



**ADHESI *Porphyromonas gingivalis* PADA NETROFIL YANG
DIINKUBASI EKSTRAK KELOPAK BUNGA ROSELLA
(*Hibiscus sabdariffa* L.)**

SKRIPSI

Oleh:

Lila Cita Pratiwi

NIM 081610101025

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

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Indeks Adhesi	5
2.2 <i>Porphyromonas gingivalis</i>	6
2.2.1 Klasifikasi	6
2.2.2 Karakteristik.....	7
2.2.3 Metabolisme.....	7
2.2.4 Mekanisme Perlekatan pada Inang.....	8
2.2.5 Peran dalam Patogenesis Penyakit Periodontal	

<i>(Indirect)</i>	9
2.3 Netrofil	11
2.3.1 Morfologi Netrofil.....	11
2.3.2 Membran Sel Netrofil	12
2.3.3 Mekanisme Netrofil dalam Pertahanan Tubuh	13
2.4 Rosella (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.)	17
2.4.1 Klasifikasi Rosella	17
2.4.2 Morfologi Rosella	18
2.4.3 Kandungan dan Manfaat Rosella	19
2.5 Hipotesis	22
BAB 3. METODE PENELITIAN	23
3.1 Jenis Penelitian	23
3.2 Rancangan Penelitian	23
3.3 Tempat dan Waktu Penelitian	23
3.4 Variabel Penelitian	23
3.4.1 Variabel Bebas	23
3.4.1.1 Definisi Operasional.....	23
3.4.2 Variabel Terikat	24
3.4.2.1 Definisi Operasional.....	24
3.4.3 Variabel Terkendali.....	24
3.5 Alat dan Bahan	25
3.5.1 Alat.....	25
3.5.2 Bahan	26
3.6 Prosedur Penelitian	26
3.6.1 Tahap Persiapan	26
3.6.2 Pelaksanaan Penelitian.....	28
3.7 Analisis Data	30
3.8 Alur Penelitian	31

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	32
4.1 Hasil Penelitian	32
4.1.1 Hasil Isolasi Netrofil dan Subkultur <i>P. gingivalis</i>	32
4.1.2 Hasil Uji Adhesi	33
4.1.3 Hasil Analisis Data	35
4.2 Pembahasan	37
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	42
5.1 Kesimpulan	42
5.2 Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN	48

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Kandungan kelopak kering bunga Rosella dalam 100 g.....	21
4.1 Rata-rata adhesi <i>P. gingivalis</i> pada netrofil antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.....	34
4.2 Ringkasan hasil Uji lanjut <i>Post Hoc LSD</i> Adhesi <i>P. gingivalis</i> pada netrofil.....	36

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 <i>Porphyromonas gingivalis</i>	7
2.2 Gambaran mikroskopis netrofil.....	12
2.3 Oponisasi	15
2.4 Tanaman Rosella (<i>Hibiscus sabdariffa L.</i>).....	18
4.1 Preparat Hasil Isolasi Netrofil.....	32
4.2 Sediaan <i>P. gingivalis</i>	33
4.3 Netrofil diinkubasi RPMI (kelompok kontrol) menunjukkan adhesi <i>P.gingivalis</i> (tanda panah) dalam jumlah banyak sehingga akan menyebabkan netrofil lisis (panah merah). Pembesaran 1000x	34
4.4 Netrofil diinkubasi ekstrak Rosella 50% (kelompok perlakuan 1) menunjukkan penurunan adhesi <i>P.gingivalis</i> (tanda panah) dengan jumlah rata-rata 5 bakteri/ sel.....	35
4.5 Netrofil diinkubasi ekstrak Rosella 100% (kelompok perlakuan 2) menunjukkan adhesi <i>P.gingivalis</i> (tanda panah) dalam jumlah sedikit dengan jumlah rata-rata 3 bakteri/ sel (pembesaran 1000x)	35
4.6 Diagram batang rata-rata adhesi <i>P. gingivalis</i> pada netrofil.....	37
4.7 Hasil uji viabilitas netrofil.....	39

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Hasil Perhitungan Rata-Rata Adhesi <i>P.gingivalis</i> Pada Netrofil	48
B. Analisis Data Penelitian	52
B.1 Deskriptif Data Penelitian	52
B.2 Uji Normalitas	52
B.3 Uji Homogenitas	53
B.4 Uji <i>One Way Anova</i>	53
B.5 Uji Lanjut <i>LSD</i>	54
C. Alat dan Bahan Pembuatan Ekstrak Kelopak Rosella	55
C.1 Alat Pembuatan Ekstrak Rosella.....	55
C.2 Bahan Pembuatan Ekstrak Rosella.....	56
D. Alat dan Bahan Subkultur <i>P. gingivalis</i>	57
D.1 Alat Subkultur <i>P. gingivalis</i>	57
D.2 Bahan Subkultur <i>P. gingivalis</i>	58
E. Alat dan Bahan Penelitian Uji Adhesi	59
E.1 Alat Penelitian Uji Adhesi	59
E.2 Bahan Penelitian Uji Adhesi	62

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tahap awal dari respon inflamasi terhadap infeksi bakteri adalah proses adhesi berupa perlekatan dan penjangkaran bakteri pada sel-sel inflamatori netrofil. Selama fase perlekatan, terjadi sentuhan kuat dengan bakteri. Sentuhan ini dapat terjadi secara langsung antara bakteri dengan netrofil melalui proses tanpa dorongan, dalam hal ini perlekatan sangat tergantung dari sifat-sifat permukaan bakteri yang akan difagositosis, misalnya hidrofobitas (Bellanti, 1993). Hal ini menyebabkan bakteri dapat melekat pada netrofil melalui interaksi hidrofobik, yaitu interaksi antara partikel hidrofob pada membran bakteri dan membran netrofil (BSN Medical, Tanpa Tahun). Pada keadaan lain, proses perlekatan ini dapat dipermudah oleh proses opsonisasi yaitu proses pelapisan partikel antigen oleh antibodi yang terdapat di dalam serum darah, sehingga menyebabkan bakteri dapat melekat dengan mudah pada reseptornya yang terdapat di membran netrofil (Robbins dan Kumar, 1995; Susanti dan Rahayuningsih, 2003).

Salah satu bakteri penyebab inflamasi di jaringan periodontal adalah *Porphyromonas gingivalis*. *Porphyromonas gingivalis* adalah bakteri anaerob gram negatif. Bakteri ini merupakan salah satu bakteri yang paling sering ditemui pada kasus periodontitis kronis. Analisis genom menunjukkan bahwa *P. gingivalis* dapat memetabolisme asam amino dan menghasilkan sejumlah metabolit atau produk akhir yang bersifat racun terhadap jaringan gingiva pada manusia (MicrobeWiki, 2008). Perusakan jaringan akibat produk akhir ini akan menimbulkan reaksi inflamasi yang pada awalnya diperankan oleh sel inflamatori netrofil.

Netrofil adalah lekosit granular matur polimorfonuklear, memiliki daya lekat dengan kompleks imun, dan kemampuan fagositosis (Dorland, 2002). Netrofil berperan penting pada respon radang akut, beberapa jam setelah dimulai radang akut,

terjadi peningkatan jumlah netrofil dalam darah. Hal ini disebabkan karena adanya mediator peradangan seperti histamin, bradikinin, serotonin, prostaglandin, beberapa produk sistem komplemen dan produk reaksi pembuluh darah yang memasuki aliran darah kemudian ditranspor di sumsum tulang guna menggerakkan netrofil-netrofil ke dalam sirkulasi untuk segera menuju daerah radang (Guyton dan Hall, 2007).

Netrofil ini berfungsi untuk menjaga imunitas tubuh terhadap infeksi dengan cara kemotaksis (pelepasan lekosit dari aliran darah menuju tempat infeksi), fagositosis (proses penghilangan benda asing seperti bakteri), dan penghancuran agen infeksi. Netrofil dengan proses kemotaksis akan bermigrasi untuk berfungsi sebagai fagosit yang mengontrol kontaminasi lokal dan mencegah infeksi (Rasuna, 2010). Faktor-faktor kemotaksis dapat endogen berasal dari protein plasma, maupun eksogen misalnya dari produk bakteri (Robbins dan Kumar, 1995). Sebuah netrofil biasanya dapat memfagositosis 3 sampai 20 bakteri sebelum sel itu menjadi inaktif dan lisis. Setelah itu akan terjadi akumulasi dari netrofil mati, makrofag mati, jaringan nekrotik, dan cairan jaringan yang akan membentuk pus pada jaringan yang meradang (Guyton dan Hall, 2007). Perusakan netrofil juga menyebabkan terjadinya pelepasan mediator inflamasi serta enzim proteolitik, pepsin, dan cathepsin, yang mengakibatkan lisisnya jaringan (Grossman, 1995).

Berdasarkan uraian di atas, *P. gingivalis* dapat melekat pada netrofil melalui reseptor yang terdapat pada membran netrofil. Selain itu melalui interaksi hidrofobik antara partikel hidrofob pada membran *P. gingivalis* dan membran netrofil (BSN Medical, Tanpa Tahun). Setelah melekat, netrofil akan membentuk pseudopodia yang dijulurkan di sekitar bakteri, mengelilingi bakteri dan berfusi membentuk vesikel / vakuola fagosom. *Porphyromonas gingivalis* yang berada dalam fagosom selanjutnya dibunuh oleh mekanisme bakterisidal (Ferencik *et al.* dalam Susanti dan Rahayuningsih, 2003). Proses ini mengakibatkan terjadinya respon inflamasi berupa bengkak, rasa sakit, kemerahan, panas, dan apabila respon berlangsung terus-menerus, bisa berlanjut hingga terjadinya penurunan fungsi jaringan periodontal.

Sehingga inflamasi harus dikontrol, salah satunya dapat melalui pengendalian aktifitas netrofil.

Banyak penelitian yang telah membuktikan bahwa ekstrak kelopak bunga Rosella bersifat sebagai anti inflamasi untuk mencegah peradangan dan mengurangi rasa nyeri pada saat infeksi terjadi. Khasiat yang terdapat dalam kelopak bunga Rosella ini tidak terlepas dari kandungan senyawa aktif di dalamnya. Penelitian membuktikan bahwa kelopak bunga Rosella mengandung berbagai macam zat aktif yang salah satunya adalah antosianin. Antosianin merupakan derivat flavonoid yang telah diteliti memiliki efek antioksidan yang kuat dan antiinflamasi (Galvano *et al.*, 2007; Rossi *et al.*, 2003; dan Adhikari *et al.*, 2005). Flavonoid juga mampu menghambat perlekatan bakteri dengan cara mengikat protein permukaan bakteri dan menurunkan hidrofobisitas reseptor pada membran sel fagosit (Hamsafir,2010; Septiana *et al.*, 2006). Oleh karena itu patut diduga bahwa, kandungan flavonoid pada kelopak bunga *Rosella* dapat menurunkan daya adhesi *P. gingivalis* pada membran netrofil.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka timbul permasalahan yaitu apakah pemberian ekstrak kelopak bunga Rosella dapat menurunkan indeks adhesi *P. gingivalis* pada netrofil?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah menganalisis pemberian ekstrak kelopak bunga Rosella dalam menurunkan indeks adhesi *P. gingivalis* pada netrofil.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat diantaranya :

- a. Sebagai tambahan informasi kepada masyarakat mengenai efektifitas ekstrak kelopak bunga Rosella terhadap terhadap indeks adhesi *P. gingivalis* pada sel netrofil.
- b. Sebagai acuan penelitian lebih lanjut, terutama berkaitan dengan penyakit yang diakibatkan peradangan.
- c. Sebagai tambahan informasi kepada masyarakat mengenai manfaat tanaman Rosella sebagai bahan obat tradisional

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Indeks Adhesi

Kata adhesi berasal dari bahasa latin *adhaere* yang berarti melekat. Secara terminologi adhesi berarti gaya tarik menarik atau daya mengumpul antara molekul-molekul dari zat-zat yang tidak sejenis. Gaya ini menyebabkan antara zat yang satu dengan yang lain dapat menempel dengan baik karena molekulnya saling tarik menarik atau merekat, atau juga bisa dikatakan bahwa adhesi adalah perlekatan antara dua zat yang memiliki perbedaan jenis dan struktur (Amanda, 2010).

Proses adhesi adalah merupakan tahap awal infeksi bakteri yang berperan dalam kolonisasinya pada permukaan sel inang. Adhesi bakteri pada permukaan sel memperpendek jarak antara bakteri dengan permukaan tubuh sehingga mempermudah toksin atau metabolit lain yang dihasilkan bakteri untuk melekat pada reseptornya di permukaan sel inang. Dalam proses adhesi dikenal dua bentuk yaitu (a) adhesi yang bersifat nonspesifik dan (b) adhesi yang bersifat spesifik. Pada adhesi yang nonspesifik, perlekatan tidak melibatkan peran reseptor permukaan. Proses adhesi disebabkan karena adanya sifat hidrofobisitas agen dan perbedaan muatan listrik permukaan bakteri dengan permukaan sel inang sehingga perlekatan umumnya tidak kuat dan bersifat ireversibel. Sedangkan pada adhesi spesifik, perlekatan diperantarai oleh reseptor permukaan sel inang yang mampu berikatan dengan antigen permukaan bakteri (Wibawan *et al.*, 1992; Shuter *et al.*, 1996). Kemampuan bakteri untuk adhesi pada sel inang juga tergantung struktur atau molekul yang dapat menempel atau adhesi yang disebut adhesin, yang memungkinkan organisme tersebut menempel pada reseptor yang terdapat pada sel inang (Jacques dan Paradis, 1998). Pada interaksi hidrofobik terjadi perlekatan antara partikel hidrofobik (menolak air) pada membran sel bakteri dengan membran sel inang, saat mengalami kontak dengan lingkungan yang *aqueous*. Perlekatan bakteri dengan sel jaringan melalui interaksi

hidrofobik adalah langkah pertama terjadinya infeksi (BSN Medical, Tanpa Tahun). Menurut Wizemann, Adomoum, dan Langermann (dalam Wijayanti, 2008) mencegah penempelan atau adhesi bakteri pada reseptor yang terdapat pada sel inang dan kolonisasi mungkin merupakan kiat yang paling efektif dalam mencegah terjadinya infeksi.

Pada penelitian Wahyudi (2007) tentang adhesi dan aktifitas fagositosis sel polimorfonuklear terhadap *Staphylococcus aureus* asal susu sapi perah dan manusia yang bersifat multiresisten terhadap antibiotik, disebutkan bahwa indeks adhesi dan fagositosis dari sel netrofil dapat ditentukan dengan menghitung jumlah bakteri yang menempel dan yang difagosit oleh setiap sel netrofil dari 10 sel netrofil pada setiap preparat apus, dengan menggunakan mikroskop. Berdasarkan penelitian tersebut maka dapat disimpulkan bahwa indeks adhesi adalah banyaknya *bakteri* yang melekat pada sel inang persatuan jumlah sel inang (Santosaningsih, 2004).

2.2 *Porphyromonas gingivalis*

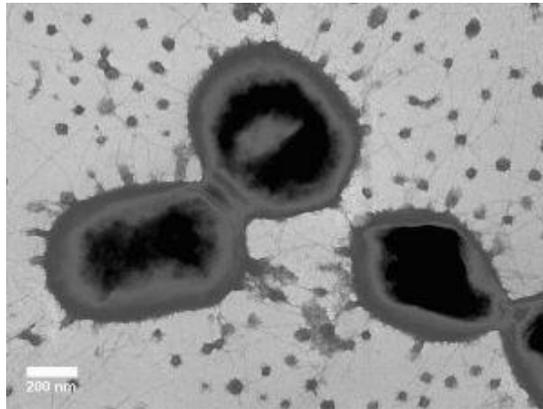
2.2.1 Klasifikasi

Secara taksonomi, *P.gingivalis* diklasifikasikan sebagai berikut (MicrobeWiki, 2010):

Kingdom : Bacteria
 Superphylum : Bactroidetes/ Chlorobi group
 Phylum : Bacteroidetes
 Class : Bacteroides
 Ordo : Bacteriodales
 Family : *Porphyromonadaceae*
 Genus : *Porphyromonas*
 Species : *Porphyromonas gingivalis*

2.2.2 Karakteristik

Karakter *P. gingivalis* adalah memiliki bercak hitam, *pleomorphic* terutama berbentuk batang pendek, non-motil, gram negatif, non-fermentasi, tidak membentuk spora, obligat anaerob, *asaccharolytic*, dapat tumbuh optimum pada suhu 36,8- 39°C dengan pH antara 7.5-8.0 (Iriano, 2008). Gambaran mikroskopis *P. gingivalis* dapat dilihat pada gambar 2.1.



Gambar 2.1 *Porphyromonas gingivalis* (MicrobeWiki, 2010)

2.2.3 Metabolisme

Porphyromonas gingivalis membutuhkan hemin, hasil akhir metabolik darah sebagai sumber zat besi, serta peptida untuk pertumbuhan. Bakteri akan mengikat hemin pada permukaan sel dan mentransportasikan seluruh molekulnya ke dalam sel dengan dengan mekanisme yang membutuhkan suatu energi. Untuk memenuhi kebutuhan ini, bakteri menghasilkan tiga hemaglutinin yang berpartisipasi dalam interaksi perlekatan dengan inang dan lima proteinase yang berkontribusi untuk menginaktifkan molekul efektor pada respon imun dan juga berperan dalam destruksi jaringan (Iriano, 2008).

2.2.4 Mekanisme Perlekatan pada Inang

Porphyromonas gingivalis membutuhkan bakteri pendahulu beserta produknya yang terdapat dalam plak seperti *Streptococcus*, untuk menciptakan kondisi lingkungan yang adekuat dan memfasilitasi kolonisasi *P. gingivalis*, melalui penyediaan area perlekatan antar spesies dan substrat untuk pertumbuhan, serta penurunan tekanan oksigen hingga level yang rendah yang dibutuhkan untuk pertumbuhan dan pertahanannya sebagai bakteri anaerob (Richard dan Howard 1998).

Perlekatan *P. gingivalis* dibantu berbagai faktor virulensi yang berhubungan dengan destruksi jaringan dan mekanisme pertahanan terhadap inang, yang meliputi :

- 1) *Fimbriae* sebagai perantara utama dalam perlekatan bakteri ke substrat yang tersedia, selain itu juga memiliki sifat kemotaktik dan induksi sitokin yang juga terlibat dalam patogenesis (Iriano, 2008). *Fimbriae* pada permukaan sel bakteri sering disebut sebagai hidrofobin yang bertanggung jawab terhadap interaksi bakteri dengan sel hospes. Bakteri yang mempunyai protein dengan sifat hidrofob lebih mudah difagosit oleh sel-sel polimorfonuklear leukosit (Khusnan dan Salasia, 2006).
- 2) Protease, terutama arginin-spesifik, yang disebut *gingipain*, dapat mendegradasi molekul inang seperti imunoglobulin, komplemen, protein sekuester hemin, hemolisin, kolagenase, dan protein jaringan ikat inang, serta berperan dalam jalur tidak langsung untuk menghancurkan dengan mendegradasi inhibitor yang dihasilkan sel inang untuk mengatur protease sel inang yang terlibat dalam inflamasi.
- 3) Hemaglutinin akan menginisiasi kolonisasi dengan cara memperantarai pengikatan bakteri dengan reseptor (biasanya oligosakarida) pada sel manusia, karena bakteri ini membutuhkan hemin untuk pertumbuhan, maka ikatannya dengan eritrosit sel tubuh manusia juga memberikan fungsi nutrisi (Iriano, 2008). Hemaglutinin dan *fimbriae* mempunyai arti sebagai adhesin untuk perlekatan bakteri gram negatif pada sel hospes (Khusnan dan Salasia, 2006).

4) Kapsular polisakarida yang menghambat fagositosis oleh sel imun inang serta berperan penting dalam perlekatan sel (Iriano, 2008).

Untuk memudahkan bakteri berpenetrasi ke jaringan dan mengganggu aktivitas sel tubuh, maka bakteri menghasilkan produk akhir metabolik meliputi butirrat dan propionat yang memiliki berat molekul rendah (MicrobeWiki, 2010).

Mekanisme perlawanan bakteri terhadap sel inang, yaitu dihasilkannya asam suksinat yang akan menghambat kemotaksis netrofil, dengan cara menurunkan pH intrasel pada netrofil serta menghambat pergerakan respon PMN terhadap peptide kemotaktik dengan cara mendepolarisasi membran PMN (Richard dan Howard, 1998).

2.2.5 Peran Dalam Patogenesis Penyakit Periodontal (*Indirect*)

Periodontitis adalah suatu penyakit peradangan pada jaringan penyangga gigi yang disebabkan oleh mikroorganisme tertentu sehingga mengakibatkan kerusakan yang progresif pada ligamen periodontal dan tulang alveolar ditandai dengan terbentuknya poket, resesi, atau kedua-duanya. Kerusakan ini dapat disebabkan oleh toksin yang diproduksi oleh bakteri maupun oleh aktifitas sel-sel dan mediator proinflamatori yang berlebihan. Komponen struktur bakteri dapat merangsang perkembangan reaksi kekebalan host yang tidak hanya mampu melindungi inang terhadap infeksi tetapi juga menyebabkan kerusakan jaringan periodontal parah. Salah satu penyebab dari terjadinya periodontitis kronis adalah *P. gingivalis* (Carranza *et al.* , 2006).

Komponen dinding sel dari *P. gingivalis*, seperti lipopolisakarida (LPS), dapat merangsang pelepasan sitokin pro-inflamasi (IL-1b, IL-6, CXCL8 atau IL-8, TNF-a), prostaglandin, oksida nitrat, dan radikal bebas. Zat-zat kimia tersebut adalah mediator peradangan dan kebanyakan dari mereka dapat merangsang resorpsi tulang. LPS dan mediator inflamasi juga memiliki efek langsung terhadap aktifitas osteoblas, yaitu menyebabkan penurunan jumlah sel osteoblas fungsional. Hasil dari aktifitas ini

adalah terjadinya kehilangan perlekatan, termasuk tulang dan jaringan ikat periodontal. Selain itu, radikal bebas seperti superoksida dan peroksida hidrogen, bersama pelepasan enzim lisosomal oleh lekosit polimorfonuklear, dapat menimbulkan kerusakan matriks ekstraseluler jaringan ikat, serta menyebabkan pembentukan *pus* yang terkait dengan abses (Siquera dan Rocas, 2007). LPS juga dapat mengaktivasi komplemen jalur alternatif tanpa adanya antibodi. Hasil aktivasi ini adalah C3b yang mempunyai efek opsonisasi (Baratawidjaja, 1996).

Setelah bakteri melekat pada netrofil, maka netrofil akan menonjolkan pseudopodia ke semua jurusan di sekeliling partikel. Pseudopodia bertemu satu sama lain pada sisi yang berlawanan dan bergabung. Hal ini menciptakan ruangan tertutup yang berisi partikel yang sudah difagositosis. Segera setelah partikel asing difagositosis, lisosom dan granula sitoplasmik lainnya segera datang untuk bersentuhan dengan gelembung fagositik, dan membrannya bergabung dengan membran pada gelembung, selanjutnya mengeluarkan banyak enzim pencernaan dan bahan bakterisidal ke dalam gelembung untuk membunuh bakteri (Guyton dan Hall, 2007). Aktifitas fagositosis netrofil juga dapat menyebabkan terbentuknya radikal bebas *Reactive Oxygen Species* (ROS). Hal ini berhubungan dengan peningkatan konsumsi oksigen pada saat fagositosis dan merangsang aktifitas *Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate* (NADPH) yang mempengaruhi terbentuknya radikal superoksid O_2 . ROS dapat menyebabkan kerusakan dengan berbagai mekanisme, yaitu :

- a. Melalui proses peroksidasi lipid yang terjadi apabila radikal bebas berdekatan dengan membrane fosfolipid sehingga akan menyerang rantai lipid tersebut dan mengambil electron lipid yang mengakibatkan kerusakan sel.
- b. Merusak *deoxyribonucleic acid* (DNA) dengan memutuskan rantai basis hidrosil.
- c. Merusak protein pada *proteoglycan* dan *gingival hyaluronic acid* yang diketahui dapat membantu proses penyembuhan gingivitis.

- d. Merangsang proses inflamasi dengan mengeluarkan proinflamatori sitokin dari monosit dan makrofag sehingga akan menstimulasi inflamasi secara terus menerus yang akan menyebabkan inflamasi periodontal (Shafie, 2011).

2.3 Netrofil

2.3.1 Morfologi Netrofil

Pada manusia granulasit dalam sirkulasi terdiri dari tiga macam sel yang secara morfologis dapat dibedakan ikut terlibat dalam banyak reaksi-reaksi imunologik di jaringan. Sel-sel ini termasuk netrofil, eosinofil, dan basofil, dari ketiga sel ini hanya netrofil yang terutama berperan dalam fagositik, sedang eosinofil hanya sedikit sekali (Bellanti, 1993).

Lekosit netrofil atau polimorfonuklear (PMN) dalam keadaan normal berjumlah 60-70 persen dari jumlah seluruh eukosit di dalam arah perifer orang dewasa. Netrofil adalah garis pertahanan pertama tubuh terhadap invasi oleh bakteri, sangat fagositik dan sangat aktif. Tidak seperti makrofag, netrofil adalah sel terminal dan diferensiasi myeloid dan tidak membelah. Sesudah periode pendek (sekitar 12 jam) PMN masuk ke dalam jaringan, dimana mereka menyelesaikan jangka hidupnya dalam beberapa hari. Secara normal sel-sel ini tidak pernah kembali dari jaringan ke dalam darah (Bellanti, 1993)

Granulosit (lekosit polimorfonuklear atau netrofil) mengandung sedikitnya dua tipe granula : (1) Azurofil atau granula primer dan (2) granula sekunder atau spesifik (Jawetz, 2005). Granula primer (azurofil) berdiameter 0,4 mikron (μ) yang tampak pada awal dan berciri serupa dengan lisosom jaringan lain (Bellanti, 1993). Granula primer ini mengandung lisozim, enzim hidrolitik lain dan beberapa protein kationik serta defensin, suatu antimikroba. Granula sekunder atau spesifik mengandung laktoferin dan beberapa enzim termasuk kolagenase. Kedua jenis granula ini penting dalam penghancuran benda-benda yang ditelan dan dalam pembunuhan mikroorganisme. Produksi dan pelepasan granulosit diduga dibawah

pengendalian faktor seluler humoral (Jawetz dkk, 2005). Gambaran mikroskopik netrofil dapat dilihat pada gambar 2.2.



Gambar 2.2 Gambaran mikroskopis netrofil (Vachani, 2006)

2.3.2 Membran Sel Netrofil

Membran sel (disebut juga membran plasma), yang menyelubungi sel adalah suatu struktur yang elastik, fleksibel, tipis dengan ketebalan hanya 7,5 sampai 10 nanometer. Membran sel berfungsi sebagai barier semipermeabel yang memungkinkan molekul yang berukuran kecil dapat keluar masuk ke dalam sel. Hasil pengamatan mikroskop elektron terhadap membran sel menunjukkan bahwa membran sel merupakan lipid bilayer (disebut sebagai fluid-mosaic model). Molekul penyusun utama adalah fosfolipid, yang terdiri dari bagian kepala yang polar (hidrofilik) dan dua ekor nonpolar (hidrofobik). Fosfolipid ini tersusun atas bagian nonpolar membentuk daerah hidrofobik yang diapit oleh daerah kepala yang pada bagian dalam dan luar membran. Perkiraan komposisi membran sel adalah: protein 55%, fosfolipid 25%, kolesterol 13%, lipid lain 4%, dan karbohidrat 3% (Guyton dan Hall, 2007).

Protein pada membran sel sebagian besar tersusun atas glikoprotein. Terdapat dua jenis protein membran yaitu : protein integral yang menembus membran sepenuhnya dan protein perifer yang hanya melekat pada satu sisi atau permukaan

membran dan tidak menembus membran sepenuhnya. Protein integral memiliki banyak fungsi, salah satunya adalah sebagai reseptor. Interaksi reseptor dengan molekul tertentu (ligan) spesifik yang menempel pada reseptor, mengakibatkan perubahan bentuk reseptor. Hal tersebut selanjutnya mengaktifasi bagian dalam protein integral atau menginduksi terjadinya interaksi antara reseptor dan protein yang terdapat dalam sitoplasma, yang berperan sebagai *second messenger*. Oleh karena itu sinyal dapat diteruskan dari bagian luar reseptor ke dalam sel. Dalam hal ini protein integral yang tersebar di membran sel berfungsi sebagai sarana penyampaian informasi mengenai lingkungan di luar ke dalam sel. Pada netrofil reseptor ini berupa reseptor Fc (FcR) dan reseptor C3b (C3bR) yang berinteraksi dengan sebuah antibody yang diangkut darah yaitu IgG dan sebuah komponen komplemen dari plasma darah yaitu C3b, yang melekat pada permukaan bakteri pada proses opsonisasi. Hal ini menyebabkan bakteri bisa menempel pada membran netrofil (Guyton dan Hall, 2007).

2.3.3 Mekanisme Netrofil dalam Pertahanan Tubuh

Netrofil merupakan sel pertahanan tubuh non spesifik yang pertama kali mengatasi adanya antigen dengan memfagosit antigen tersebut. Netrofil dapat menyerang dan menghancurkan bakteri, bahkan di dalam sirkulasi darah. Netrofil berperan penting pada respon radang akut, dimana terjadi perubahan-perubahan vaskuler dan eksudasi. Beberapa jam setelah dimulai radang akut, terjadi peningkatan jumlah netrofil dalam darah, kadang-kadang sampai empat hingga lima kali lipat dari jumlah normal. Hal ini disebabkan karena adanya mediator peradangan seperti histamin, bradikinin, serotonin, prostaglandin, beberapa produk sistem komplemen dan produk reaksi pembuluh darah yang memasuki aliran darah kemudian ditranspor di sumsum tulang guna menggerakkan netrofil-netrofil ke dalam sirkulasi untuk segera menuju daerah radang (Guyton dan Hall, 2007).

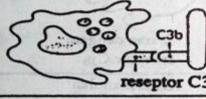
Netrofil akan bereaksi terhadap inflamasi dengan berakumulasi mendekati sel

endotel dinding venula. Proses ini disebut *marginasi*. Akumulasi dan penempelan netrofil pada permukaan endotel terjadi karena adanya molekul adhesi yang dilepaskan endotel akibat pengaruh IL-1 yang diproduksi netrofil. Molekul adhesi tersebut antara lain P-selektin dan *intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1) (Firman, 2007). Selain itu adhesi netrofil pada sel endotel juga memakai protein adhesif spesifik yakni integrin yang terletak pada permukaan netrofil, dan juga dengan menggunakan protein reseptor spesifik dalam sel endotel tersebut. Integrin ini juga akan menentukan interaksi spesifik netrofil dengan berbagai sel dan komponen jaringan (Tihnulat, 2009).

Setelah netrofil mengadakan kemotaksis dan berada di lokasi di mana bakteri tersebut berada, akan terjadi perlekatan antara bakteri dengan netrofil. Meskipun sel-sel fagosit memiliki kemampuan intrinsik untuk mengikat bakteri secara langsung dan tanpa didahului oleh suatu proses pengenalan yang khas, tetapi perlekatan tersebut akan dipermudah bila bakteri diliputi oleh opsonin yang terdapat dalam serum (Robbins dan Kumar, 1995). Setelah proses opsonisasi, opsonin yang mengikat bakteri mudah melekat pada reseptornya di membran netrofil (Susanti dan Rahayuningsih, 2003). Hal tersebut dimungkinkan oleh adanya reseptor untuk C3b dan fraksi Fc dari immunoglobulin pada permukaan fagosit (gambar 2.3) (Baratawidjaja, 1996).

Sewaktu mendekati suatu partikel untuk difagositosis, mula-mula netrofil melekatkan diri pada partikel kemudian menonjolkan pseudopodia ke semua jurusan di sekeliling partikel. Pseudopodia bertemu satu sama lain pada sisi yang berlawanan dan bergabung. Hal ini menciptakan ruangan tertutup yang berisi partikel yang sudah difagositosis. Kemudian ruangan ini berinvasi ke dalam rongga sitoplasma dan melepaskan diri dari membran sel bagian luar untuk membentuk gelembung fagositik yang mengapung dengan bebas (juga disebut fagosom) di dalam sitoplasma. Segera setelah partikel asing difagositosis, lisosom dan granula sitoplasmik lainnya segera datang untuk bersentuhan dengan gelembung fagositik, dan membrannya bergabung dengan membran pada gelembung, selanjutnya mengeluarkan banyak enzim

pencernaan dan bahan bakterisidal ke dalam gelembung. Jadi, gelembung fagositik sekarang menjadi gelembung pencernaan, dan segera dimulailah proses pencernaan bakteri yang sudah difagositosis (Guyton dan Hall, 2007).

fagosit	opsonin	ikatan
1 	-	±
2 	komplemen C3b	+ +
3 	antibodi	+
4 	antibodi dan komplemen	+ + + +

Keterangan :

1. Fagosit mempunyai kemampuan intrinsik untuk mengikat mikroorganisme secara langsung
2. Ikatan tersebut lebih mudah bila bakteri mengaktifkan komplemen C3b
3. Bakteri yang tidak mengaktifkan komplemen, dapat diikat fagosit dengan bantuan antibody yang berfungsi sebagai jembatan yang mengikatkan bakteri dengan reseptor Fc pada fagosit.
4. Bila ada antibody bersama C3b, ikatan menjadi lebih mudah lagi terjadi.

Gambar 2.3. Opsonisasi (Baratawidjaja, 1996)

Selain mencerna bakteri yang dicerna di dalam fagosom, netrofil juga mengandung bahan bakterisidal yang membunuh sebagian besar bakteri, bahkan bila enzim lisosomal gagal mencerna bakteri tersebut. Banyak efek pembunuhan merupakan hasil dari beberapa bahan pengoksidasi kuat yang dibentuk oleh enzim dalam membrane fagosom, atau oleh organel khusus yang disebut peroksisom. Bahan pengoksidasi ini ialah sejumlah besar superoksida (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2),

dan ion-ion hidroksil (OH^-), semuanya bersifat mematikan bagi sebagian besar bakteri, bahkan bila bahan pengoksidasi itu jumlahnya sedikit. Selain itu, salah satu enzim lisosom, yaitu mieloperoksidase, mengatalisis reaksi antara H_2O_2 dan ion klorida untuk membentuk hipoklorit, yang secara luas bersifat bakterisid.

Ketika proses radang akut dapat ditekan, proses ini akan berakhir dengan terjadinya apoptosis dari sel netrofil yang masih hidup, yaitu suatu proses yang merupakan regulasi dari bunuh diri sel. Selanjutnya netrofil yang melakukan apoptosis akan terisolasi dari daerah infeksi. Berbeda dengan kematian sel netrofil akibat produk bakteri (kematian degeneratif atau nekrosis), apoptosis memiliki karakteristik, seperti sel menyusut, mengendap, kondensasi kromatin, dan kondensasi intranukleosomal DNA (Firman, 2007).

Apoptosis akan memlimitasi resiko kerusakan jaringan dengan melepaskan oksigen reaktif dan meningkatkan perbaikan terhadap repon infeksi. Selain itu campuran jaringan nekrotik, netrofil mati, makrofag mati, dan cairan jaringan yang terdapat dalam pus pada daerah yang meradang secara bertahap akan mengalami autolysis dalam waktu beberapa hari, dan kemudian produk akhirnya akan diabsorpsi ke dalam jaringan sekitar dan cairan limfe sehingga sebagian besar tanda kerusakan akan hilang (Firman, 2007).

Granula lisosom yang terdapat dalam netrofil juga mengandung mediator inflamasi. Mediator ini dilepaskan setelah kematian sel oleh karena peluruhan selama pembentukan vakuola fagosit atau oleh fagositosis yang terjalang karena ukurannya besar dan permukaan yang tidak dapat dicerna. Perusakan netrofil ini juga menyebabkan pelepasan enzim proteolitik, pepsin, dan cathepsin, dengan akibat lisis jaringan (Grossman, 1995). Kalikrein yang dilepaskan dari lisosom menyebabkan pembentukan bradikinin. Netrofil juga merupakan sumber fosfolipase yang diperlukan untuk sintesis asam arakidonat (Robbins dan Kumar, 1995). Selain itu metabolit oksigen reaktif yang dibentuk dalam sel fagosit saat fagositosis juga berperan sebagai mediator inflamasi. Metabolit oksigen reaktif ini dapat luruh memasuki lingkungan ekstrasel. Diduga bahwa radikal-radikal bebas yang sangat

toksik meningkatkan permeabilitas vascular dengan cara merusak endotel kapiler. Selain itu, ion-ion superoksida dan hidroksil juga dapat menyebabkan peroksidase asam arakidonat tanpa enzim (Robbins dan Kumar, 1995).

Keberhasilan proses fagositosis dipengaruhi oleh faktor netrofil, faktor bakteri yang difagosit dan faktor lingkungan. Faktor netrofil antara lain umur sel, energi yang tersedia, integritas komponen seluler serta faktor kemotaktik. Faktor bakteri yang difagosit meliputi susunan dinding bakteri, kapsul, toksin dan sifat permukaan bakteri. Faktor lingkungan yang mempengaruhi proses fagositosis adalah temperatur, pH, osmolaritas, komposisi ionik dan tegangan antar permukaan (Susanti dan Rahayuningsih, 2003).

2.4 Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.)

2.4.1 Klasifikasi Rosella

Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) merupakan tanaman herbarium dengan tatanan taksonomi sebagai berikut (Mahadevan *et al.* , 2009) :

Klasifikasi	: Plantae
Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Division	: Magnoliophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Class	: Magnoliopsida
Subclass	: Dilleniidae
Ordo	: Malvales
Family	: Malvaceae
Genus	: <i>Hibiscus</i> L.
Species	: <i>Hibiscus sabdariffa</i> L

2.4.2 Morfologi Rosella

Bunga tanaman Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) memiliki struktur yang sama dengan bunga tanaman herbarium lainnya. Bunga berukuran besar dengan warna merah sampai kuning dan semakin gelap di tengah bunga. Struktur morfologi bunga Rosella antara lain (Mahadevan *et al.* , 2009) :

- 1) tangkai bunga (*pedicelus*),
- 2) *epicalyx*,
- 3) kelopak bunga (*calyx*),
- 4) mahkota bunga (*corola*),
- 5) tangkai putik (*androgynophorum*),
- 6) benang sari (*stamen*) dan
- 7) putik (*gynensium*).



Gambar 2.4 Tanaman Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) (Sumber : Mukhtar,2010)

Rosella termasuk dalam keluarga *Malvaceae* yaitu tumbuhan semak tegak yang kebanyakan bercabang, memiliki bunga dan batang yang berwarna merah dan biasanya mencolok, memiliki daun berwarna hijau gelap sampai dengan merah dan memiliki kulit dan batang yang berserat kuat (gambar 2.4). Bunga berwarna merah sampai dengan kuning dengan warna gelap ditengahnya, dengan jumlah kelopak antara 3–7 buah. Bunga Rosella memiliki putik sekaligus serbuk sari sehingga tidak memerlukan bunga lain untuk bereproduksi (Mahadevan *et al.* , 2009).

Tinggi tanaman Rosella mencapai 0,5-2,4 m. Bunga Rosella merupakan bunga tunggal tidak lengkap (bunga bertangkai) dengan tipe daun bunga majemuk menyirip gasal berseling dan warna bunga dewasa bervariasi dari hijau tua sampai merah kekuningan. Batang tanaman bulat, berserat dan bercabang. Tanaman Rosella memiliki akar tunggal yang cukup dalam. Buah tanaman Rosella berwarna hijau tua dan mampu mencapai diameter 5,3 cm dan panjang 5 cm (Mahadevan *et al.* , 2009).

Kelopak bunga Rosella adalah bagian tanaman yang dapat diproses menjadi produk pangan. Kelopak bunga Rosella berwarna merah tua, tebal, dan berair. Kelopak bunga Rosella merah yang rasanya sangat masam ini biasanya diproses menjadi jeli, saus, teh, sirup, selai, puding, dan manisan. Bahan penting yang terkandung dalam kelopak bunga Rosella adalah *gossypetin*, *anthocyanin*, dan *glucide hibiscin*. Selain itu kelopak bunga Rosella juga mengandung asam organik, polisakarida, dan flavonoid yang bermanfaat mencegah penyakit kanker, mengendalikan tekanan darah, melancarkan peredaran darah, dan melancarkan buang air besar. Secara tradisional tanaman ini banyak dimanfaatkan untuk mengatasi batuk, lesu, demam dan gusi berdarah. Ekstrak kuncup bunga Rosella juga dipercaya mampu bekerja sebagai penahan kekejangan (antispasmodik), anticacing (antihelmintik), antibakteri, antiseptik, penyejuk (astringent), dan menurunkan kadar penyerapan alkohol (Faridasari dan Mulyantini, 2009).

2.4.3 Kandungan dan Manfaat Rosella

Kelopak kering Rosella terdiri dari *alkaloid*, *b-sitosterol*, *antosianin*, *asam sitrat*, *sianidin-3-rutinose*, *delfinidin*, *galactosa* , *pectin*, *asam protosateochuis*, *kuersetin*, *asam stearis*, dan lilin. Rosella diketahui memiliki kandungan senyawa fenolik yang berfungsi sebagai antioksidan sebanyak 23,10 mg dalam setiap gram bobot kering kelopak Rosella. Kelopaknya juga kaya akan asam dan *pectin*. Analisis fitokimia pada kelopaknya menunjukkan bahwa terdapat protein dan mineral seperti besi, fosfor, kalsium, magnesium, aluminium, mangan, sodium, potasium, kalsium

sitrat, vitamin C, *gossypetin*, dan *hibiscin chlorideare*. Bijinya mengandung protein, lemak, serat, mineral (fosfor, magnesium, kalsium, *lysine*, *tryptophan*, nitrogen, asam lemak, selulosa, pentosan, dan zat tepung, steroid tokoferol (Mahadevan *et al* ., 2009). Kelopak keringnya juga mengandung flavonoid (*gossypetine*, *hibiscetine*, dan *sabdaretine*).

Penelitian secara *in vivo* maupun *in vitro* menunjukkan bahwa flavonoid memiliki aktivitas biologis maupun farmakologis, antara lain bersifat antibakteri, antiinflamasi, antialergi, antikarsinogen, antioksidan, dan melindungi pembuluh darah (Sabir, 2003). Flavonoid bersifat antibakteri karena mampu berinteraksi dengan DNA bakteri. Hasil interaksi ini menyebabkan perubahan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom (Bryan dan Wilson dalam Sabir, 2003). Sifat antiinflamasi dari flavonoid telah terbukti baik secara *in vitro* maupun *in vivo*. Mekanisme flavonoid yaitu menghambat pelepasan asam arakidonat dan sekresi enzim lisosom dari sel netrofil dan sel endotelial dan menghambat fase proliferasi dan fase eksudasi dari proses inflamasi.

Konsentrasi tinggi dari beberapa senyawa flavonoid dapat menghambat pelepasan asam arakidonat dan sekresi enzim lisosom dari membran dengan jalan memblok jalur siklooksigenase dan fosfolipase A2. Sedangkan pada konsentrasi rendah hanya memblok jalur sikloogsigenase. Terhambatnya pelepasan asam arakidonat dari sel inflamasi akan menyebabkan kurang tersedianya substrat arakidonat bagi jalur siklooksigenase dan jalur lipooksigenase, yang pada akhirnya akan menekan jumlah prostaglandin, prostasiklin, endoperoksida, dan tromboksan di satu sisi dan asam hidroperoksida, asam hidroksieikostrenoat, dan leukotrin di sisi lainnya (Sabir, 2003). Kandungan gizi kelopak bunga kering tiap 100 gram dapat dilihat pada tabel 2.1.

Tabel 2.1 Kandungan kelopak kering bunga Rosella dalam 100 g

Kandungan	Jumlah
Air	9.2 g
Protein	1.14 g
Lemak	2.61 g
Serat	12.0 g
Abu	6.90 g
Kalsium	1.263 mg
Fosforus	273.2 mg
Zat Besi	8.98 mg
Karotena	0.029 mg
<i>Thiamin</i>	0.117 m
<i>Riboflavin</i>	0.277 mg
<i>Niacin</i>	3.765 mg
Asam Askorbik	6.7 mg

Sumber: Info Fisioterapi (2011)

Flavonoid mampu menghambat perlekatan bakteri dengan cara mengikat protein permukaan bakteri dan menurunkan hidrofobitas pada membran sel fagosit (Hamsafir, 2010). Bakteri yang mengandung lebih banyak protein dengan komposisi sedemikian rupa, sehingga bersifat hidrofob mempunyai kemampuan melekat lebih banyak pada sel-sel hospes dan mudah difagosit oleh sel-sel polimorfonukler leukosit (Khusnan dan Salasia, 2006). Pada *P. gingivalis*, *fimbriae* bersifat hidrofob dapat lebih mudah melekat pada membran sel fagosit yang juga cenderung hidrofob melalui interaksi hidrofobik. Flavonoid dapat menurunkan hidrofobitas tersebut, sehingga menghambat perlekatan *P. gingivalis* dengan sel fagosit.

Kelopak bunga Rosella juga mengandung senyawa lain yang juga bersifat antioksidan kuat seperti vitamin C. Beberapa studi mengungkapkan antioksidan terbukti berperan dalam menghambat adhesi sel leukosit dengan cara menghambat pelepasan dari ICAM-1 pada sel endotel. Antioksidan ini juga dapat menghambat ekspresi integrin 1 dan 2 pada leukosit dan menghambat perlekatannya pada endotel

dan sel lain. Studi *in vivo* pada manusia memperlihatkan korelasi terbalik antara kadar antioksidan dengan ekspresi integrin pada sel fagosit (Sukandar, 2006).

Kelopak bunga Rosella dapat terekstraksi dengan baik bila menggunakan metode ekstraksi maserasi menggunakan pelarut etanol pada kondisi optimum 96% (Siregar dan Nurlala, 2011). Pemilihan pelarut disesuaikan dengan sifat kepolaran suatu zat. Sifat kepolaran pelarut berpengaruh pada konsentrasi zat aktif yang terekstrak. Semakin polar pelarut maka konsentrasi zat aktif yang didapatkan semakin tinggi dan sebaliknya. Pelarut etanol bersifat polar, relatif aman, serta dapat melarutkan berbagai senyawa yang sukar larut dalam air. Senyawa flavonoid yang terkandung dalam kelopak bunga Rosella bersifat polar. Selain itu senyawa *thiamin*, *riboflavin*, *niacin*, dan asam askorbik dalam kelopak bunga Rosella juga merupakan senyawa yang bersifat polar. Sehingga penggunaan etanol sebagai pelarut efektif dalam menarik dan melarutkan komponen zat aktif dalam kelopak bunga Rosella kering (Hasibuan *et al*, 2010).

2.5 Hipotesis

Pemberian ekstrak kelopak bunga Rosella dapat menurunkan indeks adhesi *P. gingivalis* pada netrofil.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental *in vitro*, yaitu penelitian dengan pemberian perlakuan terhadap variabel yang diteliti dan dilakukan di laboratorium.

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini yaitu *post test only control group design* yaitu dilakukan pengukuran terhadap variabel yang diteliti setelah diberikan perlakuan, kemudian dibandingkan dengan kelompok kontrol

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biomedik Bagian Mikrobiologi dan Laboratorium *Bio Science* Rumah Sakit Gigi dan Mulut Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas MIPA Universitas Jember. Penelitian ini dilakukan pada bulan Agustus 2011.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas : Ekstrak kelopak bunga Rosella konsentrasi 50%, dan 100%

3.4.1.1 Definisi Operasional

Ekstrak kelopak bunga Rosella adalah ekstrak dengan konsistensi pekat yang merupakan hasil ekstraksi dari kelopak kering bunga Rosella yang telah banyak dijual di pasaran (merek “Bunga Rosella Mesir *de Carcade*”). Pelarut yang digunakan untuk

ekstraksi adalah etanol 97% dengan menggunakan suhu ruangan. Untuk konsentrasi 50% dibuat dengan cara mengambil 1 ml sediaan 100% dicampur dengan 1 ml *aquadest steril*.

3.4.2 Variabel Terikat : Variabel terikat pada penelitian ini adalah indeks adhesi *P. gingivalis* pada netrofil.

3.4.2.1 Definisi Operasional

Indeks adhesi yaitu banyaknya bakteri yang melekat pada suatu sel dihitung sampai satuan sel dan dibuat rata-ratanya. Pada penelitian ini digunakan penghitungan indeks adhesi yaitu banyaknya *P. gingivalis* yang melekat pada netrofil. Parameter yang digunakan yaitu indeks adhesi diukur dengan menghitung jumlah rata-rata bakteri yang menempel per netrofil, hingga 100 netrofil (Yanuhar, Tanpa Tahun).

3.4.3 Variabel Terkendali

a. Konsentrasi *P. gingivalis*

Porphyromonas gingivalis yang digunakan dalam penelitian ini adalah *P.gingivalis* (ATCC 33277) yang diperoleh dari *The American Type Culture Collection* (ATCC). Konsentrasi yang digunakan adalah 3×10^6 sel/ml.

b. Konsentrasi netrofil

Isolat netrofil diambil dari darah vena perifer orang sehat (tidak memiliki kelainan sistemik). Isolasi netrofil dilakukan dengan teknik *gradient density* menggunakan *Ficoll Hypaque Centrifugation*. Konsentrasi netrofil dihitung dengan *Haemocytometer* yaitu 51,1 %.

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

1. *Petridish*
2. Tabung reaksi (Pyrex, *Japan*)
3. Becker glass (Pyrex, *Japan*)
4. Tabung elenmeyer (Pyrex, *Japan*)
5. Centrifuge (Hettich, *Germany*)
6. Timbangan (*Cento-gram® balance*)
7. Laminar flow (tipe HF-100, *Korea*)
8. Inkubator (WTC Binder, *Germany*)
9. Desicator (Kartell, *Italy*)
10. *Blue/ yellow tip*
11. Autoclave (Memmert, *Germany*)
12. *Torniquet*
13. *Syringe 10 ml*
14. Kaca obyek
15. Coverglass
16. Mikroskop
17. Rak objek glass
18. *Haemocytometer*
19. Inkubator (WTC Binder, *Germany*)
20. Vortex
21. Pipet mikro
22. *Rotary evaporator*
23. Tabung Falcon

3.5.2 Bahan

1. *Porphyromonas gingivalis* (ATCC 33277) dengan medium kulturnya yaitu medium *Brain Heart Infusion* (BHI) yang diperkaya dengan hemin dan vitamin K1
2. *Aquadest* steril
3. Darah vena perifer
4. Heparin
5. *Ficoll Hystopaque 1077*
6. Etanol (Merck)
7. Kelopak bunga Rosella kering (Bunga Rosella Mesir *de Carcade*)
8. Alkohol
9. Minyak emersi
10. *Dextran*
11. *Hank's Balance Salt Solution* (HBSS)
12. *Rosewell Park Memorial Institute* (RPMI)
13. Metanol absolut

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Tahap Persiapan

- a) Semua alat yang digunakan dalam penelitian ini dibersihkan dan disterilkan terlebih dahulu dalam oven selama 15 menit dengan suhu 100⁰C.
- b) Membuat ekstrak kelopak bunga Rosella (Wijayanti, 2011)
Kelopak bunga Rosella yang digunakan adalah kelopak bunga Rosella kering dalam kemasan yang telah banyak dijual pasaran merek “Bunga Rosella Mesir *de Carcade*”. Ekstrak kelopak bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*) diperoleh dengan memblender kelopak bunga Rosella kering sehingga menjadi bubuk yang halus, ditimbang sebanyak 350 gram menggunakan neraca timbang kemudian dimaserasi dalam larutan etanol 1200 ml selama

±24 jam. Kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga didapatkan sediaan pekat (konsentrasi 100%). Sedangkan untuk membuat sediaan ekstrak kelopak bunga Rosella konsentrasi 50% dibuat dengan cara mengambil 1 ml sediaan 100% dicampur dengan 1 ml *aquadest* steril.

c) Kultur *P. gingivalis*

Porphyromonas gingivalis dikultur dalam medium BHI yang diperkaya dengan vitamin K1 dan hemin, kemudian dikultur pada atmosfer anaerob (menggunakan *desicator*) selama 3x24 jam. Konsentrasi *P. gingivalis* dibuat menjadi 3×10^6 sel/ml.

d) Isolasi netrofil (Susilawati, 2008)

1. Sebelum dilakukan pengambilan darah, pasien diinstruksikan untuk mengisi *informed concern*.
2. Darah diambil dari vena periferial orang sehat sebanyak 9 cc kemudian dicampur dengan antikoagulan (heparin).
3. Konsentrasi netrofil dihitung dengan menggunakan *haemocytometer*.
4. 9 cc darah (*heparinized wholeblood*) dibagi menjadi 3 tabung.
5. Disentrifus 650 rpm selama 10 menit hingga terbentuk dua lapisan, yaitu sel darah dan serum.
6. Serum diambil dengan menggunakan pipet mikro, menisakan sel darah pada tabung falcon.
7. Diencerkan dengan 6 cc HBSS.
8. Dilakukan *pipetting*, kemudian divortex agar campuran sel darah dan HBSS homogen.
9. Isolasi netrofil dilakukan dengan teknik *gradient density* menggunakan *Ficoll Hypaque Centrifugation*.
10. Sebanyak 9 cc darah yang mengandung antikoagulan dialirkan melalui dinding tabung yang telah berisi 3 cc larutan *Ficoll* sehingga sel-sel darah yang mempunyai gradien lebih tinggi dari *Ficoll* akan turun ke bawah.

11. Tabung ditutup dan disentrifus selama 30 menit, 1350 rpm pada suhu kamar sehingga terbentuk empat lapisan berturut-turut dari bawah ke atas adalah eritrosit dan granulosit, cairan *Ficoll*, limfosit dan cairan plasma.
12. Cairan plasma, limfosit, dan *Ficoll Hypaque Gradient* dibuang dengan menggunakan pipet mikro.
13. Lapisan terbawah yang mengandung netrofil diresuspensi dengan 6 cc HBSS
14. Menyiapkan *dextran* 6% sebanyak 1 cc dalam tabung falcon lain.
15. Darah yang sudah diresuspensi dialirkan ke dalam tabung berisi *dextran* dan dilakukan *pipetting*.
16. Dicampurkan dan kemudian didiamkan selama 90 menit.
17. Supernatan mengandung netrofil diaspirasi.
18. Ditambahkan HBSS sebanyak 1-2cc, divortex, dan disentrifugasi 1700 rpm selama 10 menit (dilakukan sebanyak 2 kali).
19. Lapisan paling atas dibuang dengan menggunakan pipet mikro.
20. Resuspensi dengan RPMI sampai 500 μ l.
21. Dilakukan pembuatan hapusan dan pewarnaan.

3.6.2 Pelaksanaan Penelitian

a) Perlakuan Uji Indeks Adhesi

1. 6 coverslip yang telah disterilkan dalam *laminar flow* diletakkan dalam 6 *petridish* kecil.
2. Netrofil kemudian ditapiskan pada masing masing coverslip masing-masing 50 μ l kemudian diinkubasi selama 15 menit, 37⁰C dan 5% CO₂.
3. Dilakukan pengecekan di bawah mikroskop *inverted*.
4. Jika konsentrasi netrofil terlalu padat, dilakukan pencucian kembali dengan RPMI sampai didapatkan konsentrasi yang tidak terlalu padat dan menyebar
5. Ditambahkan 1000 μ l RPMI, kemudian *pipetting*.
6. Diinkubasi selama 15 menit.

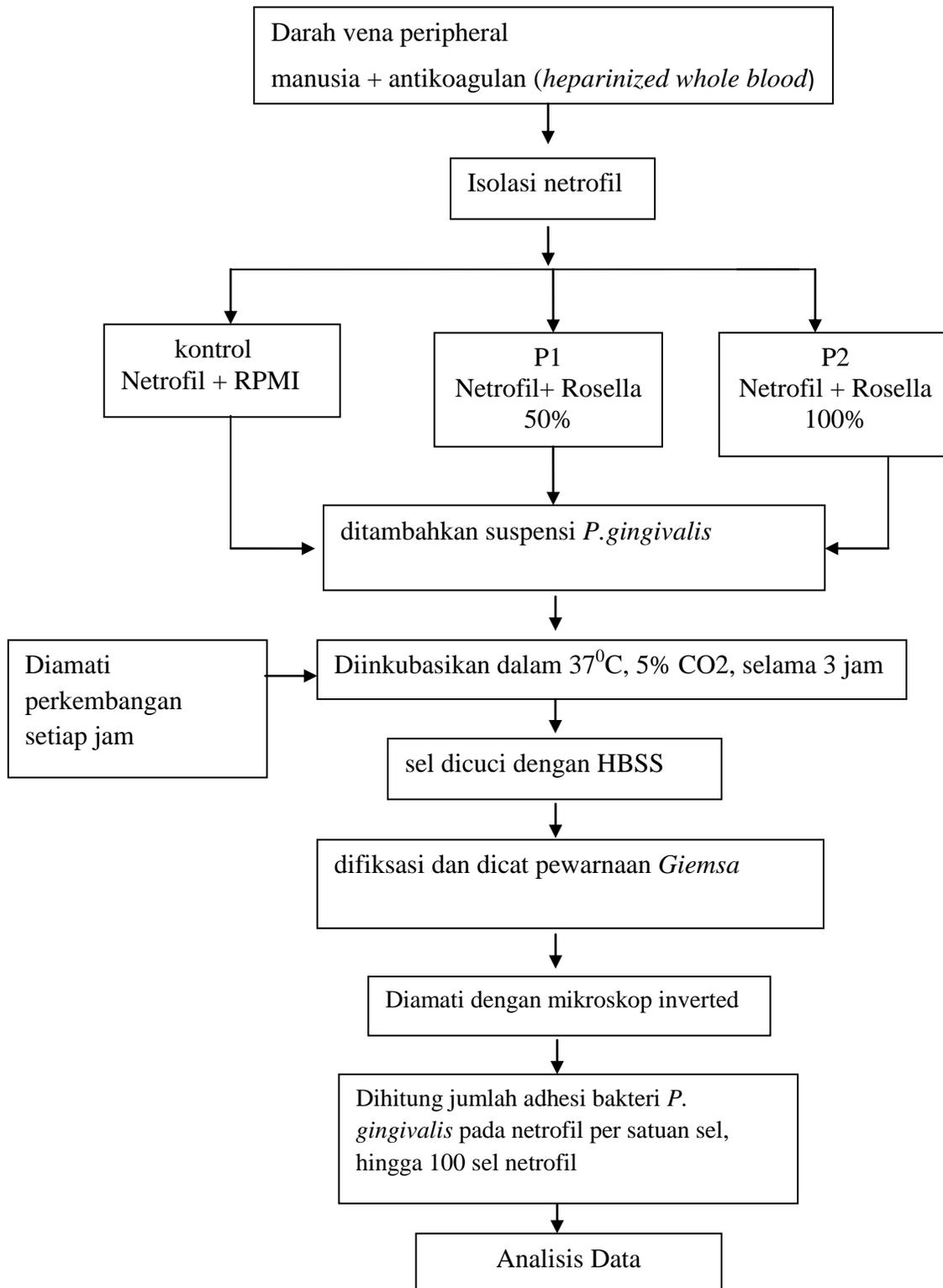
7. Ekstrak kelopak bunga Rosella diberikan terhadap 4 dari 6 *petridish* sebanyak masing-masing 50 µl. Dua *petridish* diberikan ekstrak dengan konsentrasi 50%, serta dua plastic chamber selanjutnya diberikan ekstrak dengan konsentrasi 100%. Untuk *petridish* dua sisanya diberi 50 µl RPMI yang berfungsi sebagai kontrol.
 8. Dilakukan *pipetting* sampai benar-benar homogen.
 9. Diinkubasi dengan *shaker incubator* selama 16 jam, 37⁰C dan 5% CO₂.
 10. Medium inkubasi dibuang, dan dicuci dengan 500 µl RPMI.
 11. Dicek dibawah mikroskop *inverted*.
 12. Secara perlahan, pada chamber 1-6 masing-masing ditambahkan suspensi *P. gingivalis* 200µl , diinkubasikan selama 3 jam dalam suhu 37⁰C, 5% CO₂.
 13. Diamati perubahan dan perkembangan yang terjadi selama setiap jam.
 14. Di akhir pengamatan dilakukan pencucian dengan HBSS.
 15. Difiksasi dengan menggunakan metanol absolut selama kurang lebih 1 menit, dan dicuci dengan menggunakan *aquadest* steril.
 16. Pewarnaan *Giemsa*.
 17. Hasil preparat yang sudah dicat dengan pewarnaan *Giemsa*, diamati dengan mikroskop *inverted*, terlebih dahulu mengamati jumlah *P. gingivalis* yang menempel pada netrofil pada perlakuan kontrol.
 18. Kemudian dilanjutkan dengan mengamati indeks adhesi dengan konsentrasi yang berturut- turut, mulai dari 50% sampai 100%.
- b) Perhitungan Indeks Adhesi
1. Melakukan perhitungan dengan cara menghitung jumlah *P. gingivalis* yang menempel per netrofil sampai jumlah netrofil keseluruhan per satu lapang pandang, dengan dua kali pengulangan, berturut-turut mulai dari konsentrasi 50% hingga 100%
 2. Indeks adhesi dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Yanuhar, Tanpa Tahun) :

$$\text{Indeks adhesi} = \frac{\text{Jumlah } P. \text{ gingivalis} \text{ yang melekat per netrofil}}{\text{Jumlah netrofil keseluruhan}}$$

3.7 Analisis Data

Analisis data didahului dengan uji normalitas dan homogenitas untuk mengetahui bahwa data terdistribusi normal dan homogen sebagai prasyarat dalam pengujian statistik parametrik. Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui apakah distribusi data yang ada pada masing-masing variabel mengikuti kurva distribusi normal atau tidak. Uji normalitas data dilakukan dengan menggunakan *Kolmogorov-Smirnov Test* dengan $p=0,05$. Uji selanjutnya adalah uji homogenitas data menggunakan *Levene Test* dengan $p=0,05$. Selanjutnya data hasil penelitian dilakukan uji parametrik dengan *One Way Anova* untuk mengetahui adanya perbedaan antar kelompok, kemudian dilanjutkan dengan uji *LSD* untuk mengetahui besarnya perbedaan antar kelompok.

3.8 Alur Penelitian

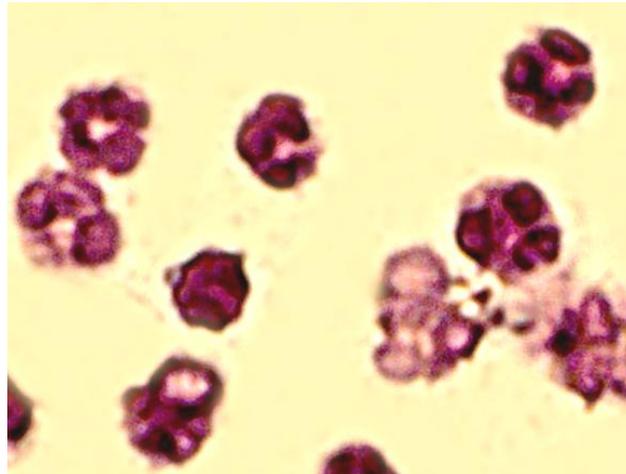


BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

4.1.1 Hasil Isolasi Netrofil dan Subkultur *P. gingivalis*

Penelitian telah dilakukan pada bulan Agustus 2011 di Bagian Biomedik Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium *Bio Science* Rumah Sakit Gigi dan Mulut Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Penelitian ini menggunakan sampel berupa isolat netrofil yang diisolasi dari darah orang sehat yaitu yang tidak memiliki kelainan sistemik (Gambar 4.1). Untuk gambar hasil subkultur *P. gingivalis* dapat dilihat pada Gambar 4.2.



Gambar 4.1 Preparat hasil isolasi netrofil. Menunjukkan netrofil yang berwarna pink keunguan (Pengecatan Giemsa, pembesaran 400x), tampak bentukan polimorfonuklear, yaitu nukleus yang memiliki lobus-lobus), sehingga nukleus tampak lebih dari satu.



Gambar 4.2 Sediaan *P. gingivalis*, terlihat berwarna merah muda pada pemeriksaan mikroskopik sesuai dengan sifat bakteri, yaitu gram negatif berbentuk kokobasil (Pengecatan Gram, pembesaran 1000x).

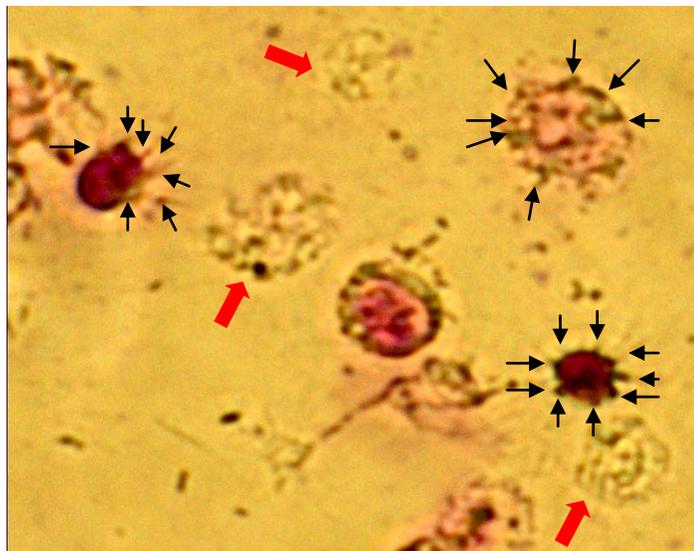
4.1.2 Hasil Uji Adhesi

Hasil penelitian adhesi *P. gingivalis* pada netrofil yang diinkubasi oleh ekstrak kelopak bunga Rosella menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol (diinkubasi RPMI) adhesi *P. gingivalis* lebih tinggi daripada kelompok perlakuan 1 (diinkubasi ekstrak Rosella 50%) dan kelompok perlakuan 2 (diinkubasi ekstrak Rosella 100%). Sedangkan rata-rata jumlah adhesi *P.gingivalis* pada netrofil kelompok perlakuan 2 lebih sedikit daripada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan 1, seperti dilihat pada Tabel 4.1 dan Gambar 4.6. Hal ini menunjukkan adanya penurunan indeks adhesi pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol.

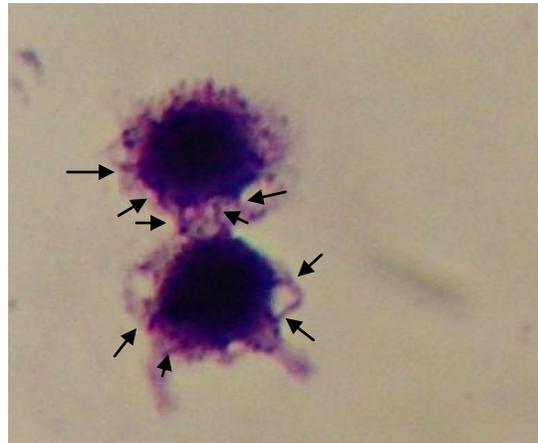
Tabel 4.1. Rata- rata adhesi *P.gingivalis* pada netrofil antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

Adhesi <i>P.gingivalis</i> Pada Netrofil			
	Kelompok kontrol (+ RPMI)	Kelompok perlakuan 1 (+ekstrak Rosella 50%)	Kelompok perlakuan 2 (+ekstrak Rosella 100%)
X ± SD	8,29 ± 1.59	5,54 ± 1.00	3,40 ± 1.03

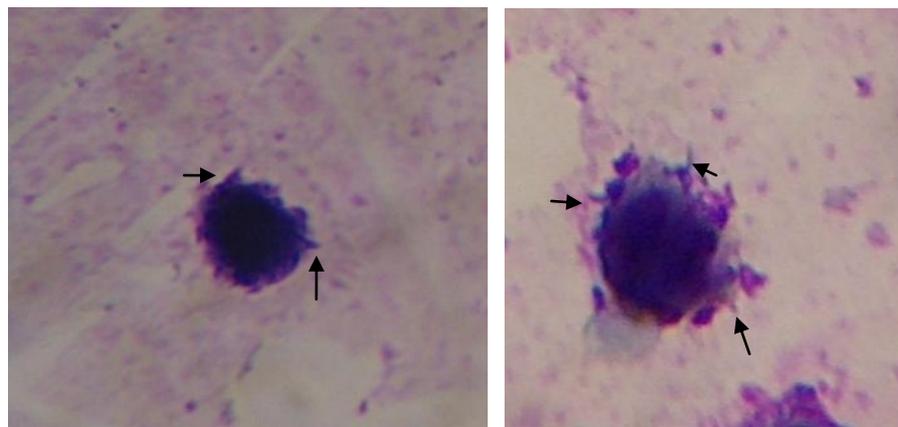
Secara mikroskopis, gambaran adhesi *P.gingivalis* terhadap netrofil pada ketiga kelompok perlakuan dapat dilihat pada gambar berikut. Pada kelompok kontrol (Gambar 4.4) adhesi *P.gingivalis* tampak sangat tinggi. Sehingga akan menyebabkan netrofil mengalami lisis. Sedangkan pada kelompok perlakuan 1 (Gambar 4.5) dan kelompok perlakuan 2 (Gambar 4.6) terjadi penurunan adhesi bakteri pada netrofil.



Gambar 4.3 Netrofil diinkubasi RPMI (kelompok kontrol) menunjukkan adhesi *P.gingivalis* (tanda panah) dalam jumlah banyak sehingga akan menyebabkan netrofil lisis (panah merah). Pembesaran 1000x



Gambar 4.4 Netrofil diinkubasi ekstrak Rosella 50% (kelompok perlakuan 1) menunjukkan penurunan adhesi *P.gingivalis* (tanda panah) dengan rata-rata 5 bakteri/ sel (pembesaran 1000x)



Gambar 4.5 Netrofil diinkubasi ekstrak Rosella 100% (kelompok perlakuan 2) menunjukkan adhesi *P.gingivalis* (tanda panah) dalam jumlah sedikit dengan jumlah rata-rata ± 3 bakteri/sel (pembesaran 1000x)

4.1.3 Hasil Analisis Data

Hasil uji normalitas didapatkan nilai signifikansi adalah 0.093 ($p < 0,05$) sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa data pada penelitian terdistribusi normal.

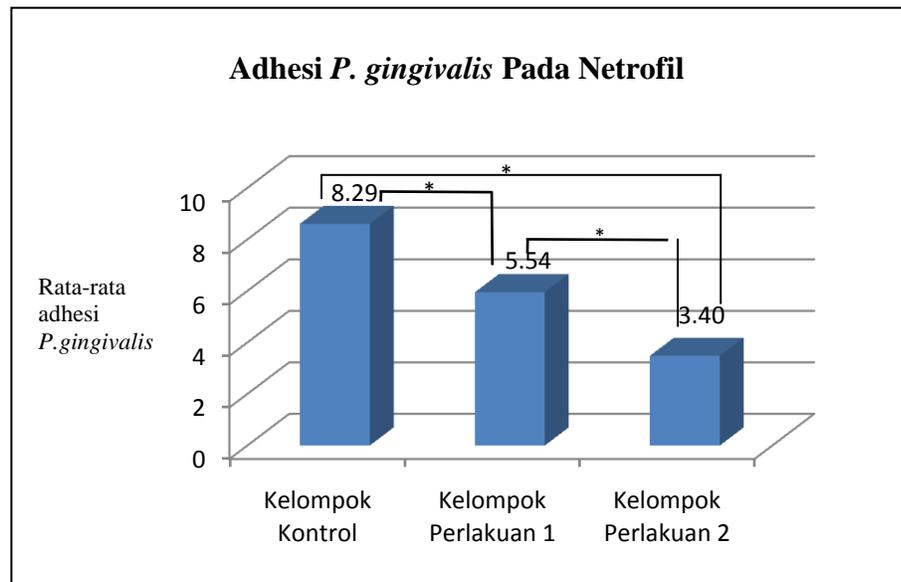
Hasil uji homogenitas diketahui bahwa nilai signifikansinya sebesar 0,076 ($p > 0,05$), maka dapat dikatakan bahwa data tersebut adalah homogen.

Penggunaan uji parametrik dapat dilakukan setelah data tersebut memiliki distribusi normal dan homogen. Pada penelitian ini digunakan uji *One Way Anova* untuk mengetahui apakah pemberian ekstrak kelopak bunga Rosella berpengaruh terhadap penurunan adhesi *P. gingivalis* pada netrofil. Tingkat kepercayaan yang digunakan adalah 95% ($p < 0,05$). Berdasarkan hasil uji *One Way Anova* didapatkan bahwa rata-rata jumlah adhesi *P. gingivalis* pada netrofil kelompok kontrol, perlakuan 1, dan perlakuan 2 adalah berbeda secara signifikan dengan nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$). Selanjutnya untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan bermakna, maka dilakukan uji lanjut *Post Hoc LSD* dengan tingkat kemaknaan 95% ($p < 0,05$). Hasil uji lanjut LSD dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Ringkasan hasil uji lanjut *Post Hoc LSD* rata-rata adhesi *P. gingivalis* pada netrofil

Kelompok	Rata-rata adhesi <i>P. gingivalis</i> pada netrofil ($X \pm SD$)		
Kontrol	8.29 \pm 1.59	8.29 \pm 1.59	-
Rosella 50%	5.54 \pm 1.00	-	5.54 \pm 1.00
Rosella 100%	-	3.40 \pm 1.03	3.40 \pm 1.03
	P = 0.000*	P = 0.000*	P = 0.000*

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



Gambar 4.6 Diagram Batang Rata-Rata Adhesi *P. gingivalis* Pada Netrofil

Keterangan :

Kelompok kontrol : tidak diinkubasi ekstrak kelopak Rosella

Kelompok Perlakuan 1 : diinkubasi ekstrak kelopak Rosella konsentrasi 50%

Kelompok Perlakuan 2 : diinkubasi ekstrak kelopak Rosella konsentrasi 100%

Tanda (*) : Terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$)

Berdasarkan data pada tabel 4.2 menunjukkan hasil uji *Post Hoc LSD* adhesi *P. gingivalis* pada netrofil antar kelompok perlakuan menunjukkan signifikansi 0.000 ($p < 0,05$) artinya terdapat perbedaan yang signifikan rata-rata adhesi *P. gingivalis* pada tiap kelompok penelitian. Hal ini menunjukkan adanya penurunan adhesi *P. gingivalis* pada netrofil yang diinkubasi oleh ekstrak kelopak bunga Rosella.

4.2 Pembahasan

Data indeks adhesi keseluruhan yang didapatkan sebanyak 600 data netrofil. Terdiri dari 200 netrofil kelompok kontrol, 200 netrofil kelompok perlakuan 1, dan 200 netrofil kelompok perlakuan 2. Analisa data dilakukan pada 450 data netrofil dari

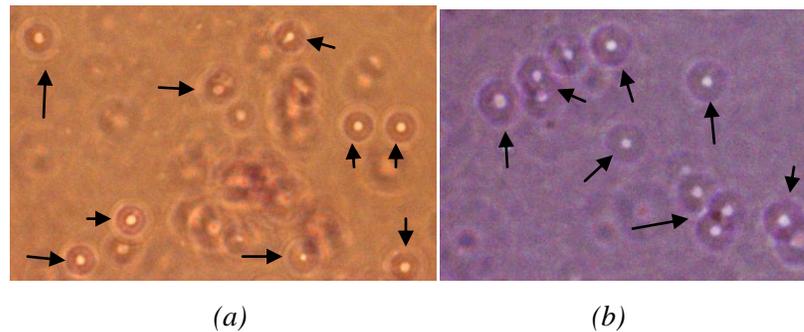
600 data yang terdiri dari kelompok kontrol sebanyak 150 sel, kelompok perlakuan 1 sebanyak 150 sel, dan kelompok perlakuan 2 sebanyak 150 sel. Data indeks adhesi yang terlalu menyimpang ($\pm 25\%$) dari total data tidak digunakan dalam analisa. Hal ini bertujuan untuk mendapatkan kualitas data yang memadai (*quality control*).

Seleksi data dilakukan berdasarkan modus (frekuensi data yang paling sering muncul). Sebagai contoh, pada kelompok kontrol, data modus yang didapatkan yaitu antara 7-11 *P. gingivalis* yang menempel/ sel, pada kelompok perlakuan 1 antara 4-7 *P. gingivalis*/ sel, sedangkan pada kelompok perlakuan 2 modus yang didapatkan adalah antara 2-5 *P. gingivalis*/ sel.

Hasil penelitian menunjukkan adanya penurunan indeks adhesi *P.gingivalis* pada netrofil yang diinkubasi oleh ekstrak kelopak bunga Rosella. Pada kelompok kontrol (netrofil diinkubasi RPMI) indeks adhesi *P.gingivalis* terhadap netrofil sangat tinggi. Netrofil yang memfagosit banyak bakteri akan mengalami nekrosis dan menyebabkan tumpahnya cairan intrasel ke lingkungan ekstrasel. Pada kelompok perlakuan 1 (netrofil diinkubasi ekstrak dengan konsentrasi 50%), dan kelompok perlakuan 2 (netrofil diinkubasi ekstrak dengan konsentrasi 100%) terjadi penurunan indeks adhesi dari *P.gingivalis*, serta netrofil mayoritas dalam keadaan masih utuh. Indeks adhesi yang paling rendah tampak pada kelompok dengan inkubasi ekstrak konsentrasi 100%.

Pada penelitian kali ini perlu ditekankan bahwa konsentrasi ekstrak kelopak bunga Rosella yang diberikan pada kelompok perlakuan 1 dan kelompok perlakuan 2, yaitu masing-masing 50% dan 100% adalah konsentrasi saat pemberian pertama kali pada *petridish* Sedangkan konsentrasi final setelah dilakukan penambahan media dan suspensi *P.gingivalis*, didapatkan konsentrasi $\pm 3,12\%$ untuk kelompok perlakuan 1, dan $\pm 6,25\%$ untuk kelompok perlakuan 2. Konsentrasi ekstrak Rosella ini diketahui masih terlalu tinggi, karena menyebabkan warna netrofil menjadi terlalu merah dan inti menjadi tidak tampak. Namun, konsentrasi Rosella yang tinggi ini terbukti tidak berpengaruh terhadap aktifitas netrofil. Hal ini diketahui berdasarkan uji viabilitas

yang dilakukan. Netrofil tetap hidup (viable) walau telah diinkubasi ekstrak Rosella konsentrasi 50% dan 100% (Gambar 4.7).



Gambar 4.7 Hasil uji viabilitas netrofil. Tampak netrofil (tanda panah) yang diinkubasi ekstrak kelopak Rosella konsentrasi 50% (a) dan konsentration 100% (b) tetap dalam keadaan hidup (tampak bening)

Mekanisme ekstrak kelopak bunga Rosella dalam menurunkan indeks adhesi *P.gingivalis* pada netrofil diduga melalui kandungan flavonoid maupun Vitamin C yang cukup tinggi di dalamnya. Kandungan penting yang terdapat pada kelopak bunga Rosella adalah pigmen antosianin yang membentuk flavonoid yang juga berperan sebagai antioksidan. Flavonoid rosella terdiri dari flavonols dan pigmen antosianin. Pigmen antosianin ini yang membentuk warna ungu kemerahan di kelopak bunga Rosella. Semakin pekat warna kemerahan pada bunga Rosella, maka semakin tinggi pula kandungan antosianin di dalamnya (Usman,2010). Kelopak bunga Rosella yang dikeringkan lalu diencerkan dalam 300 ml air maka akan terkandung dalam larutan itu 51% antosianin (Muardi,2009). Kandungan flavonoid yang tinggi inilah yang diduga mampu menghambat perlekatan bakteri (Hamsafir, 2010). Hal tersebut telah dapat dibuktikan melalui penelitian ini yaitu adhesi *P.gingivalis* pada netrofil yang diinkubasi oleh ekstrak kelopak bunga Rosella tampak menurun dibandingkan pada netrofil yang tidak diinkubasi oleh ekstrak kelopak bunga Rosella.

Porphyromonas gingivalis adalah bakteri utama penyebab periodontitis kronis. Kandungan LPS pada dinding sel bakteri ini merangsang produksi derivat enzim dari host, sitokin, dan pergerakan mediator inflamasi termasuk netrofil, yang menyebabkan kerusakan jaringan pendukung. Reaksi inflamasi ini sebenarnya diaktifkan untuk menahan penyebaran proses penyakit, akan tetapi selain efek yang menguntungkan ini, proses inflamasi juga memiliki komponen yang merusak. Oleh karena itu, perawatan ditujukan untuk meningkatkan aspek inflamasi yang menguntungkan dan menekan atau mengendalikan proses inflamasi yang merusak (Gaw,2002).

Kandungan flavonoid dalam ekstrak kelopak bunga Rosella memiliki efek antiinflamasi dengan cara mengikat protein dan menurunkan hidrofobisitas pada membran sel inang dan bakteri (Hamsafir, 2010). *Porphyromonas gingivalis* memiliki *fimbriae* dan hemagglutinin yang berfungsi sebagai hidrofobin yang bertanggung jawab terhadap interaksi bakteri dengan protein pada membran netrofil yang relatif hidrofob melalui interaksi hidrofobik. Flavonoid dalam ekstrak Rosella dapat menurunkan hidrofobisitas tersebut, sehingga menurunkan adhesi *P. gingivalis* pada netrofil. Selain itu, kandungan antosianin dan vitamin C sebagai antioksidan yang cukup tinggi pada ekstrak Rosella terbukti berperan dalam menghambat adhesi lekosit dengan cara menghambat pelepasan dari ICAM-1 pada sel endotel. Antioksidan ini juga dapat menghambat ekspresi protein adhesi yaitu integrin 1 dan 2 pada lekosit dan menghambat perlekatannya pada endotel dan sel lain (Khusnan dan Salasia, 2006; Sukandar, 2006). Diduga mekanisme ini juga dapat menghambat adhesi *P.gingivalis* pada netrofil. Pada beberapa penelitian secara *in vivo* maupun *in vitro* menunjukkan bahwa flavonoid memiliki aktivitas biologis maupun farmakologis, antara lain bersifat antibakteri, antiinflamasi, antialergi, antikarsinogen, antioksidan, dan melindungi pembuluh darah (Sabir, 2003). Flavonoid bersifat antibakteri karena mampu berinteraksi dengan DNA bakteri. Hasil interaksi ini menyebabkan perubahan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom (Bryan dan Wilson dalam Sabir, 2003). Mekanisme lainnya yaitu flavonoid bersifat

antibakteri karena flavonoid melepaskan energi transduksi terhadap membran sitoplasma bakteri dan menghambat motilitas dari bakteri (Mirzoeva et al .,1997).

Berdasarkan hasil penelitian yang didapatkan, kandungan flavonoid dalam kelopak bunga Rosella memiliki banyak manfaat dalam bidang kedokteran gigi terutama pada bidang Periodontologi yaitu Rosella dapat dimanfaatkan dan dikembangkan sebagai alternatif obat antiinflamasi topikal atau obat kumur yang sekaligus berperan sebagai antibiotik untuk penderita periodontitis. Dengan demikian diharapkan pertumbuhan *P. gingivalis* dapat ditekan dengan mekanisme bakterisidal, namun kerusakan jaringan yang terjadi akibat proses inflamasi bisa lebih terkendali, melalui pengendalian aktifitas netrofil.

Penggunaan bahan yang memiliki efek antiinflamasi dan antibakteri sekaligus dalam satu formulasi efektif dalam mempercepat proses penyembuhan luka. Hal ini disebabkan karena sifat antiinflamasi dapat meringankan proses fagositosis dan bahan yang memiliki sifat anti bakteri dapat menekan pertumbuhan bakteri patogen sehingga dapat meminimalisir infeksi sekunder yang menghambat penyembuhan luka (Robbins & Kumar, 1995).

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa pemberian ekstrak kelopak bunga Rosella dapat menurunkan indeks adhesi *Porphyromonas gingivalis* pada netrofil.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang efek ekstrak kelopak bunga Rosella terhadap respon netrofil terhadap mikroflora lain yang bersifat patogen di rongga mulut.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang efektifitas ekstrak kelopak bunga Rosella terhadap respon netrofil terhadap mikroflora lain yang bersifat patogen di rongga mulut dengan metode pengekstrakan kering.
3. Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut mengenai aplikasi ekstrak kelopak bunga Rosella sebagai obat topikal dan obat kumur pada penderita penyakit periodontal.
4. Perlu dilakukan perbaikan untuk penelitian lebih lanjut tentang penggunaan konsentrasi suspensi *P.gingivalis* dan juga kemungkinan efek sitotoksik ekstrak Rosella konsentrasi tinggi terhadap jaringan.

DAFTAR PUSTAKA

- Adhikari, Francis, Schutzki, Chandra, dan Nair. 2005. Quantification and characterisation of cyclo-oxygenase and lipid peroxidation inhibitory anthocyanins in fruits of *Amelanchier*. *Phytochem Anal.* Vol.16(3): 80-175
- Amanda, L. 2010. *Sistem Adhesi Kedokteran Gigi*. [online]. www.repository.usu.ac.id. [28 April 2011].
- Baratawidjaja, K.G. 1996. *Imunologi Dasar*. Edisi ketiga. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Hal:9-47
- Bellanti, JA. 1993. *Imunologi III*. Terjemahan oleh A. Samik Wahab. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. Hal:18-39
- BSN Medical. Tanpa Tahun. *Cutimed Sorbact*. [online]. <http://www.cutimed-sorbact.com/Indonesia/faq.htm> [18 Mei 2011]
- Carranza, Newman, Takei, dan Klokkevold. 2006. *Clinical Periodontology*. 10th edition. Philadelphia: WB Saunders. Hal: 132
- Dorland. 2002. *Kamus Kedokteran Edisi 29*. Jakarta : EGC. Hal: 37
- Faridasari, R.D., dan Mulyantini, S. 2009. *Pengeringan Kelopak Bunga Rosella Menggunakan Tray Dryer*. Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro.
- Firman,B. 2007. “Perbandingan Pengaruh Sevofluran dan Isofluran Terhadap Jumlah Neutrofil Polimorfonuklear Darah Tepi”. Tesis. Semarang: Program Pasca Sarjana Magister Ilmu Biomedik dan Pendidikan Dokter Spesialis I Anestesiologi Universitas Diponegoro.
- Galvano, Fauci, Vitaglione, Fogliano, Vanella dan Felgines. 2007. Bioavailability, antioxidant and biological properties of the natural free-radical scavengers cyanidin and related glycosides. *Ann Ist Super Sanit.* Vol. 43 (4): 382-393

- Gaw, Mc. 2002. Periodontal Disease and Preterm Delivery of Low Birth Weight Infants. *J Can Dent Assoc.* Vol. 68(3): 165-9
- Grossman IL, Oliet S, Rio CED. 1995. *Ilmu Endodontik dalam Praktik.* Ed.11. Jakarta : EGC.Hal: 128
- Guyton, A. C., dan Hall, J.E. 2007. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran.* Edisi 11. Cetakan I. Terjemahan Irawan S, K. A. Tragedi,dan A. Santos. 1997. Jakarta : EGC. Hal: 452-457
- Hamsafir, E. 2010. Teh Dapat Menghambat Pembentukan Karies Gigi. [serial online].<http://www.infogigi.com/kesehatan-gigi/teh-dapat-menghambat-pembentukan-karies-gigi.html>. [1 Juni 2011]
- Hasibuan, S., Mardiah, dan Saptuti. 2010. Aplikasi Pewarna Alami Antosianin Dari Kelopak Rosela Pada Produk Yoghurt Dalam Rangka Penganekaragaman Produk Pangan Fungsional. Bogor: Fakultas Agribisnis dan Teknologi Pangan Universitas Djuanda
- Info Fisioterapi. 2011. Kandungan dan Manfaat Rosella. [online]. <http://www.infofisioterapi.com/kandungan-dan-manfaat-rosella.html> [13 Februari 2011]
- Iriano, A. 2008. "Efek Antibakteri Aloe Vera Terhadap *Porphyromonas gingivalis* In Vitro (Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Infundasi)". Tidak Diterbitkan. Skripsi. Jakarta: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia.
- Jacques, M dan Paradis, S.E. 2006. Adhesin–receptor interactions in *Pasteurellaceae*. [serial online]. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1574-6976.1998.tb00360.x/abstract>. [20 Juli 2011]
- Jawetz, Melnick, dan Adelberg, 2005. *Mikrobiologi Kedokteran.* Jakarta: EGC. Hal: 92
- Khusnan & Salasia, S. I. 2006. Adesi Pada Sel Epitel, Aglutinasi Eritrosit Terhadap *Staphylococcus aureus*: Kajian Hidrofobisitas In Vitro. *J. Sain Vet.* Vol. 24(1): 102-109
- Mahadevan, N., Shivali and Pradeep kamboj.. 2009. Hibiscus sabdariffa Linn. –An overview. *Natural product Radiance.* Vol. 8 (1): 77-83.

- MicrobeWiki. 2008. [Online]
 Porphyromonas.<http://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Porphyromonas>. [27 April 2011]
- Mirzoeva OK, Grishanin RN, Calder PC .1997. Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth membrane potential and motility of bacteria. *Microbiol Res*. Vol.152 (3): 239-246.
- Muardi, D. 2009. Rosella, Cantik Penuh Manfaat. [serial online]. <http://www.ummi-online.com/artikel-19-rosella-cantik-penuh-manfaat.html>. [11 Januari 2012]
- Mukhtar, T. 2010. *Manfaat Teh Rosella*. [online]. <http://tehape09usk.blogspot.com/2010/11/manfaat-teh-rosela.html>. [27 April 2011]
- Richard, JL., dan Howard, FJ. 1998. Life Below The Gum Line : Pathogenic Mechanisms of *Porphyromonas gingivalis*. *Microbiol Mol Biol Rev*. Vol.62 (4) : 1244-1263
- Rossi, Serraino , Dugo , Di Paola, Mondello ,Genovese, Morabito, Sautebin , Caputi , Cuzzocrea . 2003. Protective effects of anthocyanins from blackberry in a rat model of acute lung inflammation. *Free Radic Res*. Vol.37 (8):891-900.
- Robbins, S.L., dan Kumar, V. 1995. *Buku ajar patologi I* (4th ed.) (Staf pengajar laboratorium patologi anatomik FK UI, penerjemah). Jakarta: EGC. Hal: 191-244
- Sabir,A. 2003. Pemanfaatan flavonoid di Bidang Kedokteran Gigi. *Maj.KG Dental Journal Edisi Khusus Temu Ilmiah Nasional III*. Vol.38 (3):135-141
- Santosaningsih, D. 2004. “Peranan Protein *Fimbriae* dan Lipopolisakarida Terhadap Perlekatan Bakteri *Enterohemorrhagic Escherichia Coli* (EHEC) O157 Pada Enterosit Kelinci Secara Invitro : Penelitian Eksperimental Laboratoris”. Tesis. Surabaya: Program Pascasarjana Universitas Airlangga
- Septiana, Dwiyaniti, Muchtadi, Zakaria. 2006. Penghambatan Oksidasi LDL dan Akumulasi Kolesterol Pada Makrofag oleh Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. Vol.XVII (3) : 221-226

- Shafie, F. M. 2011. "Hubungan Radikal Bebas dan Antioksidan Terhadap Penyakit Periodontal". Skripsi. Medan: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Sumatra Utara.
- Shuter, J., Hatcher, V.B., Lowy, F.D., 1996. *Staphylococcus aureus* binding to human nasal mucin. *Infect Immun.* Vol.64(1): 310-318
- Siqueira, J. F & Rocas, I. N. 2007. Bacterial Pathogenesis and Mediators in Apical Periodontitis. *Brazilian Dental Journal.* Vol. 18(4)
- Siregar, Y. D & Nurlela. 2011. Ekstraksi dan Uji Stabilitas Warna Alami dari Bunga Kembang Sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) dan Bunga Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Valensi.* Vol. 2(3): 459-467
- Sukandar, E. 2006. Stress Oksidatif Sebagai Faktor Resiko Penyakit Kardiovaskular Pada Penyakit Ginjal Kronis Tahap 1 sampai 4. *Majalah Farmacia.* Vol. 6(1): 64
- Susanti, R., & Rahayuningsih, M. 2003. Aktivitas Fagositosis Neutrofil Terhadap *Staphylococcus aureus* Isolat Sapi di Jawa Tengah dengan Teknik *Acridine Orange Fluorescence*. Berkas Penelitian Hayati
- Susilawati, IDA. 2008. "Induksi *Porphyromonas gingivalis* terhadap Aktivitas Kolagenolisis Netrofil pada Kolagen Tipe IV (Studi *in vitro* Mekanisme Kolagenolisis Plak Aterosklerotik)". Disertasi. Malang: Program Doktor Ilmu Kedokteran Universitas Brawijaya
- Tihnulat, A.N. 2009. "Efek Bawang Putih (*Allium sativatum*) dan Cabe Jawa (*Piper retrofractum* Vahl.) Terhadap Jumlah Neutrofil Pada Tikus Yang Diberi Suplemen Kuning Telur". Skripsi. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro
- Usman, D. 2010. "Karakteristik Dan Aktivitas Antioksidan Bunga Rosella Kering (*Hibiscus sabdariffa* L.)". Skripsi. Surabaya: Fakultas Teknologi Industri Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Jawa Timur.
- Vachani, C. 2006. Neutropenia. [online]. <http://www.oncolink.org/coping/article.cfm?c=5&s=22&ss=167&id=968> [27 April 2011]

- Wahyudi. 2007. Adesi dan Aktifitas Fagositosis Sel Polimorfonuklear Terhadap *Staphylococcus aureus* Asal Susu Sapi Perah dan Manusia yang Bersifat Multiresisten Terhadap Antibiotik. [online]. <http://yudhie-kh.web.ugm.ac.id/?p=7> [27 April 2011]
- Wibawan, Lammer, Lautrou, Warsa. 1992 Serotyping and Further Characterization of Group B *Streptococcal* Isolates From Indonesia. *Zentralbl Bakteriol.* Vol.277(2): 260-266
- Wijayanti, D.A. 2011. “Efektifitas Ekstrak Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) Terhadap Penurunan Jumlah Sel *Polymorfonuclear Neutrofil* (PMN) Pada Periodontitis Eksperimental Tikus Wistar”. Skripsi. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
- Wijayanti, P.J. 2008. “Karakterisasi Protein Adhesin OMP (Outer Membran Protein) 66,29 kDa *Aeromonas salmonicida* Terhadap Sel Epitel Usus Ikan Mas (*cyprinus carpio l*)”. Skripsi. Malang : Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.
- Yanuhar, U. Tanpa Tahun. Analisis Protein Adhesin Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). *Jurnal Penelitian Perikanan Universitas Brawijaya*. Vol. III : 36-41

LAMPIRAN

Lampiran A. Hasil Perhitungan Rata-Rata Adhesi *P. gingivalis* pada Neutrofil

NO	KONTROL		PERLAKUAN 1 (50%)		PERLAKUAN 2 (100%)	
	1	2	1	2	1	2
1	7	12	6	6	3	3
2	10	6	5	8	4	2
3	6	11	5	5	4	5
4	9	8	7	7	2	5
5	6	6	8	8	1	2
6	7	10	4	4	3	4
7	8	12	9	7	4	2
8	5	7	8	5	3	3
9	5	7	6	7	5	5
10	10	11	7	7	5	5
11	11	10	8	6	3	5
12	6	13	5	9	3	3
13	7	13	5	4	3	4
14	8	6	6	4	5	4
15	7	7	5	5	5	2
16	8	10	7	5	7	5
17	9	8	6	6	4	4
18	6	8	5	4	2	4
19	9	11	8	9	2	4
20	8	10	4	6	3	5
21	8	9	7	7	1	2
22	5	10	9	8	2	4
23	11	12	7	5	5	4
24	7	5	6	7	2	7

25	7	9	5	5	4	2
26	6	11	7	4	3	2
27	7	10	6	9	4	3
28	8	10	6	8	5	6
29	5	8	4	5	4	4
30	7	13	7	6	5	5
31	7	7	5	9	5	4
32	6	11	7	7	2	3
33	10	10	8	6	6	3
34	6	10	6	8	3	5
35	8	8	8	4	1	4
36	9	12	9	3	3	2
37	7	10	5	4	2	7
38	9	10	10	6	3	4
39	7	8	7	6	1	6
40	5	8	5	5	6	3
41	12	10	6	7	3	6
42	7	13	6	4	1	4
43	5	14	6	4	3	1
44	7	8	5	7	4	1
45	9	7	4	7	5	5
46	11	8	6	6	3	4
47	9	12	4	4	1	4
48	9	7	6	4	3	1
49	5	6	6	7	3	4
50	14	9	4	4	2	3
51	9	9	5	6	5	7
52	5	8	6	6	3	6
53	10	9	8	7	4	3
54	6	10	5	8	2	6

55	7	8	8	6	4	5
56	11	13	8	8	4	3
57	9	8	6	5	2	4
58	9	12	6	6	2	3
59	11	10	6	5	6	4
60	12	8	8	5	4	3
61	7	8	7	5	3	2
62	12	10	7	8	6	5
63	8	7	4	6	2	0
64	8	7	9	4	2	3
65	9	9	7	4	4	5
66	8	6	7	6	5	4
67	6	7	5	8	4	5
68	5	10	7	5	4	5
69	5	12	7	6	5	3
70	12	6	6	3	3	3
71	12	11	5	6	3	2
72	10	8	5	5	2	4
73	12	6	4	6	3	3
74	13	9	8	4	3	4
75	14	10	5	6	1	4
76	14	11	6	3	2	1
77	13	7	6	3	3	3
78	10	6	4	4	2	7
79	14	8	5	6	4	1
80	7	7	6	7	2	4
81	9	8	8	5	3	3
82	13	5	6	5	0	3
83	8	11	6	7	3	5
84	10	13	6	5	2	3

85	9	7	5	5	3	4
86	7	7	4	5	3	4
87	6	9	4	6	3	4
88	7	9	5	7	3	4
89	10	9	6	5	1	4
90	4	5	4	6	3	6
91	6	11	6	5	3	4
92	6	11	5	8	3	3
93	4	12	5	6	2	2
94	4	5	5	4	4	2
95	12	10	5	7	2	5
96	6	7	7	5	4	4
97	6	10	6	7	4	3
98	5	9	8	4	3	2
99	8	7	7	7	4	5
100	6	6	6	5	3	5
total	819	902	611	579	321	376
rata-rata = 8,29			rata-rata = 5,54		rata-rata = 3,40	

Lampiran B. Analisis Data Penelitian

B1. Deskriptif Data Penelitian

Descriptives

jumlah

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
KONTROL	150	8.2933	1.59927	.13058	8.0353	8.5514	6.00	11.00
ROSELLA 50%	150	5.5467	1.00727	.08224	5.3842	5.7092	4.00	7.00
ROSELLA 100%	150	3.4067	1.03039	.08413	3.2404	3.5729	2.00	5.00
Total	450	5.7489	2.35522	.11103	5.5307	5.9671	2.00	11.00

B2. Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

	kelompok	Jumlah
N	450	450
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	2.0000
	Std. Deviation	.81923
Most Extreme Differences	Absolute	.222
	Positive	.222
	Negative	-.222
Kolmogorov-Smirnov Z	2.722	1.239
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000	.093

- a. Test distribution is Normal.
- b. Calculated from data.

B3. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Jumlah

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.618	2	147	.076

B4. Uji One Way Anova

ANOVA

jumlah

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1800.164	2	900.082	582.708	.000
Within Groups	690.460	447	1.545		
Total	2490.624	449			

B5. Uji Lanjut LSD

Multiple Comparisons

jumlah

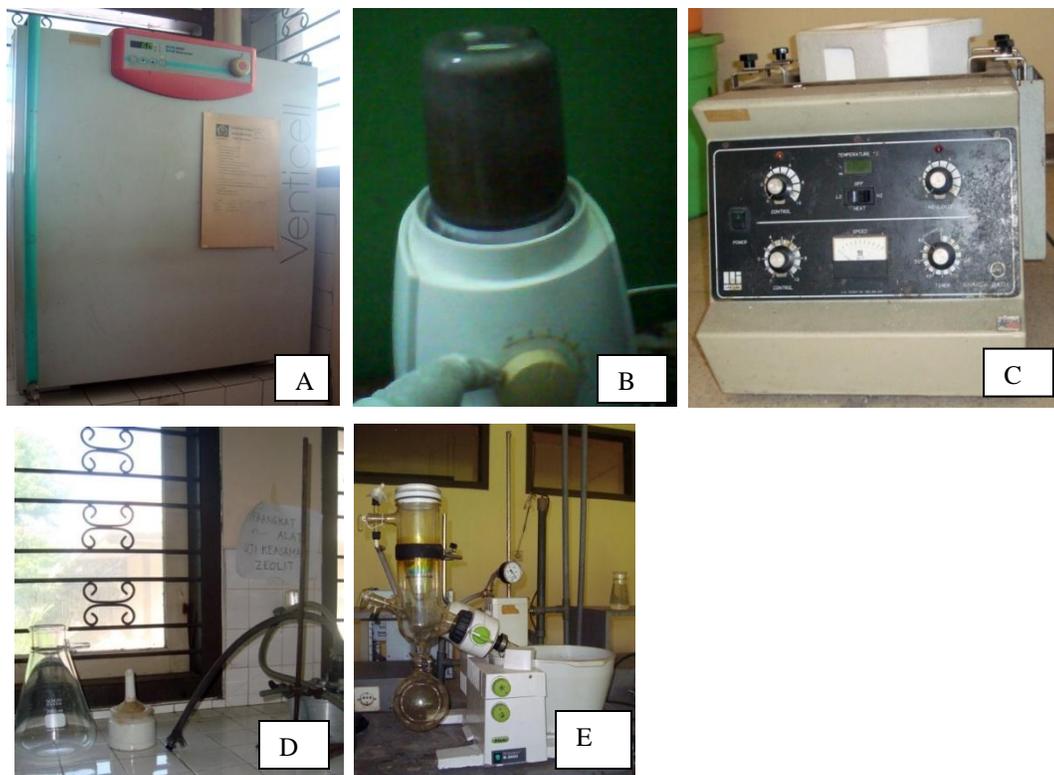
LSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
KONTROL	ROSELLA 50%	2.74667*	.14351	.000	2.4646	3.0287
	ROSELLA 100%	4.88667*	.14351	.000	4.6046	5.1687
ROSELLA 50%	KONTROL	-2.74667*	.14351	.000	-3.0287	-2.4646
	ROSELLA 100%	2.14000*	.14351	.000	1.8580	2.4220
ROSELLA 100%	KONTROL	-4.88667*	.14351	.000	-5.1687	-4.6046
	ROSELLA 50%	-2.14000*	.14351	.000	-2.4220	-1.8580

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran C. Alat dan Bahan Pembuatan Ekstrak Kelopak Rosella

C.1 Alat Pembuatan Ekstrak Rosella



Keterangan :

A. Oven

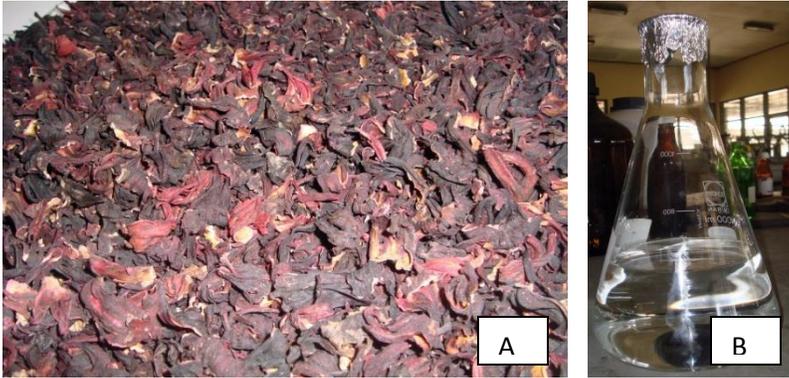
B. Blender

C. *Shaker Bath*

D. Vakum Penyaring

E. *Rotary Evaporator*

C.2 Bahan Pembuatan Ekstrak Rosella



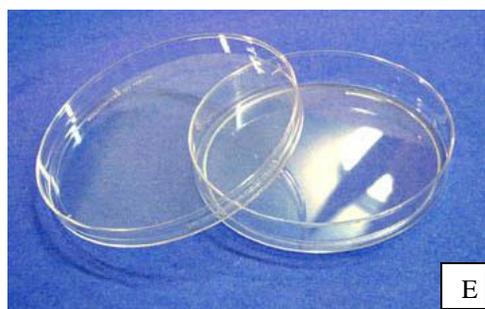
Keterangan :

A. Kelopak bunga Rosella kering (merek “Bunga Rosella Mesir *de Carcade*”)

B. Etanol 97%

Lampiran D. Alat dan Bahan Subkultur *P. gingivalis*

D.1 Alat Subkultur *P. gingivalis*



Keterangan :

A. Neraca timbangan

B. Tabung Erlenmeyer

C. Kompor listrik

D. Autoclave

E. Petridish

F. Desiccator

G. Densichack

D.2 Bahan Subkultur *P. gingivalis*



Keterangan :

- A. *Brain Heart Infusion – Agar* (BHI- A)
- B. *Yeast extract*
- C. *Vitamin K1*
- D. *Hemin Chloride*
- E. *Aquadest steril*
- F. *Brain Heart Infusion – Broth* (BHI-B)

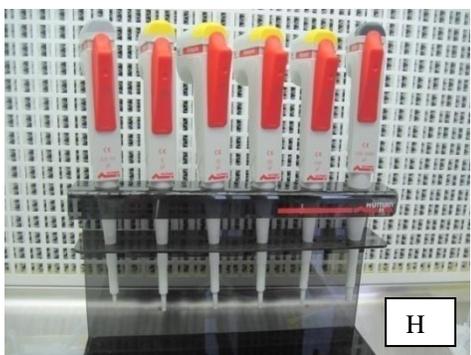
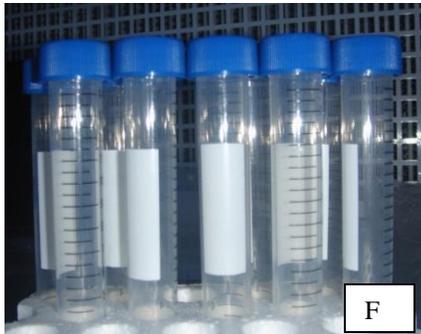
Lampiran E. Alat dan Bahan Penelitian Uji Adhesi

E.1 Alat Penelitian Uji Indeks Adhesi



Keterangan :

- A. Oven
- B. *Laminar flow*
- C. *Tourniquet*
- D. *Syringe*
- E. *Haemocytometer*



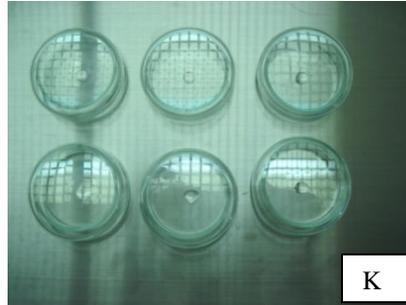
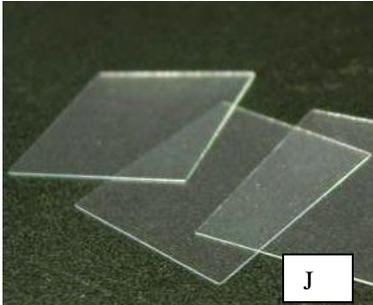
Keterangan :

F. Tabung Falcon

G. *Centrifuge*

H. Pipet Mikro

I. Vortex



Keterangan :

J. Coverslip

K. *Petridish* kecil

L. *Shaker Incubator*

M. Mikroskop *Inverted*

D.2 Bahan Penelitian Uji Indeks Adhesi



Keterangan :

- A. Darah vena perifer
- B. Tabung Heparin
- C. *Hank's Balance Salt Solution* (HBSS)
- D. *Ficoll Hystopaque-1077*
- E. *Dextran*
- F. *Rosewell Park Memorial Institute* (RPMI)
- G. Ekstrak kelopak bunga Rosella



Keterangan :

H. *Aquadest* steril

I. Suspensi *P. gingivalis*

J. CO₂

K. Metanol Absolut

L. *Cat Giemsa*



**ADHESI *Porphyromonas gingivalis* PADA NETROFIL YANG
DIINKUBASI EKSTRAK KELOPAK BUNGA ROSELLA
(*Hibiscus sabdariffa* L.)**

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:

Lila Cita Pratiwi

NIM 081610101025

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

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT . Pemilik segala makhluk. Segala puji tercurah padaMu. Terimakasih atas rahmat yang Engkau limpahkan selama ini, atas pertolongan dan perlindungan dalam setiap langkah, Engkaulah penuntunku dan tidak ada satupun kemudahan apabila bukan atas kehendakMu.
2. Kedua orangtuaku, Ayahanda Ir. Redy Tri Santoso, MT., dan Ibunda Nunuk Dyah Prihartini.
3. Kakak-kakaku, dr. Erdy Kuswandana, dan dr. Galih Manggala Mahardika
4. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Semoga skripsi ini bermanfaat khususnya di bidang Periodonsia.

MOTTO

Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antarmu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat. Dan Allah Maha Mengetahui apa yang kamu kerjakan

(terjemahan Surat Al-Mujaadilah ayat 11)^{*)}

Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan, sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Maka apabila kamu telah selesai (dari sesuatu urusan),

kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain dan hanya kepada Tuhanmulah hendaknya kamu berharap

(terjemahan Surat Al-Insyirah 94:5-8)^{*)}

^{*)} Departemen Agama Republik Indonesia. 2005. *AL-JUMANATUL 'ALI Al-Quran dan Terjemahannya*. Bandung: CV. Penerbit J-ART

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Lila Cita Pratiwi

NIM : 081610101025

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul ”Adhesi *Porphyromonas gingivalis* Pada Netrofil Yang Diinkubasi Ekstrak Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.)” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang saya sebutkan sumbernya dan 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 manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 9 Februari 2012

Yang menyatakan,

Lila Cita Pratiwi

NIM 081610101025

SKRIPSI

ADHESI *Porphyromonas gingivalis* PADA NETROFIL YANG DIINKUBASI EKSTRAK KELOPAK BUNGA ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa* L.)

Oleh:

Lila Cita Pratiwi

NIM 081610101025

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes.

Dosen Pembimbing Anggota : drg. Desi Sandra Sari, MD.Sc

PENGESAHAN

Skripsi berjudul "Adhesi *Porphyromonas gingivalis* Pada Netrofil Yang Diinkubasi Ekstrak Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.)" telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Kamis, 9 Februari 2012

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Tim Penguji

Ketua

Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes
NIP 196109031986022001

Anggota I,

Anggota II,

drg. Desi Sandra Sari, MD.Sc
NIP 197512152003122005

drg. Melok Aris. W, M.Kes. Sp.Perio.
NIP. 197104092005012002

Mengesahkan,
Dekan,

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

RINGKASAN

Adhesi *Porphyromonas gingivalis* Pada Netrofil Yang Diinkubasi Ekstrak Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.); Lila Cita Pratiwi, 081610101025; 2012: 42 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Tahap awal dari respon inflamasi terhadap infeksi bakteri adalah proses adhesi berupa perlekatan bakteri pada sel-sel inflamatori netrofil. Salah satu bakteri yang banyak ditemukan pada kasus periodontitis kronis adalah *Porphyromonas gingivalis*. Bakteri ini dapat menghasilkan produk metabolit yang bersifat racun terhadap jaringan gingiva pada manusia sehingga menimbulkan reaksi inflamasi yang pada awalnya diperankan oleh netrofil. Netrofil dapat memfagositosis 3 sampai 20 bakteri sebelum sel itu menjadi inaktif dan lisis. Perusakan netrofil menyebabkan terjadinya pelepasan mediator inflamasi serta enzim-enzim yang mengakibatkan lisisnya jaringan. Apabila respon berlangsung terus-menerus, bisa berlanjut hingga terjadi penurunan fungsi jaringan periodontal. Oleh karena itu inflamasi harus dikontrol, salah satunya dapat melalui pengendalian aktifitas netrofil. Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) telah diketahui memiliki banyak manfaat untuk kesehatan. Kandungan flavonoid dalam Rosella diketahui memiliki efek antiinflamasi. Oleh karena itu patut diduga Rosella dapat dimanfaatkan untuk menghambat aktifitas netrofil pada infeksi *P.gingivalis*, salah satunya diduga melalui cara inhibisi adhesi *P. gingivalis* pada netrofil. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis pemberian ekstrak kelopak bunga Rosella dalam menurunkan indeks adhesi *P. gingivalis* pada netrofil.

Penelitian ini merupakan eksperimental laboratoris *in vitro*. Rancangan penelitian menggunakan *post test only control group design*. Penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus 2011 di Laboratorium Biomedik Bagian Mikrobiologi dan Laboratorium *Bio Science* Rumah Sakit Gigi dan Mulut Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Jember. Pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas MIPA Universitas Jember.

Ekstrak kelopak bunga Rosella didapatkan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 97%. Kultur *P. gingivalis* dilakukan dalam medium *Brain Heart Infusion* (BHI) yang diperkaya dengan vitamin K1 dan hemin, pada atmosfer anaerob selama 3x24 jam. Isolasi netrofil dilakukan dengan teknik *gradient density* menggunakan *Ficoll Hypaque Centrifugation*. Uji indeks adhesi dilakukan pada isolat netrofil yang diinkubasi dengan ekstrak kelopak bunga Rosella dengan perbandingan 20:1. Penelitian dibagi menjadi tiga kelompok, yaitu kelompok netrofil yang diinkubasi ekstrak Rosella 50%, kelompok netrofil yang diinkubasi ekstrak Rosella 100%, dan kelompok kontrol adalah netrofil yang diinkubasi dengan larutan *Rosewell Park Memorial Institute* (RPMI). Kemudian ketiga kelompok dipapar dengan *P.gingivalis*. Perhitungan indeks adhesi dilakukan dengan cara menghitung *P. gingivalis* yang menempel per netrofil sampai 100 netrofil dengan dua kali pengulangan.

Hasil penelitian menunjukkan netrofil yang diinkubasi ekstrak Rosella, secara signifikan ($p < 0.05$) mengadhesi *P. gingivalis* lebih sedikit dibandingkan dengan netrofil yang tidak diinkubasi ekstrak Rosella. Netrofil yang diinkubasi ekstrak Rosella konsentrasi 100% mengadhesi *P. gingivalis* dengan jumlah paling sedikit dibandingkan dengan netrofil yang diinkubasi ekstrak Rosella 50% dan kontrol.

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat ditarik kesimpulan bahwa ekstrak kelopak bunga Rosella dapat menurunkan indeks adhesi *P. gingivalis* pada netrofil. Perlu penelitian lebih lanjut tentang efek ekstrak kelopak bunga Rosella terhadap respon netrofil pada mikroflora lain yang bersifat patogen di rongga mulut. Dalam bidang Periodontologi perlu adanya penelitian mengenai aplikasi ekstrak kelopak bunga Rosella sebagai obat topikal dan obat kumur pada penderita penyakit periodontal. Selain itu diperlukan pula perbaikan pada penelitian lebih lanjut tentang konsentrasi suspensi *P.gingivalis* dan juga kemungkinan efek sitotoksik ekstrak Rosella konsentrasi tinggi terhadap jaringan.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT, atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Adhesi *Porphyromonas gingivalis* Pada Netrofil Yang Diinkubasi Ekstrak Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.)". Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terimakasih kepada:

1. drg. Hj. Herniyati, M.Kes., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
2. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp.Prost., selaku Pembantu Dekan I Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
3. drg. Agus Sumono, M.Kes., selaku Pembantu Dekan II Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
4. drg. Happy Harmono, M.Kes., selaku Pembantu Dekan III Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
5. Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Utama, dan yang menyertakan penulis dalam proyek RISBIN IPTEKDOK, atas waktu yang telah diluangkan dalam memberikan bimbingan, saran, fasilitas, dan motivasi dengan penuh kesabaran sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
6. drg. Desi Sandra Sari, MD. Sc., selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah memberikan bimbingan, saran dan motivasi dengan penuh kesabaran sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
7. drg. Melok Aris Wahyukundari, M.Kes.,Sp.Perio., selaku Sekretaris Penguji yang telah memberikan saran demi kesempurnaan skripsi ini;
8. drg. Muhammad Nurul Amin, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan nasihat dan motivasi selama penulis menjadi mahasiswa;

9. Ayahanda Ir. Redy Tri Santoso, MT., dan Ibunda Nunuk Dyah Prihartini tercinta, terimakasih untuk kasih sayang tanpa batas, semangat yang tak pernah henti, doa, serta semua yang Ayahanda dan Ibunda berikan demi kelancaran pendidikanku;
10. Kedua kakak laki-lakiku dr. Erdy dan dr. Galih, terimakasih untuk semangat dan keceriaan di rumah yang selalu kalian berikan;
11. Nugroho Ardyta Kusuma, terimakasih untuk waktu yang selalu kamu luangkan hanya untuk mendengar keluh kesah, memberikan semangat, doa, dan motivasi setiap saat;
12. Sahabat-sahabatku Arum dan Amel, kehadiran kalian bertanggung jawab atas semua keceriaan dan tawa dimanapun kita berada. Terimakasih untuk semangatnya;
13. Novema Yolanda, sebagai partner penelitian dan teman seperjuangan, terimakasih untuk bantuan, dan semangatnya;
14. Teman-teman kelompok KKT desa Mojomulyo, Timpugyo, Ayung, Arum, Rere, Ratih, Novema, Wiwik, Laura, Fuad, Farid, Jefri, dan Armando, terimakasih untuk doa dan semangatnya;
15. Teman-teman, kakak-kakak, serta adik-adik kos biru;
16. Seluruh staf, pengajar, dan karyawan FKG Universitas Jember;
17. Semua pihak yang terlibat baik langsung maupun tidak langsung yang membantu dalam penyelesaian skripsi ini.

Penulis menyadari masih ada ketidaksempurnaan dan kekurangan dalam penulisan skripsi ini, untuk itu kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan demi kesempurnaan penulisan selanjutnya. Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat. Amin.

Jember, 9 Februari 2012

Penulis