-B, (d) bubuk BHI-A, (e) pasta gigi plasebo, (f) pasta gigi ekstrakdaunsalamkonsentrasi 20%, (g) pasta gigi ekstrakdaunsalamkonsentrasi 30%, (h) pasta gigi ekstrakdaunsalamkonsentrasi 40%, (i) pasta gigi ekstrakdaunsalam konsentrasi 50%, (j)pasta gigi ekstrak daunsalamkonsentrasi 60% (k) pasta gigi Pepsodent.

Lampiran G. Pelaksanaan Penelitian



Gambar G.1. Daunsalam kering siap diekstrak



Gambar G.2. Hasil serbuk yang telah dimaserasi dengan etanol 96% sebanyak 7,5x berat serbuk selama 5 hari dan diaduk setiap hari



GambarG.3. Penyaringan



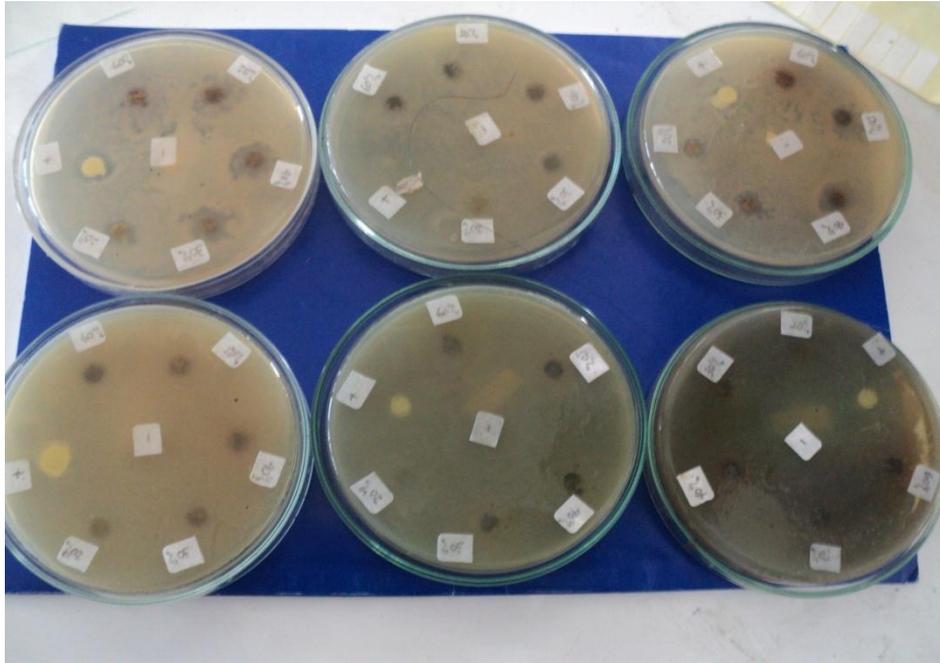
Gambar G.4. Pemekatandenganrotavapatorpadasuhu48° C



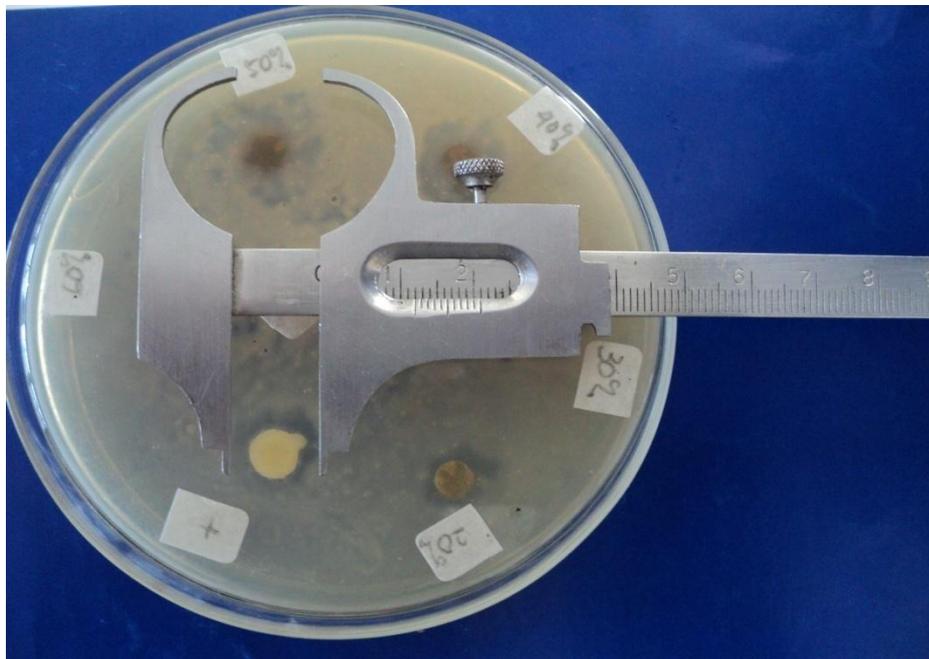
Gambar G.5. Ekstrakdaunsalam 100%



Gambar G.6. Inokulasisuspensi *Streptococcus mutans*



Gambar G.7. Pengujian pasta gidaunsalampada media lempeng agar



Gambar G.8. Pengukuran daerah inhibisi setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dalam inkubator.