



**PENGARUH EKSTRAK BIJI JINTAN HITAM (*Nigella sativa L.*) TERHADAP
ADHESI *Streptococcus mutans* PADA NEUTROFIL**

SKRIPSI

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

Oleh:

Adinda Martina

NIM 111610101072

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS JEMBER

2015

PERSEMBAHAN

Atas karunia dan rahmat Allah SWT, skripsi ini saya persembahkan kepada:

1. Agamaku;
2. Orang tuaku tercinta ayahanda Drs. H. Mastur, SH., MM. dan ibunda Dra. Hj. Agustina Pudjiastuti;
3. Kakakku Adhimas Perdana dan adikku Imam Al Adibi;
4. Guru-guru yang telah mendidik saya;
5. Almamaterku Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

MOTO

"Cukuplah Allah sebagai tempat diri bagi kami, sebaik-baiknya pelindung dan sebaik-baiknya penolong kami" (QS. Ali-Imran 3:173)^{*)}

“Jadilah seperti perangko, menempellah pada sesuatu sampai kamu tiba disana”
(Josh Billing)

^{*)} Departemen Agama Republik Indonesia. 2005. *Al-Qur'an dan Terjemahannya*. Semarang: CV. Asy-Syifa`

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Adinda Martina

NIM : 111610101072

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Pengaruh Ekstrak Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa L.*) terhadap Adhesi *Streptococcus mutans* pada Neutrofil” adalah benar-benar hasil karya saya sendiri, kecuali jika disebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang 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 dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 12 Mei 2015

Yang menyatakan,

Adinda Martina

NIM 111610101072

SKRIPSI

**PENGARUH EKSTRAK BIJI JINTAN HITAM (*Nigella sativa L.*) TERHADAP
ADHESI *Streptococcus mutans* PADA NEUTROFIL**

Oleh:

Adinda Martina

NIM 111610101072

Dosen Pembimbing Utama : drg. Depi Praharani, M.Kes

Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Zainul Cholid, Sp.BM

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “Pengaruh Ekstrak Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa L.*) terhadap Adhesi *Streptococcus mutans* pada Neutrofil”, telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada :

hari, tanggal : Selasa, 12 Mei 2015

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Tim Penguji

Dosen Penguji Ketua

Dosen Penguji Anggota

drg. Peni Pujiastuti, M.Kes
NIP. 196705171996012001

Dr. drg. Purwanto, M.Kes
NIP. 1957102419860831002

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Pendamping

drg. Depi Praharani, M.Kes
NIP. 196801221997022001

drg. Zainul Cholid, Sp.BM
NIP. 197105141998021001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Jember

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

RINGKASAN

Pengaruh Ekstrak Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa L.*) terhadap Adhesi *Streptococcus mutans* pada Neutrofil; Adinda Martina, 111610101072; 55 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Streptococcus mutans merupakan bakteri utama penyebab karies gigi dan endokarditis bakterialis. *S. mutans* menginvasi inang diawali dengan melakukan adhesi (perlekatan). Proses ini merupakan langkah awal dalam proses infeksi. Oleh karena itu, adhesi *S. mutans* pada sel inang perlu dicegah agar tidak terjadi infeksi oleh bakteri. Salah satu upaya untuk mencegah terjadinya adhesi tersebut bisa menggunakan bahan alami yaitu jintan hitam. Tanaman ini telah diketahui memiliki banyak manfaat dibidang kesehatan seperti antibakteri, antiinflamasi, antijamur, antioksidan, antikanker, dan analgesik. Pada dasarnya semua bagian tanaman jintan hitam dapat digunakan dalam terapi pengobatan. Namun, bagian yang paling sering digunakan adalah bijinya. Bagian bijinya dapat digunakan langsung sebagai bumbu masakan, simplisia, kapsul ekstrak, dan minyak ekstrak. Selain itu, hasil penelitian Mohammed *et al* menunjukkan bahwa jintan hitam mampu mempengaruhi adhesi strain *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Staphylococcus epidermidis*. Tujuan penelitian adalah untuk menganalisis pengaruh ekstrak biji jintan hitam terhadap adhesi *S. mutans* pada neutrofil.

Jenis penelitian yang dilakukan adalah eksperimental laboratoris *in vitro* dengan rancangan yaitu *post test only control group*. Penelitian ini terdiri dari 2 kelompok yaitu kelompok I (kontrol) yang tidak diinkubasi ekstrak biji jintan hitam dan kelompok II yang diinkubasi dengan ekstrak biji jintan hitam 100%. Besar sampel untuk setiap kelompok adalah 4 sampel berupa isolat neutrofil yang diambil dari subyek penelitian yang memenuhi kriteria. Setelah sampel dipapar *S. mutans* selama 2,5 jam, selanjutnya dilakukan pewarnaan Giemsa dan penghitungan jumlah

S. mutans yang menempel pada neutrofil di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 1000 kali.

Hasil analisis data menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok I (kontrol) dan kelompok II dimana rata-rata indeks adhesi kelompok yang dipapar ekstrak biji jintan hitam 100% sebesar 0,52 lebih kecil daripada kelompok kontrol yaitu sebesar 1,46. Kesimpulan penelitian ini adalah pemberian ekstrak biji jintan hitam mempunyai pengaruh dapat menghambat adhesi *S. mutans* pada neutrofil.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat, karunia dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Ekstrak Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa L.*) terhadap Adhesi *Streptococcus mutans* pada Neutrofil”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. drg. Hj. Herniyati, M.Kes. selaku Dekan, drg. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp. Prost. selaku Pembantu Dekan I, drg. Agus Sumono, M.Kes. selaku Pembantu Dekan II, dan drg. Happy Harmono, M.Kes. selaku Pembantu Dekan III Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
2. drg. Depi Praharani, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Utama dan drg. Zainul Cholid, Sp.BM selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah memberikan ilmu, bimbingan, saran dan motivasi sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik;
3. drg. Peni Pujiastuti, M.Kes selaku Dosen Penguji Ketua dan Dr. drg. Purwanto, M.Kes selaku Dosen Penguji Anggota yang telah banyak memberikan masukan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik;
4. drg. Desi Sandra Sari, MD.Sc dan drg. Kiswaluyo, M.Kes. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah banyak memberikan nasihat, saran dan motivasi;
5. Ibuku Dra. Hj. Agustina Pudjiastuti dan ayahku Drs. H. Mastur, SH., MM. yang telah memberikan seluruh kasih sayang, pengorbanan, doa, dan semangat. Terimakasih untuk segalanya;
6. Kakaku Adhimas Perdana dan adikku tersayang Imam Al Adibi yang telah memberikan semangat, canda tawa, do'a, dan kasih sayang;

7. Mbak Nur Azizah, A.Md, Ak., dan Pak Yohannes Erwan S, A.Md, Ak., selaku staf Laboratorium *Biosciense* RSGM Universitas Jember dan pak Setyo Pindari, A.Md selaku staf Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang telah membantu hingga terselesaikannya penelitian ini;
8. Teman-temanku tersayang Tiara Fortuna, Asri Dinar, Berty Intan, Dewi Martinda, Selvia Magdalena, dan Rifqi Afdila;
9. Penghuni rumah kedua kos Apel 77A, Mbak Wulan, Mbak Elsi, Mbak Dila, Mbak Fitri, Mbak Leli, Mbak Enis, Hayyu, Iim, Jeani, Vemi, dan Asti;
10. Sahabat-Sahabatku tersayang Rizqa, Izzatul, Ratna, Novita, Dhani, dan Aranca. Serta saudara-saudaraku tercinta Nura, Vani, dan Nuri.
11. Teman-teman seperjuangan skripsi dan penelitian Silvia Dona, Anggi F., Redo Setyawan, Anugerah Nur, Intan Permata, Nugraheni, dan Tari;
12. Seluruh angkatan 2011 yang telah berjuang bersama-sama melewati masa suka dan duka dalam menimba ilmu di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Terima kasih atas segala kebersamaannya. Semoga kita semua menjadi dokter gigi yang membanggakan;
13. Semua pihak yang terlibat baik secara langsung maupun tidak langsung yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini.

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

Jember, 12 Mei 2015

Penulis

DAFTAR ISI

| | |
|---|------------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| HALAMAN PERSEMBAHAN | ii |
| HALAMAN MOTO | 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..... | 4 |
| 2.1 <i>Streptococcus mutans</i>..... | 4 |
| 2.1.1 Morfologi dan Habitat <i>Streptococcus mutans</i> | 4 |
| 2.1.2 Virulensi <i>Streptococcus mutans</i> | 6 |
| 2.2 Respon Imun..... | 6 |
| 2.2.1 Radang (Inflamasi)..... | 8 |
| 2.3 Neutrofil | 9 |

| | |
|--|-----------|
| 2.3.1 Morfologi Neutrofil..... | 9 |
| 2.3.2 Fungsi Neutrofil | 10 |
| 2.4 Adhesi Bakteri pada Sel Inang | 13 |
| 2.5 Jintan Hitam..... | 14 |
| 2.5.1 Morfologi Jintan Hitam..... | 15 |
| 2.5.2 Kandungan dan Manfaat Jintan Hitam..... | 16 |
| 2.5.3 Daya Antiadhesi Jintan Hitam | 18 |
| 2.6 Kerangka Konsep | 19 |
| 2.7 Hipotesis | 19 |
| BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN | 20 |
| 3.1 Jenis Penelitian | 20 |
| 3.2 Rancangan Penelitian | 20 |
| 3.3 Tempat dan Waktu Penelitian | 20 |
| 3.4 Variabel Penelitian..... | 21 |
| 3.4.1 Variabel Bebas | 21 |
| 3.4.2 Variabel Terikat | 21 |
| 3.4.3 Variabel Terkendali..... | 21 |
| 3.5 Definisi Operasional | 21 |
| 3.5.1 Ekstrak Jintan Hitam..... | 21 |
| 3.5.2 Neutrofil | 22 |
| 3.5.3 <i>Streptococcus mutans</i> | 22 |
| 3.5.4 Adhesi | 22 |
| 3.6 Sampel Penelitian | 22 |
| 3.6.1 Besar Sampel..... | 22 |
| 3.6.2 Penggolongan Sampel Penelitian | 23 |

| | |
|--|-----------|
| 3.7 Alat dan Bahan Penelitian..... | 23 |
| 3.7.1 Alat Penelitian..... | 23 |
| 3.7.2 Bahan Penelitian..... | 24 |
| 3.8 Prosedur Penelitian..... | 24 |
| 3.8.1 Uji Identifikasi <i>Streptococcus mutans</i> dan Biji Jintan Hitam..... | 24 |
| 3.8.2 Pembuatan Ekstrak Biji Jintan Hitam..... | 24 |
| 3.8.3 Pembuatan Suspensi <i>Streptococcus mutans</i> | 25 |
| 3.8.4 Prosedur isolasi neutrofil..... | 25 |
| 3.8.5 Uji Adhesi..... | 26 |
| 3.9 Analisis Data..... | 27 |
| 3.10 Alur Penelitian..... | 28 |
| BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN..... | 29 |
| 4.1 Hasil..... | 29 |
| 4.1.1 Hasil Identifikasi <i>Streptococcus mutans</i> dan Isolasi Neutrofil ... | 29 |
| 4.1.2 Hasil Uji Adhesi..... | 30 |
| 4.2 Hasil Analisis Data..... | 32 |
| 4.2.1 Uji Normalitas dan Uji Homogenitas..... | 32 |
| 4.2.2 Uji Perbedaan..... | 32 |
| 4.3 Pembahasan..... | 33 |
| BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN..... | 37 |
| 5.1 Kesimpulan..... | 37 |
| 5.2 Saran..... | 37 |
| DAFTAR PUSTAKA..... | 38 |
| LAMPIRAN..... | 43 |

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Rata-rata indeks adhesi *S. mutans* pada neutrofil 30



DAFTAR GAMBAR

| | |
|---|----|
| Gambar 2.1 Gambaran mikroskopis koloni <i>S. mutans</i> | 5 |
| Gambar 2.2 Gambaran makroskopis koloni <i>S. mutans</i> | 5 |
| Gambar 2.3 Gambaran mikroskopis neutrofil..... | 10 |
| Gambar 2.4 Gambar tanaman jintan hitam. | 16 |
| Gambar 2.5 Gambar biji jintan hitam | 16 |
| Gambar 4.1 Hasil identifikasi <i>S. mutans</i> | 29 |
| Gambar 4.2 Hasil isolasi neutrofil. | 30 |
| Gambar 4.3 Diagram batang indeks adhesi <i>S. mutans</i> pada neutrofil | 31 |
| Gambar 4.4 Hasil penelitian pada kelompok I (kontrol)..... | 31 |
| Gambar 4.5 Hasil penelitian pada kelompok II | 32 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|--|----|
| Lampiran A. <i>Informed consent</i> | 43 |
| Lampiran B. Surat keterangan identifikasi biji jintan hitam | 44 |
| Lampiran C. Surat keterangan hasil ekstraksi biji jintan hitam | 45 |
| Lampiran D. Surat keterangan identifikasi <i>S. mutans</i> | 46 |
| Lampiran E. Foto alat dan bahan penelitian..... | 47 |
| Lampiran F. Foto prosedur penelitian..... | 49 |
| Lampiran G. Hasil penghitungan adhesi <i>S. mutans</i> pada neutrofil..... | 50 |
| Lampiran H. Analisis data penelitian..... | 55 |

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Streptococcus mutans merupakan bakteri Gram positif yang *non motile*, mempunyai diameter 0,5-2,0 μm , berpasang-pasangan, berantai pendek, sedang dan panjang serta non kapsul (Holt *et al*, 1994). *S. mutans* dapat menyebabkan terjadinya karies gigi dan bakteremia sepiptas setelah pencabutan gigi yang dapat menimbulkan endokarditis bakterialis pada pasien-pasien dengan riwayat demam rematik, pencangkokan katup jantung atau penggunaan protesis jantung atau sendi (John, 2004; Kurt *et al*, 1999).

S. mutans sebenarnya adalah flora normal mulut yang dalam keadaan normal tidak menimbulkan penyakit, namun bila terjadi gangguan sistem imun maupun perubahan keseimbangan flora normal mulut, maka bakteri tersebut dapat menjadi patogen (John, 2004). Invasi *S. mutans* pada inang diawali dengan proses adhesi (perlekatan) (Brooks *et al*, 2007). Adhesi bakteri pada permukaan jaringan atau sel inang dapat terjadi apabila terdapat dua komponen, yaitu reseptor pada permukaan sel dan adhesin pada bakteri. Reseptor ini berupa residu peptida dan karbohidrat spesifik pada permukaan sel. Sedangkan adhesin bakteri merupakan komponen makromolekul yang terdapat pada permukaan sel bakteri yang berinteraksi secara spesifik dengan reseptor sel inang yang berupa *fimbriae*, *outer membrane protein*, dan kapsul polisakarida (Todar, 2008).

Pada saat terjadi invasi bakteri patogen, sel pertama yang direkrut ke situs peradangan sebagai pertahanan terhadap serangan mikroorganisme dan membentuk garis awal pertahanan tubuh adalah neutrofil. Apabila bakteri berhasil melakukan adhesi dengan neutrofil, hal ini memungkinkan bakteri bertahan secara intraseluler dalam neutrofil dan dapat menggunakan sel tersebut untuk menyebar melalui sistem sirkulasi darah (Wilson *et al*, 2002). Bakteri yang gagal melakukan adhesi pada

neutrofil akan dibunuh dengan zat antimikroba yang dihasilkan oleh neutrofil pada media ekstraseluler yang biasa disebut dengan *neutrophil extracellular traps* yang dapat menghilangkan dan membunuh bakteri secara ekstraseluler (Zawrotniak dan Kozik, 2013). Oleh karena itu, adhesi bakteri pada sel inang perlu dicegah agar tidak terjadi infeksi oleh bakteri. Salah satu upaya untuk mencegah terjadinya adhesi tersebut bisa menggunakan bahan alami seperti jintan hitam.

Jintan hitam merupakan tanaman herbal yang banyak terdapat di negara Irak, Suriah, Mesir, Amerika, India, Pakistan, Iran, dan beberapa negara di Laut Tengah seperti Yunani dan Siprus (Khanza, 2010). Jintan hitam memiliki banyak manfaat di bidang kesehatan dan telah digunakan oleh masyarakat di negara-negara Timur Tengah dan beberapa negara Asia termasuk Indonesia sebagai promotif kesehatan dan pengobatan penyakit (Randhawa dan Al-Ghamdi, 2002; Utami, 2013). Pada dasarnya semua bagian tanaman jintan hitam dapat digunakan dalam terapi pengobatan. Namun, bagian yang paling sering digunakan adalah bijinya. Bagian bijinya dapat digunakan langsung sebagai bumbu masakan, simplisia, kapsul ekstrak, dan minyak ekstrak (Utami dan Puspaningtyas, 2013). Biji jintan hitam telah digunakan oleh masyarakat sebagai terapi pengobatan seperti pada penyakit kanker, diabetes, obat sakit perut, radang selaput lendir, dan keracunan (Randhawa dan Al-Ghamdi, 2002; Utami, 2013).

Beberapa penelitian, telah memperlihatkan efek jintan hitam sebagai antiinflamasi, antibakteri, antijamur, antioksidan, antidiabetik, antikanker, dan analgesik (Tembhurne *et al*, 2014). Selain itu, hasil penelitian Mohammed *et al* menunjukkan bahwa jintan hitam mempengaruhi adhesi strain *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Staphylococcus epidermidis* (Mohammed *et al*, 2011). Berdasarkan uraian di atas penulis tertarik untuk meneliti pengaruh ekstrak biji jintan hitam terhadap adhesi *S. mutans* pada neutrofil.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah penelitian ini yaitu apakah ekstrak biji jintan hitam mampu mempengaruhi adhesi *S. mutans* pada neutrofil?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini yaitu menganalisis pengaruh ekstrak biji jintan hitam terhadap adhesi *S. mutans* pada neutrofil.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat :

1. Memberikan masukan terhadap ilmu pengetahuan tentang pengaruh biji jintan hitam terhadap adhesi *S. mutans* pada neutrofil.
2. Sebagai acuan untuk penelitian lebih lanjut, dalam mengeksplorasi mekanisme ekstrak biji jintan hitam sebagai bahan yang dapat menghambat adhesi bakteri *S. mutans* apabila penelitian ini terbukti berperan menghambat adhesi *S. mutans* pada neutrofil.
3. Sebagai tambahan informasi kepada masyarakat mengenai manfaat biji jintan hitam sebagai bahan obat tradisional untuk mencegah terjadinya infeksi bakteri *S. mutans*.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Streptococcus mutans*

Streptococcus merupakan mikroorganisme Gram positif berbentuk bulat (kokus) yang membelah dalam satu bidang dan tidak mudah lepas sehingga cenderung tumbuh dalam formasi rantai. Di rongga mulut populasinya tinggi dengan lokasi yang bervariasi (Sumawinata, 2004). Salah satu spesies *Streptococcus* yang bersifat patogen adalah *Streptococcus mutans* yaitu spesies yang dihubungkan dengan pembentukan karies gigi pada manusia dan beberapa hewan lain serta dengan subakut endokarditis (John, 2004).

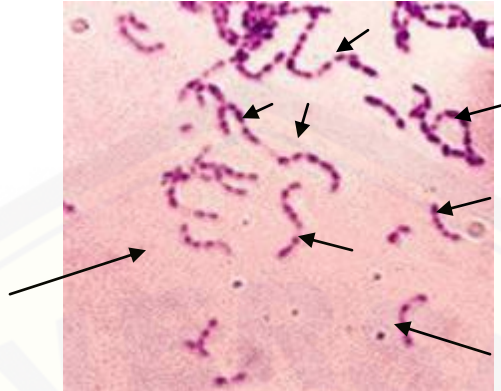
S. mutans secara taksonomi dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

| | |
|---------|-------------------------------|
| Kingdom | : Monera |
| Divisio | : Firmicutes |
| Class | : Bacilli |
| Order | : Lactobacilalles |
| Family | : Streptococcaceae |
| Genus | : <i>Streptococcus</i> |
| Species | : <i>Streptococcus mutans</i> |

(Nugraha, 2008).

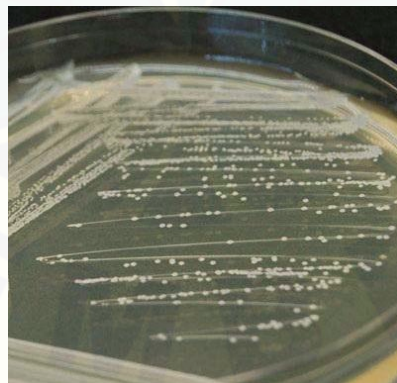
2.1.1 Morfologi dan Habitat *Streptococcus mutans*

S. mutans adalah bakteri Gram positif berbentuk bulat (kokus) yang membelah dalam satu bidang dan tidak mudah lepas sehingga cenderung tumbuh dalam formasi rantai yang non motil, mempunyai diameter 0,5-2,0 μm , berpasang-pasangan, berantai pendek, sedang dan panjang serta non kapsul (gambar 2.1) (Holt *et al*, 1994). Bakteri ini tumbuh optimal pada suhu sekitar 18°-40° C dan dalam suasana fakultatif anaerob (Nugraha, 2008; Lehner, 1992).



Gambar 2.1 Gambaran mikroskopis koloni *S. mutans* pada epitel lidah. Tanda panah menunjukkan *S. mutans* yang berbentuk bulat dan tersusun berantai (Bergey dalam Cappucino dan Natalie, 2001)

Pada *Mannitol Salt Agar* (MSA) koloni *S. mutans* kecil, timbul, tepi tidak beraturan, dan melekat. Pada media agar mengandung sukrosa, sebagian besar strain *S. mutans* menghasilkan koloni sekitar 1 mm berbentuk butiran, tetesan atau genangan air yang mengandung larut polisakarida ekstraseluler. Pada agar darah yang diinkubasi secara anaerob selama dua hari, koloni *S. mutans* berwarna putih atau abu-abu, berbentuk lingkaran atau tidak teratur, 0,5-1,0 mm, kadang-kadang cenderung melekat pada permukaan agar (gambar 2.2) (Hardie, 1986).



Gambar 2.2 Gambaran makroskopis *S. mutans* (Liao dan MacWilliams, 2006)

S. mutans di rongga mulut populasinya tinggi dengan lokasi yang bervariasi. Organisme ini dapat ditemukan pada plak gigi (Sumawinata, 2004). Bakteri ini mampu melekat pada permukaan gigi, dan dapat dijumpai pada retakan gigi, permukaan korona gigi, dan sebagai flora pada periodontitis lanjut (Zaenab *et al*, 2004).

2.1.2 Virulensi *Streptococcus mutans*

Virulensi merupakan kemampuan kuantitatif suatu agen untuk menyebabkan penyakit. Virulensi melibatkan invasi dan toksigenisitas. Faktor yang menentukan kemampuan tersebut disebut faktor virulensi (Brooks *et al*, 2007).

S. mutans memiliki berbagai faktor virulensi, yaitu adhesi (perlekatan bakteri pada sel inang), produksi glukosiltransferase, mengikat glukon protein, dan sifatnya yang asidogenik serta asidurik. Enzim glukosiltransferase pada *S. mutans* dapat mengubah glukosa menjadi glukon yaitu larutan lengket dan tidak tahan terhadap air serta memfasilitasi agregasi dan perlekatan *S. mutans* dengan permukaan gigi. Pada sifatnya yang asidogenik, dapat memproduksi asam dari substrat gula/ karbohidrat. Asidurik, memungkinkan bakteri dapat bertahan dalam kondisi pH rendah dan meningkatkan potensi kariogenik. Perlekatan *S. mutans* pada permukaan halus melalui sintesis polisakarida dengan berat molekul tinggi yang tak larut air dan ikatan polimer dengan permukaan sel dan antigen (Wardhani, 2012).

2.2 Respon Imun

Respon imun adalah mekanisme aktif yang digunakan oleh organisme multiseluler untuk melawan infeksi patogen dan penyakit. Organisme multiseluler ini menggunakan bermacam-macam sel dan produknya untuk membunuh patogen dan menetralkan efek yang ditimbulkan. Tubuh telah dibangun dalam sistem kekebalan tubuh yang menargetkan dan menghancurkan patogen yang paling umum. Selain itu, sistem imun juga mengadaptasi dengan cepat dan efisien dalam menargetkan patogen individu yang berbahaya seperti *strain* baru bakteri atau virus (Yuyun, 2011).

Respon imun berdasarkan asalnya dapat dibedakan menjadi dua yaitu:

1. Respon imun nonspesifik (*innate immunity*)

Respon imun nonspesifik merupakan sistem imun yang telah didapat sejak seseorang lahir dan berkembang segera setelah kontak dengan patogen. Respon sistem imunitas ini berupa fagositosis dan reaksi radang (inflamasi). Fagositosis berarti pencernaan seluler terhadap agen yang mengganggu. Proses ini merupakan peristiwa multifase yang terdiri dari beberapa langkah, meliputi pengenalan benda asing, pergerakan kearah target (kemotaksis), pelekatan, memakan benda asing, dan pemusnahan intraseluler. Sedangkan peradangan merupakan peristiwa yang terjadi di dalam tubuh guna mempertahankan dan memperbaiki keseimbangan kemotaksis akibat perubahan keadaan lingkungan yang ditandai dengan adanya ciri-ciri khas radang (Yuyun, 2011).

2. Respon imun spesifik (*adaptive immunity*)

Respon imun spesifik dipicu oleh suatu zat yang disebut dengan antigen. Antigen dapat berupa bahan infeksiosa, protein, atau molekul lain. Antigen yang melakukan kontak dengan sel tertentu akan memicu serangkaian proses meliputi proses destruksi (pemusnahan atau penghancuran), degradasi (penurunan), dan eliminasi (penghapusan atau penghilangan). Rangkaian proses tersebut merupakan proses imunitas spesifik (Yuyun, 2011).

Berdasarkan mekanisme kerjanya, sistem imun dibedakan menjadi respon imunitas seluler dan humoral. Imunitas seluler adalah sistem imun jaringan atau diluar sel dan diperankan oleh sel B (antibodi). Sementara itu, sistem imun humoral adalah sistem imun yang bekerja pada sel yang terinfeksi antigen dan diperankan oleh sel T. Sistem imun humoral dan seluler akan terangsang apabila limfosit tertentu menangkap antigen (substansi yang mampu merangsang sistem imun, data berupa protein, karbohidrat, atau lemak). Ada dua limfosit yang berperan di dalam sistem imun, yaitu limfosit T dan B (Yuyun, 2011).

2.2.1 Radang (Inflamasi)

Inflamasi atau radang merupakan reaksi semua jaringan hidup terhadap semua bentuk jejas. Dalam reaksi ini yang ikut berperan pembuluh darah, saraf, cairan dan sel-sel tubuh di tempat jejas. Proses radang memusnahkan, melarutkan atau membatasi agen penyebab jejas dan merintis jalan untuk pemulihan jaringan yang rusak pada tempat itu (Kumar *et al*, 2007). Radang merupakan respon fisiologi lokal terhadap cedera jaringan. Radang bukanlah suatu penyakit, melainkan suatu manifestasi suatu penyakit. Radang dapat mempunyai pengaruh yang menguntungkan, seperti penghancuran mikroorganisme yang masuk dan pembuatan dinding pada rongga abses sehingga akan mencegah penyebaran infeksi (Underwood, 1999).

Ciri-ciri khas radang ditandai dengan beberapa tanda klasik, yaitu kemerahan (rubor), panas (kalor), bengkak (tumor), nyeri (dolor), dan hilangnya fungsi (*functio laesa*). Kemerahan (rubor) terjadi akibat adanya dilatasi pembuluh darah kecil dalam daerah yang mengalami kerusakan. Sedangkan panas (kalor) yang hanya tampak pada bagian perifer/ tepi tubuh seperti pada kulit yang diakibatkan oleh meningkatnya aliran darah (*hyperemia*) melalui daerah tersebut sehingga mengakibatkan sistem vaskuler dilatasi dan mengalirkan darah yang hangat pada daerah tersebut dan demam sistemik merupakan hasil dari beberapa mediator kimiawi proses radang juga ikut meningkatkan temperatur lokal. Bengkak (tumor) merupakan hasil adanya edema yaitu berupa suatu akumulasi cairan di dalam rongga ekstravaskuler yang merupakan bagian dari cairan eksudat. Nyeri (dolor) merupakan salah satu gambaran yang dikenal baik oleh penderita. Rasa sakit sebagian disebabkan oleh regangan dan distorsi jaringan akibat edema dan terutama karena tekanan pus didalam rongga abses. Beberapa mediator kimiawi termasuk bradikinin, prostaglandin, dan serotonin diketahui dapat mengakibatkan rasa sakit, dan yang terakhir adalah hilangnya fungsi (*functio laesa*) merupakan konsekuensi dari suatu proses radang. Gerakan yang terjadi pada daerah radang baik secara sadar atau reflek akan mengalami hambatan

oleh rasa sakit, pembengkakan yang hebat secara fisik mengakibatkan berkurangnya gerak jaringan (Dorland, 2010; Underwood, 1999).

Radang memiliki tiga komponen penting yaitu: perubahan penampang pembuluh darah dengan akibat meningkatkan aliran darah, perubahan struktural pada pembuluh darah mikro yang memungkinkan protein plasma dan sel darah putih meninggalkan sirkulasi darah, dan agregasi sel darah putih di lokasi jejas (Kumar *et al*, 2007).

Penimbunan sel-sel darah putih, terutama neutrofil dan monosit pada lokasi jejas, merupakan aspek terpenting reaksi radang. Sel-sel darah putih mampu melahap bahan yang bersifat asing, termasuk bakteri dan debris sel-sel nekrosis, dan enzim lisosom yang terdapat didalamnya membantu pertahanan tubuh dengan beberapa cara. Rangkaian agregasi sel darah putih dan perilakunya pada lokasi radang terdiri dari: (a) marginasi dan susunan berlapis, yang mana massa sel darah merah akan terdapat di bagian tengah dalam aliran aksial, dan sel-sel darah putih pindah ke bagian tepi (marginasi); (b) emigrasi merupakan proses perpindahan sel darah putih yang bergerak keluar dari pembuluh darah; (c) kemotaksis, setelah meninggalkan pembuluh darah, sel darah putih bergerak menuju kearah utama lokasi jejas. Migrasi sel darah putih yang terarah ini disebabkan oleh pengaruh-pengaruh kimia yang dapat berdifusi (kemotaksis). Hampir semua jenis sel darah putih dipengaruhi faktor-faktor kemotaksis. Neutrofil dan monosit paling reaktif terhadap rangsang kemotaksis; (d) fagositosis yang terdiri dari 3 tahap yaitu perlekatan partikel pada permukaan fagosit, pelahapan, pemusnahan dan penghancuran jasad renik atau partikel yang dimakan (Kumar *et al*, 2007).

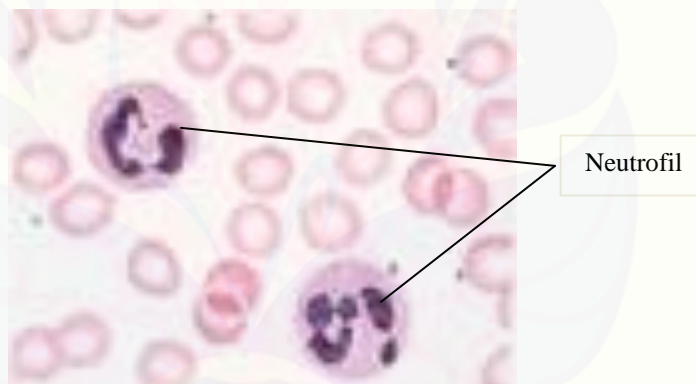
2.3 Neutrofil

2.3.1 Morfologi Neutrofil

Neutrofil merupakan leukosit granular matur yang merupakan polimorfonuklear (gambar 2.3). Inti selnya memiliki tiga hingga lima lobus yang dihubungkan oleh benang kromatin tipis, dan sitoplasmanya mengandung granula halus berwarna ungu

atau merah muda yang sukar dilihat dengan mikroskop cahaya akibatnya sitoplasma tampak jernih atau netral (Eroschenko, 2010; Sloane, 2003). Diameter sel ini mencapai 9 μm sampai 12 μm (Dorland, 2010). Inti sel ini terdiri atas sitoplasma pucat diantara 2 dan 5 lobus dengan rangka tidak teratur dan mengandung banyak granula merah jambu (azuropilik) atau merah lembayung (Hoffbrand dan Pettit, 1996).

Inti berbentuk batang (*stab*) bila lekukan inti melebihi setengah diameter inti dan berbentuk segmen bila inti terbagi menjadi beberapa bagian yang saling dihubungkan dengan benang kromatin. Sel inti motil, amuboid, fagositik aktif, dan memberikan respon kemotaksis (Leeson *et al*, 1996). Neutrofil imatur mengandung lobus yang lebih sedikit dan sel ini membentuk kira-kira 60-70 % leukosit darah (Eroschenko, 2010).



Gambar 2.3 Gambaran mikroskopis neutrofil (Eroschenko, 2010)

2.3.2 Fungsi Neutrofil

Neutrofil berfungsi untuk melindungi tubuh terhadap invasi benda asing, termasuk bakteri dan virus. Neutrofil merupakan sel yang berperan dalam menyerang dan menghancurkan bakteri, virus, dan agen-agen merugikan lain yang menyerbu masuk ke dalam tubuh. Neutrofil juga dapat diartikan sebagai sel matang yang dapat

menyerang dan menghancurkan bakteri, bahkan di dalam sirkulasi (Guyton dan Hall, 2007).

Fungsi neutrofil yang terpenting adalah fagositosis yang berarti pencernaan seluler terhadap agen yang mengganggu. Neutrofil sewaktu memasuki jaringan sudah merupakan sel-sel matur yang dapat segera memulai fagositosis. Sewaktu mendekati suatu partikel untuk difagositosis, mula-mula neutrofil 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 ruang 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-gelembung fagositik yang mengapung dengan bebas (juga disebut fagosom) di dalam sitoplasma sel. Sebuah sel neutrofil biasanya dapat menfagositosis 3 sampai 20 bakteri sebelum sel neutrofil itu sendiri menjadi inaktif dan mati (Guyton dan Hall, 2007).

Fagositosis dapat diuraikan dalam 3 tahap yang jelas berkaitan satu sama lain: (a) perlekatan partikel pada permukaan fagosit; (b) Pelahapan; (c) pemusnahan dan penghancuran jasad renik atau partikel yang dimakan. Pada tahap perlekatan, neutrofil dapat melekat pada bakteri tanpa didahului oleh suatu proses pengenalan yang khas, perlekatan atau adhesi terjadi bila mikroorganisme diliputi opsonin, yang terdapat dalam serum (misalnya IgG, C3). Permukaan neutrofil mempunyai reseptor untuk porsi Fc immunoglobulin IgG dan komponen komplemen ketiga (C3b). Bila mikroorganisme diliputi oleh antibodi IgG yang terdapat dalam serum, porsi Fc molekul immunoglobulin memberi tempat untuk perlekatan pada permukaan neutrofil. Demikian pula adanya reseptor C3b pada neutrofil memudahkan perlekatan bila C3b tertambat pada permukaan mikroorganisme. Perlekatan bakteri yang telah mengalami opsonisasi dengan bantuan reseptor disebut tahap pengenalan fagositosis (Kumar *et al*, 2007).

Pelahapan terjadi setelah bakteri yang mengalami opsonisasi melekat pada permukaan, selanjutnya sel fagosit sebagian besar akan meliputi partikel, berdampak

pembentukan kantong yang dalam. Mulut invaginasi ini akan ditutup oleh filamen-filamen mikro sitoplasma disekitarnya yang bertindak seperti ikatan kantung uang. Partikel ini sekarang terletak dalam vesikel sitoplasma yang masih terikat pada selaput sel yang disebut fagosom. Meskipun pada waktu pembentukan fagosom, sebelum menutup lengkap, granula-granula sitoplasma neutrofil menyatu dengan fagosom dan melepaskan isinya ke dalamnya, suatu proses yang disebut degranulasi (Kumar *et al*, 2007).

Pemusnahan dan penghancuran jasad renik atau partikel yang dimakan merupakan proses selanjutnya. Bila mikroorganisme telah mengalami pelahapan, meskipun sebagian besar sudah dihancurkan oleh fagosit, beberapa organisme yang virulen dapat menghancurkan leukosit (Kumar *et al*, 2007). Setelah difagositosis, sebagian besar partikel dicerna oleh enzim intraseluler. 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 pencerna, dan segera dimulailah proses pencernaan partikel yang sudah difagositosis oleh neutrofil. Neutrofil mempunyai sejumlah besar lisosom yang berisi enzim proteolitik yang khusus dipakai untuk mencerna bakteri dan bahan protein asing lainnya (Guyton dan Hall, 2007).

Selain mencerna bakteri yang dicerna dalam fagosom, neutrofil juga mengandung bahan bakterisidal yang membunuh sebagian besar bakteri, bahkan bila enzim lisosomal gagal mencerna bakteri tersebut. Hal ini menjadi demikian penting sebab beberapa bakteri mempunyai selubung pelindung atau faktor lain yang mencegah penghancurannya oleh enzim pencernaan. Banyak efek pembunuhan merupakan hasil dari beberapa bahan pengoksidasi kuat yang dibentuk oleh enzim dalam membran fagosom, atau oleh organel khusus yang disebut peroksisom. Bahan pengoksidasi ialah sejumlah besar peroksida, hidrogen peroksida, dan ion-ion hidroksil, 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 (Guyton dan Hall, 2007).

2.4 Adhesi Bakteri pada Sel Inang

Ketika masuk ke dalam tubuh inang, bakteri harus melekat pada sel-sel di permukaan jaringan (Brooks *et al*, 2007). Adhesi dapat diartikan sebagai sifat saling berdekatan, yang merupakan akibat penarikan fisis molekul-molekul kepada suatu substansi, atau penarikan molekular yang terdapat di antara permukaan badan-badan yang bersentuhan. Adhesi bakteri pada permukaan sel inang merupakan langkah awal utama dalam proses infeksi diikuti dengan pembentukan mikrokoloni dan langkah-langkah patogenesis infeksi selanjutnya (Brooks *et al*, 2007; Dorland, 2010).

Adhesi bakteri pada permukaan jaringan atau sel inang dapat terjadi apabila terdapat dua komponen, yaitu reseptor dan adhesin. Reseptor merupakan komponen yang berupa residu peptida dan karbohidrat spesifik pada permukaan sel. Sedangkan adhesin bakteri merupakan komponen makromolekul yang terdapat pada permukaan sel bakteri yang berinteraksi secara spesifik dengan reseptor sel inang, seperti *fimbriae*, *outer membrane protein*, dan kapsul polisakarida (Todar, 2008).

Mekanisme adhesi tersebut terdiri dari dua tahap yaitu: (a) adhesi non spesifik atau *doching* (ikatan longgar) adalah adhesi bakteri pada permukaan sel yang bersifat labil (*reversible*). Adhesi ini dapat terjadi disebabkan karena adanya berbagai gaya atau interaksi seperti interaksi hidrofobik, gaya elektrostatik, getaran atom atau molekul, gerak Brown, dan kapsul bakteri; (b) adhesi spesifik atau *anchoring* adalah adhesi bakteri pada permukaan sel dan jaringan yang bersifat stabil (*irreversible*). Adhesi ini juga biasa disebut dengan *anchoring*. Adhesi ini dapat terjadi disebabkan karena adanya ikatan spesifik antara molekul reseptor dengan molekul adhesin (Todar, 2008).

Interaksi antara adhesin dan reseptor terbagi menjadi tiga tipe yaitu: tipe pertama berdasarkan pengenalan lektin dengan karbohidrat, tipe kedua melibatkan

interaksi protein dengan protein yaitu protein yang terdapat pada bakteri dengan protein komplementer pada permukaan mukosa, dan tipe ketiga melibatkan interaksi antara struktur hidrofobik protein dengan lipid yang terdapat pada sel inang atau permukaan bakteri (Abraham *et al* dalam Mubarokah *et al*, 2009).

Proses adhesi ini dipengaruhi oleh interaksi komponen permukaan bakteri dan sel inang dengan faktor lingkungan yang dapat mendukung seperti fibrinektin (suatu protein yang bersifat adhesif), fibrinogen, vitronektin dan laktoferin. Struktur yang bertanggung jawab terhadap sifat adhesi bakteri adalah adhesin *fimbriae*, asam lipoteikoat dan protein adhesin. Interaksi yang terlibat dalam adhesin sebagian besar disebabkan oleh struktur permukaan hidrofob (Doyle, 1990). Bakteri mengadakan perlekatan dengan sel inang melalui suatu interaksi hidrofobik. Interaksi hidrofobik yaitu perlekatan yang terjadi antara partikel hidrofobik (menolak air) pada membran sel bakteri dengan membran sel inang (Todar dalam Santosaningsih, 2003).

2.5 Jintan Hitam (*Nigella sativa*)

Tanaman jintan hitam merupakan tanaman perdu yang tumbuh dengan baik di daerah yang banyak terkena sinar matahari. Sentra tanaman ini terdapat di negara Irak, Suriah, Mesir, Amerika, India, Pakistan, Iran, dan beberapa negara di Laut Tengah (Yunani dan Siprus) (Khanza, 2010). Tanaman jintan hitam tumbuh liar sampai dengan ketinggian 1100 meter dari permukaan laut. Biasanya ditanam di daerah pegunungan ataupun sengaja ditanam diladang sebagai tanaman rempah-rempah (Savitri, 2008).

Klasifikasi jintan hitam dalam taksonomi tumbuhan adalah sebagai berikut:

Kingdom : *Plantae*
Subkingdom : *Tracheophyta*
Superdivisi : *Spermatophyta*
Divisi : *Magnoliophyta*
Klas : *Magnoliopsida*
Subklas : *Magnoliidae*

Ordo : *Ranunculales*
Famili : *Ranunculaceae*
Genus : *Nigella*
Spesies : *Nigella sativa L.*

(United State Department of Agriculture, 2007)

Sebutan jintan hitam biasa diungkapkan oleh masyarakat Indonesia dan Malaysia. Sementara itu di negara-negara Barat dikenal dengan sebutan *black seed*, *black caraway*, atau *coriander seeds*. Di negara Arab, tanaman ini dikenal sebagai *habbatus sauda* (biji hitam) atau *habbatul baraka* (biji yang diberkati). Jintan hitam memiliki beberapa nama sebutan seperti *shonaiz* (Persia), *cotu siyah* (Turki), dan *kalounji* (Hindi) (Utami, 2013).

2.5.1 Morfologi Jintan Hitam

Tanaman jintan hitam termasuk tanaman berbatang lunak yang dapat dipanen secara musiman setiap setahun, berbatang tegak, berusuk, dan berbulu kasar (Suryo, 2010). Tingginya mencapai 70 cm dengan batang tanaman yang memiliki banyak percabangan (gambar 2.4). Tanaman jintan hitam terdiri dari: (a) daun berbentuk lansep, panjangnya 1,5-2 cm, daun berseling, mempunyai tangkai daun yang kuat, dan berbulu halus. Umumnya, tanaman jintan hitam berdaun hijau. Tetapi kadang-kadang berubah menjadi cokelat kemerahan; (b) Perbungaan di ujung batang atau cabang, tangkai bunga panjang dan berbulu halus, serta berwarna putih kekuningan; (c) buah berbentuk bulat telur hampir mirip seperti kapsul, berwarna hijau keabuan sampai cokelat, berisi 3-4 biji berwarna hitam; (d) bijinya berwarna hitam, kecil berbentuk kerucut menyerupai segitiga, berwarna hitam (gambar 2.5), keras, diameter 2 mm, berbau khas yang kuat, dan memiliki kandungan minyak yang tinggi (Utami, 2013; Tersono, 2008).



Gambar 2.4 Tanaman jintan hitam (Redaksi Trubus, 2010)



Gambar 2.5 Biji jintan hitam (Kamil, 2013)

2.5.2 Kandungan dan Manfaat Jintan Hitam

Bagian tanaman jintan hitam yang digunakan untuk pengobatan adalah bijinya. Biji jintan hitam memiliki kandungan kimia berupa lemak dan minyak nabati (35%), karbohidrat (32%), protein (21%), air (5%), saponin, nigellin, dan kandungan lainnya (Nergiz dan Oetles (1993) dalam Utami, 2013). Penelitian lain menyebutkan

bahwa biji jintan mengandung kristal nigelon dan arganin, asam lemak, karoten, serta 15 macam asam amino, protein, dan karbohidrat. Selain itu juga mengandung bermacam-macam mineral seperti kalsium, sodium, potassium, magnesium, selenium, zat besi, serta vitamin A, B1, B2, B6, C, E, dan niasin (Utami, 2013). Beberapa kandungan aktif utama dari biji jintan hitam yang digunakan pada terapi pengobatan adalah minyak atsiri, minyak lemak, saponin, dan alkaloid (Utami dan Puspaningtyas, 2013). Sumber lain menyebutkan kandungan kimia biji jintan hitam adalah minyak lemak (32%-40%), minyak atsiri (0,4%-0,45%), protein (16%-19,9%), alkaloid, *coumarin*, mineral (1,79%-3,74%), Karbohidrat (33,9 %), *fiber* (5,5%), dan air (6%) (Randhawa dan Al-Ghamdi (2002) dalam Sugindro *et al*, 2008). Sedangkan kandungan utamanya adalah *thymoquinone*, *dithymoquinone*, *thymohydroquinone*, dan *thymol* (Savitri, 2008).

Biji jintan hitam dipercaya memiliki manfaat untuk menghangatkan badan, bersifat karminatif (peluruh kentut), obat sakit perut, radang selaput lendir, dan keracunan. Bahkan beberapa literatur menyebutkan peranan jintan hitam dalam mencegah dan menangani penyakit kanker, diabetes, dan antimikroba (Utami, 2013). Selain itu, jintan hitam memiliki khasiat: analgesik, antihelmintik/ menghancurkan dan mengeluarkan cacing usus (kandungan *thymoquinone*), antibakteri (kandungan flavonoid, alkanoid, dan *thymoquinone*), antiinflamasi, antioksidan, antipiretik, antitumor (kandungan *thymoquinone* dan *alpha-hederin*), *carminative* (menstimulasi pencernaan dan mengeluarkan gas dalam perut), *diaphoretic*, diuretik, *digestive*, *emmenagogue*, *galactagogue*, hipotensi, *immunomodulator*, *laxative*, dan antifungi (kandungan *thymoquinone*) (Goreja, 2003), selain itu terdapat penelitian yang menunjukkan bahwa jintan hitam juga mampu mempengaruhi daya adhesi *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Staphylococcus epidermidis* (Mohammed *et al*, 2011).

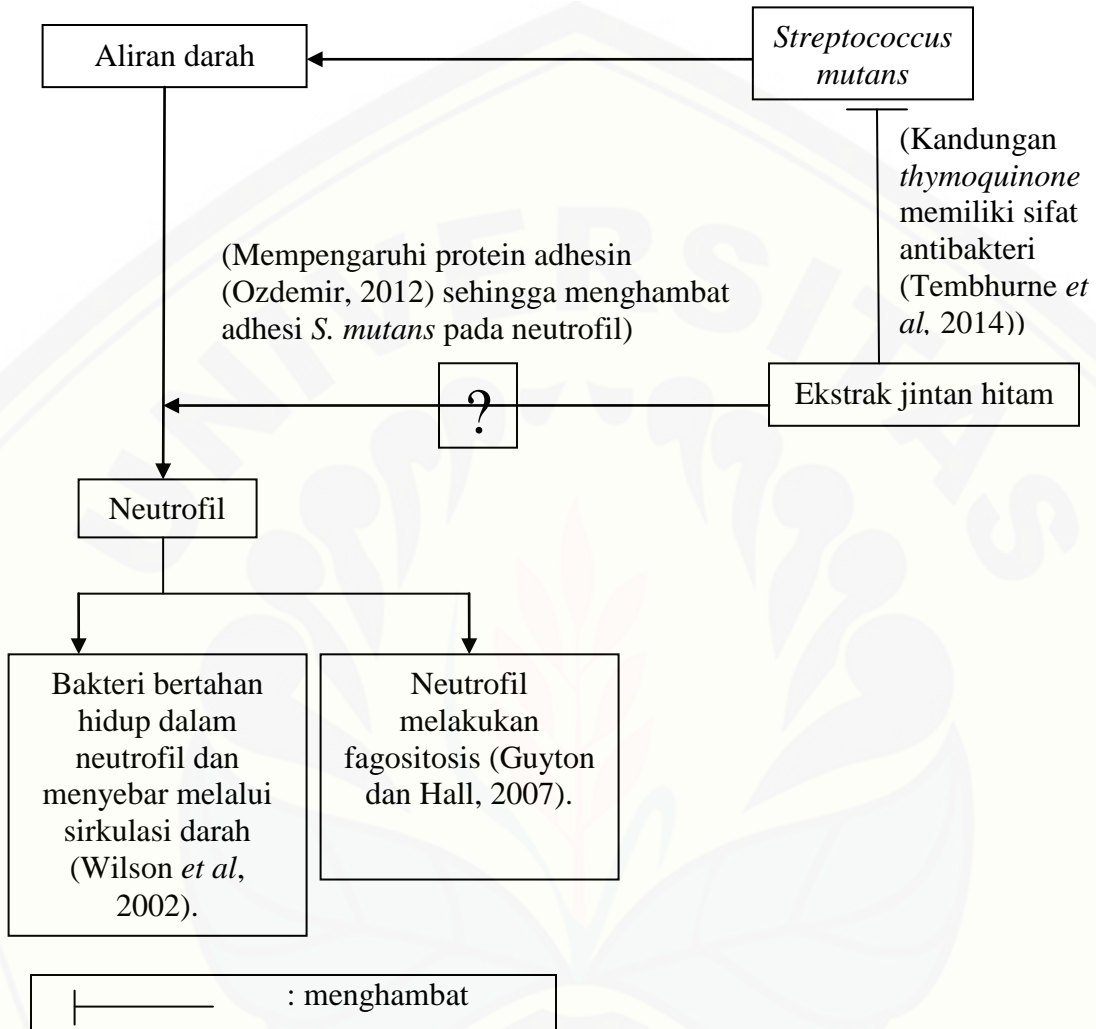
2.5.3 Daya Antiadhesi Jintan Hitam

Jintan hitam memiliki kandungan *thymoquinone*, *thymol*, dan *tannin* yang diduga bersifat antiadhesi. *Thymoquinone* diduga berfungsi sebagai antiadhesi dengan cara pengrusakan *irreversible* terhadap asam amino nukleofilik dalam protein yang memicu ketidakaktifan dan tidak berfungsinya suatu protein. Bagian sel yang diserang adalah permukaan sel adhesin yang terpapar, dinding sel polipeptida dan membran yang berikatan dengan enzim. *Thymoquinone* menyebabkan substrat-substrat yang dibutuhkan tidak dapat dimetabolisme oleh mikroorganisme (Salman dan Sukhla, 2005).

Thymol yang terkandung dalam biji jintan hitam adalah fenol yang diperoleh dari minyak *thyme*. Mekanisme senyawa fenol sebagai zat antiadhesi diduga adalah dengan cara meracuni protoplasma, merusak dan menembus dinding sel, serta mengendapkan protein sel mikroba. Komponen fenol juga dapat mendenaturasi enzim yang bertanggung jawab terhadap germinasi spora atau berpengaruh terhadap asam amino yang terlibat dalam proses germinasi (Rachmawati, 2012).

Selain kandungan *thymoquinone* dan *thymol*, kandungan *tannin* pada biji jintan hitam diduga juga memiliki aktivitas antiadhesi yaitu dengan cara membentuk ikatan kompleks dengan protein sehingga mampu menginaktivasi adhesin bakteri, enzim, dan lain-lain (Ozdemir *et al*, 2012). *Tannin* mempunyai gugus galol dan gugus pirogallol. Kedua gugus tersebut bereaksi dengan protein membran bakteri yang mengakibatkan rusaknya membran sitoplasma bakteri, sehingga fungsi membran sebagai barrier permeabilitas selektif, transpor aktif, dan mengatur komposisi internal sel tersebut rusak, makromolekul dan ion keluar dari sel, kemudian sel rusak dan mengalami kematian (Arici *et al*, 2005).

2.6 Kerangka Konsep



2.7 Hipotesis

Berdasarkan tinjauan pustaka dapat ditarik hipotesis yaitu pemberian ekstrak biji jintan hitam dapat menghambat adhesi bakteri *S. mutans* pada neutrofil.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah eksperimental laboratoris *in vitro*; dipilih karena pada tiap sampel perlakuan terkendali, terukur dan pengaruh perlakuan dipercaya (Notoadmodjo, 2010).

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini yaitu *post test only control group design* yang merupakan pengukuran terhadap variabel yang diteliti setelah diberikan perlakuan kemudian dibandingkan dengan kelompok kontrol (Notoadmodjo, 2010).

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

3.3.1 Waktu Penelitian

Pelaksanaan penelitian dilakukan pada bulan Januari tahun 2015.

3.3.2 Tempat Penelitian

- a. Laboratorium Mikrobiologi Bagian Biomedik Dental Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember untuk identifikasi dan pembuatan suspensi *Streptococcus mutans*.
- b. Laboratorium *Bioscience*, Rumah Sakit Gigi dan Mulut Universitas Jember untuk pembuatan ekstrak biji jintan hitam, isolasi neutrofil, dan uji indeks adhesi neutrofil.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak biji jintan hitam konsentrasi 100%.

3.4.2 Variabel terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah adhesi bakteri *S. mutans* pada neutrofil. Indeks adhesi yaitu jumlah rata-rata bakteri yang menempel pada setiap neutrofil, dengan menghitung sebanyak 100 neutrofil.

3.4.3 Variabel Terkendali

a. Kriteria subyek penelitian

Kriteria subyek penelitian adalah laki-laki dewasa, sehat, tidak memiliki riwayat penyakit sistemik, kelainan darah, dan kebiasaan merokok, serta bersedia mengisi *informed consent*.

b. Teknik isolasi neutrofil

Isolasi neutrofil dengan menggunakan teknik *gradient density*.

c. Suspensi *S. mutans*

Suspensi *S. mutans* dengan konsentrasi 0,5 McFarland.

d. Kriteria biji jintan hitam

Biji jintan hitam yang digunakan adalah biji yang kering berwarna hitam.

3.5 Definisi Operasional

3.5.1 Ekstrak Biji Jintan Hitam

Ekstrak biji jintan hitam adalah biji jintan hitam (*Nigella sativa L.*) yang di ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi yaitu proses pengekstrakan simplisia yang menggunakan pelarut yaitu etanol 70% dengan tiga kali pengocokan atau pengadukan selama 10 menit pada temperatur ruangan kamar. Hasil ekstraksi tersebut yang merupakan konsentrasi 100%.

3.5.2 Neutrofil

Neutrofil adalah leukosit granular matur yang merupakan polimorfonuklear (inti selnya memiliki tiga hingga lima lobus yang dihubungkan oleh benang kromatin tipis, dan sitoplasma mengandung granula halus) dengan diameter mencapai 9-12 μm . Neutrofil diisolasi dengan menggunakan teknik *gradient density*.

3.5.3 *Streptococcus mutans*

S. mutans merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat (kokus) yang membelah dalam satu bidang dan tidak mudah lepas sehingga cenderung tumbuh dalam formasi rantai yang non motil, mempunyai diameter 0,5-2,0 μm , berpasangan, berantai pendek, sedang dan panjang serta non kapsul. Biakan murni *S. mutans* didapat dari Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya kemudian dilakukan pembuatan suspensi *S. mutans* dengan konsentrasi 0,5 McFarland.

3.5.4 Adhesi

Adhesi yaitu proses melekatnya bakteri pada permukaan sel inang, dalam penelitian ini yaitu neutrofil. Adhesi *S. mutans* pada neutrofil dihitung menggunakan indeks adhesi yaitu jumlah rata-rata bakteri yang menempel pada setiap neutrofil, dengan menghitung sebanyak 100 neutrofil.

3.6 Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan sampel berupa isolat neutrofil yang diambil dari darah subyek penelitian yang memenuhi kriteria (Rakhmawati, 2012).

3.6.1 Besar Sampel

Besar sampel yang digunakan untuk tiap kelompok dalam penelitian ini dihitung dengan menggunakan rumus dari Daniel (2005), yaitu:

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

Keterangan:

n = besar sampel tiap kelompok

σ = standart deviasi sampel

d = kesalahan yang masih dapat ditolerir, diasumsikan $\sigma = d$

z = nilai pada tingkat kesalahan tertentu, jika $\alpha = 0,05$ maka $z = 1.96$

Penghitungannya adalah sebagai berikut:

$$\begin{aligned} n &= \frac{(1,96)^2 \sigma^2}{d^2} \\ &= (1,96)^2 \\ &= 3,84 \\ &= 4 \end{aligned}$$

Dari hasil penghitungan diatas, diperoleh besar sampel minimal yang digunakan dalam penelitian ini adalah 4 sampel untuk setiap kelompok.

3.6.2 Penggolongan Sampel Penelitian

Penggolongan sampel penelitian terdiri dari 2 kelompok yaitu kelompok I (kontrol) berupa isolat neutrofil yang dipapar bakteri *S. mutans* dan tidak diinkubasi ekstrak biji jintan hitam, dan kelompok II berupa isolat neutrofil yang dipapar bakteri *S. mutans* dan diinkubasi ekstrak biji jintan hitam dengan konsentrasi 100%.

3.7 Alat dan Bahan Penelitian

3.7.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah : bunsen, tabung reaksi, tabung falcon (Thermoscientific), *centrifuge* (Hermle, Jerman), eppendorf *centrifuge* (Jerman), mikroskop *inverted* (Olympus 1x51, Jerman), inkubator (Labtech, USA), *tourniquet*, *syringe*, vortex (Labinco L46, China), *coverglass*/ kaca penutup, pipet

mikro/ *blue and yellow tip* (Human, Jerman), *haemocytometer* (Assistant, Jerman), *rotary evaporator* (Heidolph, Jerman), *petridish*, *densicheck* (Biomerieux, Jerman), *laminar flow Cabinet* (Dwyer, USA), *becker glass* (Duran, Jerman), tabung elenmeyer (Duran, Jerman), neraca (Baeco, Jerman), *desicator* (Duran, Jerman), *autoclave*, oven, mikroskop cahaya, *object glass*, rak *object glass*, corong Buchner, kertas saring Whatman, *water bath*, *microplate*, dan mikropipet.

3.7.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : biji jintan hitam (Aneka Kimia, Malang), *S. mutans* (Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga Surabaya), aquades steril, darah vena perifer, heparin, *ficoll hypaque gradient*, etanol, minyak emersi, *Hank's Balance Salt Solution/ HBSS* (Sigma), dextran 6%, alkohol (OneMed), minyak emersi, *methanol absolute*, *Rosewell Park Memorial Institute/ RPMI* (Gibco), *medium complete/ M199* (Gibco), dan etanol 70%.

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Uji Identifikasi *Streptococcus mutans* dan Biji Jintan Hitam

Identifikasi *S. mutans* dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Bagian Biomedik Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Identifikasi biji jintan hitam dilakukan di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi (*Purwodadi Botanic Garden*) Pasuruan.

3.8.2 Pembuatan Ekstrak Biji Jintan Hitam

Biji jintan hitam kering dihaluskan dengan blender kemudian disaring sehingga didapatkan serbuk biji jintan hitam. Lalu serbuk biji jintan hitam seberat 200 gram ditambahkan etanol 70% sebanyak 2 liter dan diaduk selama 10 menit diamkan 24 jam, proses ini diulang 2 kali. Setelah diaduk selama 10 menit, dipisahkan ampas dan filtratnya dengan melakukan penyaringan menggunakan kertas saring Whatman sebanyak 2 kali. Filtrat yang diperoleh diuapkan dengan *vacuum*

rotary evaporator, pemanas *waterbath* suhu 70°C. Setelah proses tersebut selesai maka didapatkan ekstrak biji jintan hitam dengan konsentrasi 100%.

3.8.3 Pembuatan Suspensi *Streptococcus mutans*

Sebelum dilakukan pembuatan suspensi, disiapkan media BHI-B dengan cara 0,37 gram BHI-B dan 10 cc aquades dihomogenkan pada tabung elenmeyer, lalu ditutup dengan kapas dan disterilkan pada *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. BHI-B yang sudah steril ditambahkan vitamin K 1 µl hemin dan 50 µl ekstrak *yeast*, kemudian dihomogenkan. Dilakukan uji sterilisasi media BHI-B dengan cara dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Setelah steril, dibuat suspensi *S. mutans* dengan cara memasukkan 2 ml suspensi BHI-B ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 ose *S. mutans* lalu dicampur. Perlakuan ini dilakukan dengan melewatkannya diatas bunsen yang sedang menyala. Suspensi lalu diukur dengan *densicheck* hingga didapatkan densitas 0,5 McFarland. Setelah itu, suspensi diinkubasi dalam inkubator selama 2x24 jam pada suhu 37°C.

3.8.4 Prosedur Isolasi Neutrofil

Darah diambil dari vena perifer subyek penelitian sebanyak 6 cc lalu dicampurkan dengan antikoagulan (heparin) dan dibagi menjadi dua tabung dengan jumlah masing-masing 3 cc. Menyiapkan 3 ml larutan *histopaque* dalam tabung falcon, lalu ditambahkan 3 ml larutan ficoll dengan cara dialirkan melalui dinding falcon dengan sudut 45°. Darah dimasukkan ke dalam tabung falcon secara hati-hati agar larutan ficoll tidak pecah. Selanjutnya dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 1900 rpm selama 30 menit pada suhu 18°-26°C, sehingga akan terbentuk 6 lapisan dalam tabung falcon yang tersusun dari bagian atas ke bawah adalah plasma, monosit, larutan ficoll, granulosit, larutan *histopaque*, dan eritrosit.

Lapisan granulosit diambil untuk mendapatkan sel neutrofil, lalu dimasukkan kedalam tabung falcon lain. Lapisan granulosit tersebut ditambahkan 1000 µl HBSS, kemudian dilakukan *pipetting* sampai homogen secara hati-hati. Sentrifugasi dengan

kecepatan 1700 rpm selama 10 menit pada suhu 18°-26°C sehingga akan terbentuk endapan pada dasar tabung falcon. Lapisan yang ada di bagian atas (supernatan) dibuang, sementara endapan yang tersisa ditambahkan 1000 µl HBSS, kemudian dilakukan *pipetting* sampai homogen secara hati-hati.

Setelah dilakukan *pipetting*, dilakukan penambahan antijamur yaitu *fungizone* sebanyak 5 µl dan antibakteri yaitu *penicillin-atreptomycin solution stabilized* sebanyak 20 µl untuk 1000 µl larutan media sel agar terhindar dari kontaminasi mikroorganisme, lalu dilakukan *pipetting* kembali. Diambil 50 µl larutan tersebut, kemudian diamati menggunakan mikroskop *inverted* perbesaran 400 kali untuk melihat populasi sel setiap lapang pandang. Apabila populasi sel masih terlalu padat, maka ditambahkan lagi HBSS sampai didapatkan populasi sel yang diinginkan.

3.8.5 Uji Adhesi

Langkah pertama adalah menyiapkan 1 buah *microplate* 12 well dan 12 *coverslip* yang telah steril. Masing-masing *coverslip* diletakkan ke dalam *microplate* dan diberi tanda sesuai kelompok. Suspensi neutrofil dilapiskan di atas setiap *coverslip*, masing-masing sebanyak 100 µl dan diinkubasi dalam *shaker incubator* selama 15 menit pada suhu 37°C, hal ini bertujuan untuk melekatkan neutrofil pada *coverslip*. Setelah itu, neutrofil diresuspensi dengan 1000 µl RPMI dengan cara dialirkan melalui dinding *microplate* dan ditambahkan *penicillin-streptomycin* sebanyak 20 µl dan *fungizone* sebanyak 5 µl, kemudian dilakukan *pipetting*. Selanjutnya neutrofil diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C, hingga neutrofil makin melekat pada *coverslip*.

Larutan RPMI diambil, lalu digantikan dengan *media complete* (M199) sebanyak 1000 µl, kemudian diamati menggunakan mikroskop *inverted* perbesaran 400 kali untuk mengetahui adanya kontaminasi oleh mikroorganisme. Jika terdapat kontaminasi, maka ditambahkan lagi *penicillin-streptomycin* sebanyak 20 µl dan *fungizone* sebanyak 5 µl pada sampel tersebut dan dilakukan *pipetting*. Namun, apabila sudah tidak ada kontaminasi, ditambahkan ekstrak biji jintan hitam yang telah

diinfiltrasi sebanyak 200 μ l, sementara pada kelompok kontrol tidak diberi ekstrak. Kemudian diinkubasi selama 3 jam pada suhu 37°C, dilakukan pengamatan setiap jamnya. Setelah diinkubasi, suspensi media dibuang, digantikan dengan M199 sebanyak 1000 μ l. pada masing-masing sampel ditambahkan 200 μ l suspensi *S. mutans*.

Inkubasi selama 2,5 jam pada suhu 37°C dan 5% CO₂ dengan diamati perubahan setiap jamnya. Setelah diinkubasi selama 2,5 jam, buang suspensi media dengan menggunakan mikropipet. Cuci dengan HBSS sebanyak 1 kali, suspensi difiksasi dengan *methanol absolute* selama 3 menit. Selanjutnya *methanol* dibuang menggunakan mikropipet dan dikeringkan dengan posisi miring.

Selanjutnya dilakukan pengecatan Giemsa. Cat Giemsa dimasukkan ke dalam masing-masing sampel, dan dibiarkan selama 7 menit. Setelah 7 menit cat Giemsa dibuang serta dibilas dengan air mengalir. Setelah kering, dilakukan pengamatan dengan mikroskop cahaya perbesaran 1000 kali untuk melakukan perhitungan indeks adhesi.

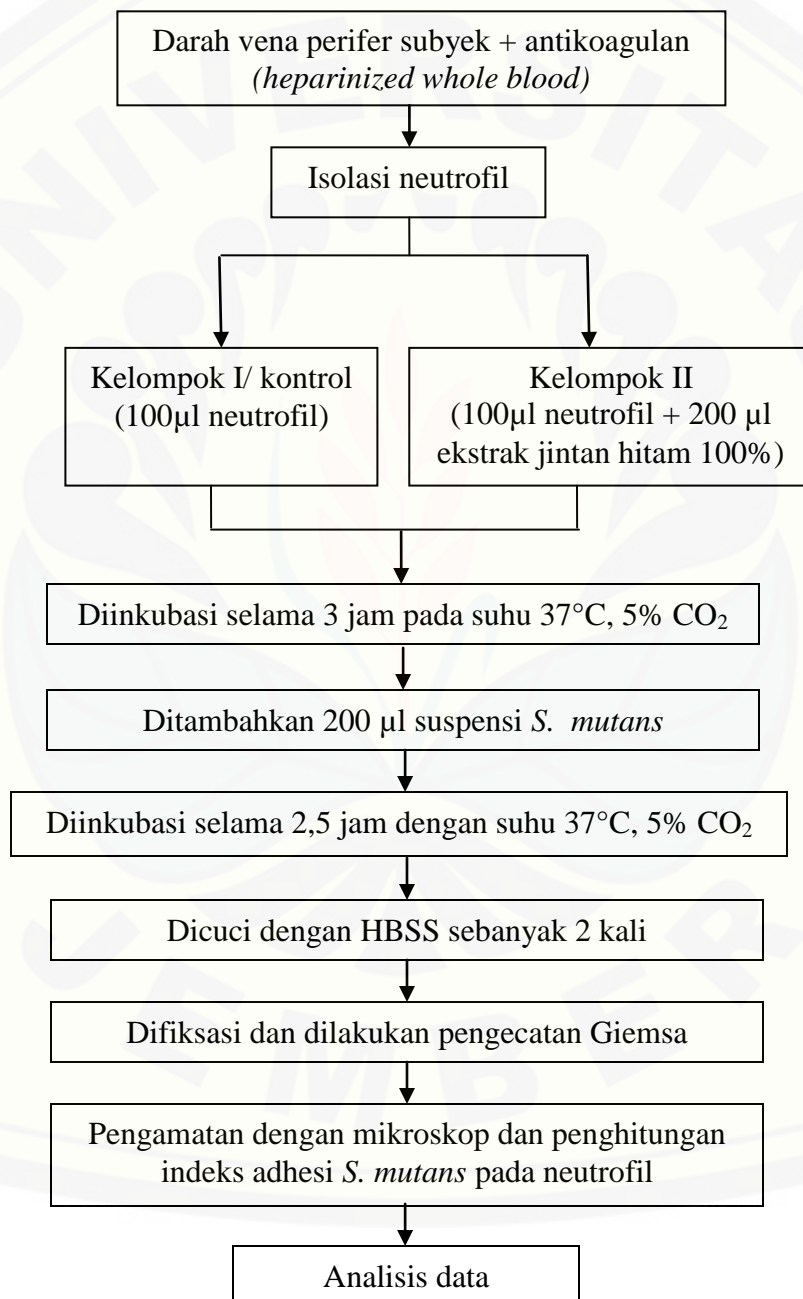
Indeks adhesi didapatkan dengan menghitung jumlah rata-rata bakteri yang menempel pada setiap neutrofil, dengan memeriksa 100 neutrofil (Martino *et al*, 1995). Penghitungan dilakukan dengan arah membentuk huruf Z yaitu dengan melakukan perhitungan menyamping dari kiri ke kanan dilanjutkan ke bagian bawah kiri yang belum dilakukan penghitungan dan begitu seterusnya.

3.9 Analisis Data

Analisis data yang pertama kali dilakukan yaitu uji normalitas data dengan menggunakan uji Saphiro-Wilk karena sampel kurang dari 50. Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui apakah distribusi data yang ada pada masing-masing variabel mengikuti kurva distribusi normal atau tidak. Apabila data tersebut terdistribusi normal, maka dilanjutkan dengan melakukan uji statistik parametrik, yaitu *independent t-test*. Uji ini bertujuan untuk mengetahui adanya perbedaan antar

kelompok. Semua uji dilakukan dengan menggunakan tingkat kemaknaan atau signifikansi 95% ($\alpha=0,05$).

3.10 Alur Penelitian

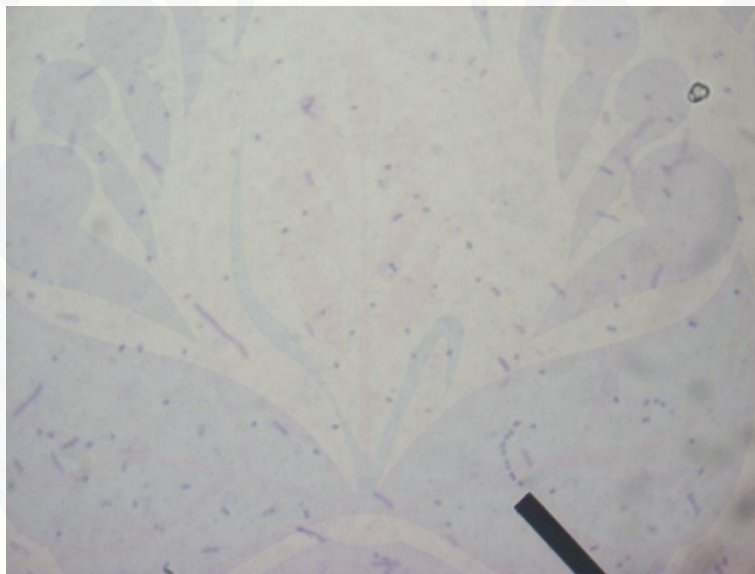


BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

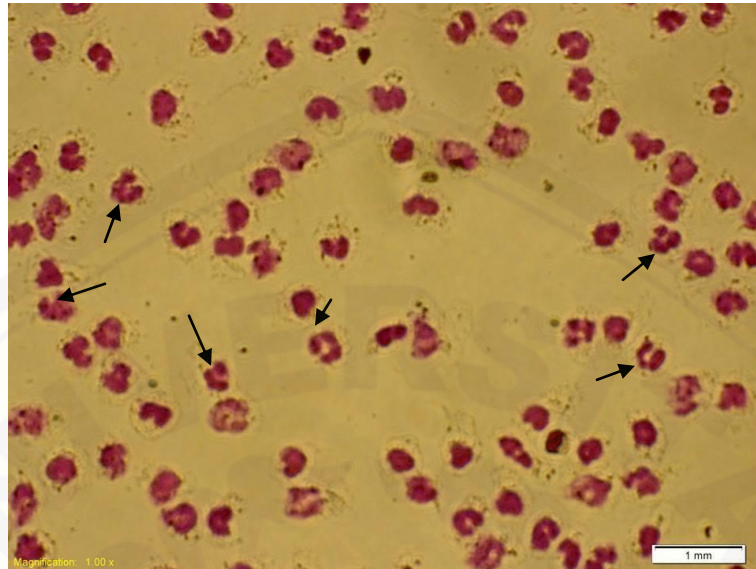
4.1.1 Hasil Identifikasi *Streptococcus mutans* dan Isolasi Neutrofil

Hasil subkultur yang dilakukan uji identifikasi bakteri menunjukkan gambaran bakteri berbentuk kokus berwarna biru yang homogen (tanda panah), artinya subkultur hanya mengandung bakteri kokus Gram positif dengan susunan berantai yang murni tidak terkontaminasi dengan mikroorganisme lain (gambar 4.2).



Gambar 4.1 Hasil Identifikasi *S. mutans*. Ujung petunjuk menunjukkan *S. mutans* berbentuk kokus dengan susunan berantai dan berwarna biru pada pemeriksaan dengan mikroskop cahaya (pencetakan Gram, pembesaran 1000 kali).

Preparat hasil isolasi neutrofil yang dilakukan pengamatan dibawah mikroskop *inverted* dengan pembesaran 400 kali (gambar 4.1) menunjukkan neutrofil tidak tercampur dengan sel darah lainnya.



Gambar 4.2 Hasil isolasi neutrofil. Tampak neutrofil memiliki nukleus dengan dua hingga lima lobus yang berwarna merah muda keunguan. Pengamatan dengan menggunakan mikroskop *inverted* (pencetakan Giemsa, pembesaran 400 kali).

4.1.2 Hasil Uji Adhesi

Hasil rata-rata indeks adhesi *S. mutans* pada neutrofil menunjukkan rata-rata indeks adhesi kelompok kontrol (kelompok I) adalah 1,46 sedangkan pada kelompok perlakuan dengan ekstrak biji jintan hitam 100% (kelompok II) menunjukkan indeks adhesi yang lebih kecil daripada kelompok kontrol yaitu sebesar 0,52 (tabel 4.1 dan gambar 4.3).

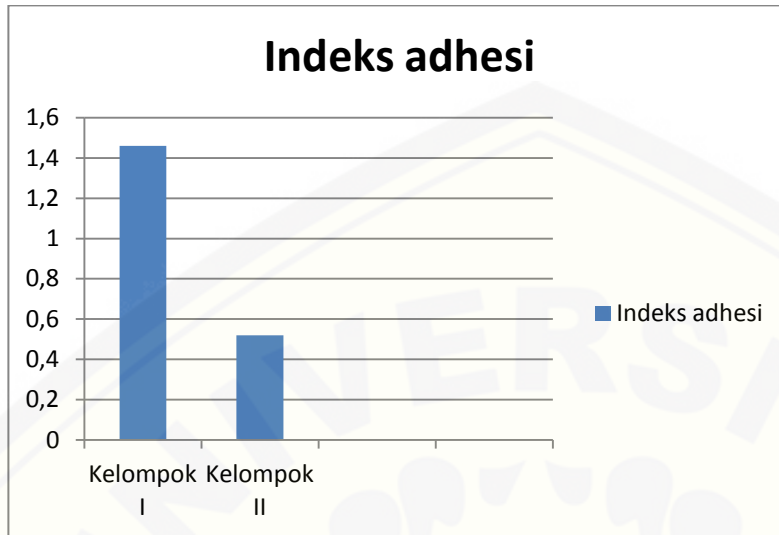
Tabel 4.1 Rata-rata indeks adhesi *S. mutans* pada neutrofil

| Kelompok | Indeks adhesi \pm Standart deviasi |
|----------------------|--------------------------------------|
| Kelompok I (kontrol) | 1,46 \pm 0,560 |
| Kelompok II | 0,52 \pm 0,164 |

Keterangan:

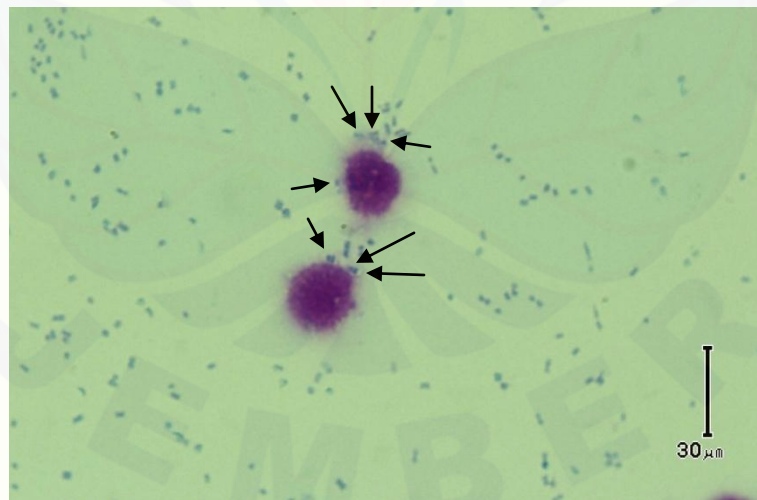
Kelompok I (kontrol) = Isolat neutrofil + *S. mutans*

Kelompok II = Isolat neutrofil + ekstrak biji jintan hitam 100% + *S. mutans*

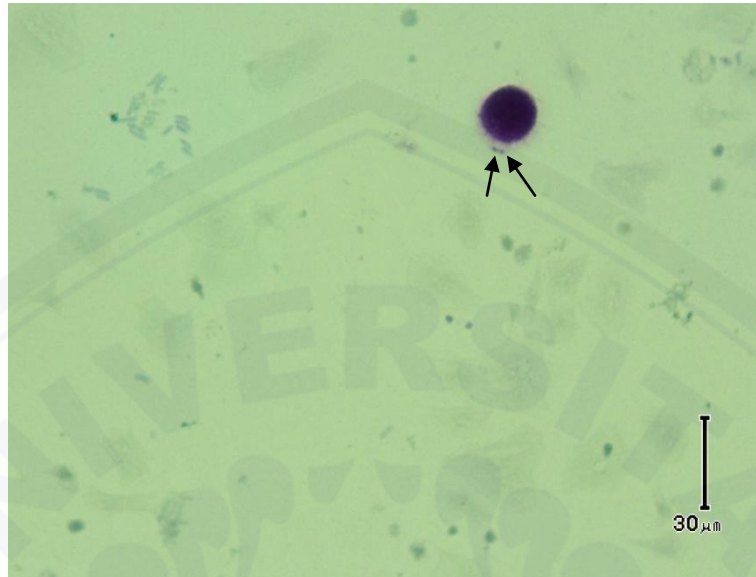


Gambar 4.3 Diagram batang indeks adhesi *S. mutans* pada neutrofil

Secara mikroskopis, adhesi *S. mutans* terhadap neutrofil pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan ekstrak biji jintan hitam 100% dapat dilihat pada gambar 4.4 dan gambar 4.5.



Gambar 4.4 Hasil penelitian pada kelompok I (kontrol). Tanda panah menunjukkan adhesi *S. mutans* pada neutrofil (pengecatan Giemsa, pembesaran 1000 kali).



Gambar 4.5 Hasil penelitian pada kelompok II. Tanda panah menunjukkan adhesi *S. mutans* pada neutrofil (pengecatan Giemsa, pembesaran 1000 kali).

4.2 Hasil Analisis Data

4.2.1 Uji Normalitas dan Uji Homogenitas

Hasil uji normalitas data dengan menggunakan uji Saphiro-Wilk (Lampiran H) menunjukkan bahwa pada kelompok I (kontrol) dan kelompok II nilai signifikansinya adalah 0,938 dan 0,291 ($p > 0,05$) sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa data pada penelitian tersebut terdistribusi normal.

Hasil uji homogenitas data dengan menggunakan uji Levene (Lampiran H) didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,087 ($p > 0,05$), maka dapat disimpulkan bahwa data tersebar homogen. Setelah melakukan uji normalitas dan uji homogenitas dilanjutkan dengan uji statistik parametrik *independent t-test*.

4.2.2 Uji Perbedaan

Hasil *independent t-test* (Lampiran H), didapatkan nilai signifikansi 0,018 ($p < 0,05$) yang artinya perbedaan indeks adhesi antar kelompok adalah signifikan yaitu jumlah *S. mutans* yang menempel pada neutrofil yang dipapar ekstrak biji jintan hitam 100% lebih kecil daripada kelompok kontrol. Jadi, dapat dilihat bahwa ekstrak

biji jintan hitam mampu mempengaruhi yaitu menghambat adhesi *S. mutans* pada neutrofil.

4.3 Pembahasan

Pada penelitian ini, dapat dilihat baik pada kelompok kontrol maupun pada kelompok perlakuan bahwa *S. mutans* berhasil melakukan adhesi pada neutrofil. Adanya *S. mutans* yang berhasil melakukan adhesi pada neutrofil menunjukkan bahwa bakteri mulai melakukan upaya untuk menginfeksi sel inang sehingga dapat membuat sel inang menjadi mati (Brooks *et al*, 2007).

Adhesi bakteri pada permukaan jaringan atau sel inang dapat terjadi apabila terdapat dua komponen, yaitu reseptor dan adhesin. Reseptor merupakan komponen yang berupa residu peptida dan karbohidrat spesifik pada permukaan sel. Sedangkan adhesin bakteri merupakan komponen makromolekul yang terdapat pada permukaan sel bakteri yang berinteraksi secara spesifik dengan reseptor sel inang, seperti *fimbriae*, *outer membrane protein*, dan kapsul polisakarida (Todar, 2008).

Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol, *S. mutans* yang berhasil melakukan adhesi pada neutrofil lebih banyak dibandingkan pada kelompok yang diinkubasi ekstrak biji jintan hitam 100%. Hal ini berarti bahwa ekstrak biji jintan hitam mampu menghambat adhesi *S. mutans* pada neutrofil. Penulis menduga hal ini terjadi karena ekstrak biji jintan hitam melapisi membran neutrofil (yang terlihat dari lebih besarnya ukuran neutrofil) sehingga neutrofil menjadi terisolasi. Selanjutnya adhesin bakteri tidak dapat berikatan dengan reseptor neutrofil atau dapat dikatakan adhesi *S. mutans* pada neutrofil menjadi terhambat.

Penulis juga menduga penurunan adhesi *S. mutans* pada neutrofil terjadi karena adanya kandungan senyawa kimia pada ekstrak biji jintan hitam. Kandungan bahan kimia yang secara spesifik merusak atau mengisolasi adhesin bakteri maupun reseptor sel inang dapat menghambat adhesi bakteri pada sel neutrofil (Todar dalam Santosaningsih, 2003). Penulis menduga kandungan senyawa kimia pada ekstrak biji

jintan hitam yang berpengaruh terhadap adhesi *S. mutans* pada neutrofil yaitu *thymoquinone*, *tannin*, dan alkaloid (Savitri, 2008).

Kandungan *thymoquinone* yang terdapat pada ekstrak biji jintan hitam diduga dapat mempengaruhi adhesi dengan melakukan pengrusakan secara *irreversible* terhadap asam amino nukleofilik dalam protein sel yang dapat memicu ketidakaktifan dan tidak berfungsinya suatu protein. Bagian sel yang diserang adalah permukaan sel adhesin yang terpapar, dinding sel polipeptida dan membran yang berikatan dengan enzim; sehingga adhesi bakteri pada neutrofil menjadi terhambat (Salman *et al*, 2005).

Kandungan *tannin* pada biji jintan hitam diduga juga memiliki aktivitas antiadhesi yaitu dengan cara membentuk ikatan kompleks dengan protein sehingga mampu menginaktivasi adhesin bakteri, enzim, dan lain-lain (Ozdemir *et al*, 2012). *Tannin* memiliki sifat cenderung mengikat protein, reaksinya dapat membentuk ikatan kompleks protein-*tannin* yang tidak larut dalam konsentrasi dan pH tertentu. Selain itu, *tannin* juga dapat membentuk ikatan yang stabil dengan senyawa protein (McRae dan Kennedy, 2011; Widyasari, 2007; Horvath, 1981). Kemampuan *tannin* tersebut diduga dapat mengikat reseptor pada neutrofil, sehingga adhesin yang terdapat pada bakteri tidak dapat melakukan adhesi pada reseptor neutrofil maka adhesi bakteri pada neutrofil menjadi terhambat (Sung *et al*, 2012; O'Mahony *et al*, 2005).

Tannin juga diduga dapat menghambat adhesi *S. mutans* pada neutrofil dengan cara menginaktivasi adhesin mikroba melalui kemampuan *tannin* yang dapat berikatan secara khusus pada residu gula, polisakarida, glikoprotein atau glikolipid, seperti adhesin yang terdapat pada membran sel *S. mutans*. Dengan demikian apabila terjadi reaksi tersebut maka akan terjadi pemblokiran adhesin bakteri menuju reseptor pada sel inang sehingga adhesi bakteri pada neutrofil menjadi terhambat (Sung *et al*, 2012; O'Mahony *et al*, 2005).

Selain kandungan *thymoquinone* dan *tannin*, biji jintan hitam juga memiliki kandungan alkaloid yang diduga dapat menghambat adhesi *S. mutans* pada neutrofil

yaitu dengan mengubah struktur tersier protein pada permukaan bakteri. Protein atau senyawa tersebut menyisip pada sisi hidrofobik (menolak air) protein sehingga mengakibatkan penurunan hidrofobisitas sel bakteri yang berinteraksi dengan *fimbriae* dan mengakibatkan penggumpalan protein yang ada pada permukaan bakteri sehingga protein ini kehilangan struktur hidrofobiknya dan menyebabkan hidrofobisitas bakteri menjadi menurun. Interaksi yang terlibat dalam adhesin sebagian besar disebabkan oleh struktur permukaan yang hidrofobik (Doyle, 1990; Parhusip, 2004). Interaksi hidrofobik, yaitu perlekatan antara partikel hidrofobik pada membran sel bakteri dengan membran sel inang. Adanya penurunan hidrofobisitas inilah yang mencegah terjadinya interaksi hidrofobik dari permukaan bakteri dengan sel inang sehingga adhesi bakteri pada sel inang menjadi terhambat (Parhusip, 2004).

Ekstrak biji jintan hitam juga mengandung senyawa yang memiliki aktifitas sebagai antibakteri. Adanya kandungan yang bersifat antibakteri ini diduga dapat menurunkan adhesi *S. mutans* pada neutrofil yang disebabkan perkembangan *S. mutans* menjadi terhambat dan *S. mutans* mati sebelum melakukan adhesi pada neutrofil. Senyawa tersebut yang memiliki efek antibakteri antara lain *thymol*, *tannin*, dan flavonoid. *Thymol* yang terkandung dalam biji jintan hitam adalah fenol yang diperoleh dari minyak *thyme*. Mekanisme senyawa fenol sebagai zat antibakteri adalah dengan cara meracuni protoplasma, merusak dan menembus dinding sel, serta mengendapkan protein sel mikroba. Komponen fenol juga dapat mendenaturasi enzim yang bertanggung jawab terhadap germinasi spora atau berpengaruh terhadap asam amino yang terlibat dalam proses germinasi (Rachmawati, 2012).

Selain kandungan *thymol*, *tannin* juga memiliki efek antibakteri yaitu dengan mengaktifasi adhesin mikroba dan menginaktivasi enzim hidrolitik seperti karbohidrolase dan protease, serta menghambat enzim pada protein transport terselubung (Sung *et al*, 2012). Flavonoid yang terkandung dalam ekstrak biji jintan hitam juga memiliki efek antibakteri dimana flavonoid yang bersifat lipofilik akan merusak membran yang akan mengganggu metabolisme bakteri dan alkaloid juga dapat mengganggu terbentuknya komponen penyusun petidoglikan yang

menyebabkan dinding sel tidak terbentuk secara utuh pada bakteri dan menyebabkan kematian pada bakteri (Robinson, 1995).

Penelitian yang telah dilakukan menunjukkan hasil yang sesuai hipotesis bahwa ekstrak biji jintan hitam mampu mempengaruhi adhesi *S. mutans* pada neutrofil yaitu ekstrak biji jintan hitam mampu menghambat adhesi *S. mutans* pada neutrofil. Meskipun demikian masih diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui secara pasti zat aktif dalam ekstrak biji jintan hitam dan mekanismenya dalam menghambat adhesi *S. mutans* pada neutrofil.



BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa pemberian ekstrak biji jintan hitam mempunyai pengaruh yaitu dapat menghambat adhesi *S. mutans* pada neutrofil.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini, maka ada beberapa saran yang dapat diajukan yaitu:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui konsentrasi ekstrak jintan hitam yang paling efektif untuk menghambat adhesi *S. mutans* pada neutrofil.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh sifat antibakteri yang dimiliki ekstrak jintan hitam berkaitan dengan sifat antiadhesi yang dimiliki. Penambahan kelompok kontrol (*S. mutans* + ekstrak jintan hitam) diperlukan untuk melihat apakah penurunan indeks adhesi pada neutrofil benar akibat sifat antiadhesi bukan antibakteri.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui zat aktif yang terkandung dalam ekstrak biji jintan hitam dan mekanismenya dalam menghambat adhesi *S. mutans* pada neutrofil.
4. Penelitian ini dapat digunakan sebagai acuan penelitian selanjutnya dalam mengeksplorasi ekstrak biji jintan hitam sebagai antiadhesi.
5. Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut mengenai aplikasi ekstrak biji jintan hitam sebagai pengembangan terapi dalam bidang kedokteran gigi salah satunya sebagai penghambat terjadinya infeksi *S. mutans* di dalam tubuh.

DAFTAR BACAAN

- Arici, M, Sagdic dan U Gecgel, 2005. Antibacteria effect of *Nigella sativa* oil. *Grasary Acutes*. Vol. 56 (4): 259-262.
- Brooks, G. F., Janet S. B., dan Stephen A. M. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick, dan Adenberg*. Alih bahasa E. Mudihardi, Kuntaman, dan Wasito. Jakarta: EGC.
- Cappucino, James, dan Natalie. 2001. *Microbiology: A Laboratory Manual. Sixth Edition*. San Fransisco: Benjamin Cummings.
- Daniel, W. W. 2005. *Biostatistics: A Foundation for Analysis in the Health Sciences. Eight Edition*. Hoboken NJ: Georgia Wiley.
- Doyle, Rosenberg. 1990. *Microbial Cell Surface Hidrophobicity*. New York: Soc Microbial.
- Dorland, Newman W. A. 2010. *Kamus Kedokteran Dorland. Edisi 29*. Alih bahasa Retna Neary Elseria dkk. Jakarta: EGC.
- Eroschenko, Viktor P. 2010. *Atlas Histologi diFiore: dengan Korelasi Fungsional. Edisi 11*. Alih bahasa Brahm U Pendit. Jakarta: EGC.
- Guyton, A. C. dan Hall, J. E. 2007. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Edisi 11*. Alih bahasa Irawati dkk. Jakarta: EGC.
- Goreja, W. G. 2003. *Blacksedd: Nature's Miracle Remedy*. New York: Amazing Herbs Press.
- Hardie, J. M. 1986. *The Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Volume 2*. Baltimore, Maryland: Williams & Wilkins.
- Hoffbrand, A. V. dan Pettit J. E., 1996. *Kapita Selekt : Hematologi (Essential Haematology). Edisi II*. Alih bahasa Darmawan I. Jakarta: EGC.
- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T. dan Williams, S. T. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Nineth Edition*. Philadelphia, USA: Lippincot Williams & Wilkins.

- Horvath, P. J. 1981. *The Nutritional and Ecological Significance of Acer-Tannins and Related Polyphenols*. MSc Thesis. New York: Cornell University.
- John, H. 2004. *Kamus Ringkas Kedokteran STEDMAN untuk Profesi Kesehatan. Edisi 4*. Alih bahasa Huriawati Hartanto dan Tiara Mahatma Nisa. Jakarta: EGC.
- Khanza, Abu. 2010. *Fit and Fresh through Habbatussauda*. Jakarta: Cicero Publishing.
- Kumar, V. Cotran R. S. dan Robbins, S. L. 2007. *Buku Ajar Patologi. Volume I. Edisi 7*. Alih bahasa Brahm U Pedit. Jakarta: EGC.
- Kurt J. I. 1999. *Harrison Prinsip-prinsip Ilmu Penyakit Dalam. Edisi 13*. Alih bahasa Ahmad H. Asdie. Jakarta: EGC.
- Lehner, T. 1992. *Immunology of Oral Disease. Third Edition*. Oxford: Blackwell Sci.
- Leeson, C. R., Thomas. S. L., dan Paparo Anthony A. 1996. *Histologi Dasar*. Alih bahasa Tambajong. Jakarta: EGC.
- Liao, M. K. dan MacWilliams, M. P. 2006. Luria Broth (LB) and Luria Agar (LA) Media and Their Uses: *Streptococcus mutans*. <http://202.195.144.50/ASM/085-Introduce.htm>. [7 November 2014].
- Martino, P. D. Bertin, Y. Girardeu, J. P. Livrelli, V. Jolly. dan B. Daefeuille-Michaud, A. 1995. Molecular Characterization and Adhesive Properties of CF29K, an Adhesin of *Klebsiella pneumonia* Strain Involved in Nosocomial Infection. *Infection and Immunity*. Vol. 63 (11): 4336-4344.
- McRae, M. J., dan Kennedy, J. A. 2011. Wine and Grape Tannin Interactions with Salivary Proteins and Their Impact on Astringency. *A Review of Current Research Molecules*. Vol. 16 (3): 2348-2364.
- Mohamed, Shaaban, Sobhy, El Silk, dan Mona. 2011. Efficiency of Some Plant Extracts, Carbohydrates and Inorganic Salts as Anti-Adhesion Agents Against the Adhesion of *Staphylococcus* Strains to Hep-2 Cells. *Life Science Journal*. Vol. 8 (4): 1172-1182.
- Mubarokah, S. N., I Ketut G. M., dan Sumarno. 2009. 49.4 Kda Outer membrane Protein of *Porphyromonas gingivalis* is a Hemagglutinin and Adhesin Protein to Neutrophil. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. Vol. 25 (2): 48-59

- Notoadmodjo, S. 2010. *Metodologi Penelitian Kesehatan. Cetakan III*. Jakarta: PT. Rineka Cipta.
- Nugraha, A. W. 2008. *Streptococcus mutans, si Plak Dimana-mana*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma.
- O'Mahony, R., Al-Khteer, H., Deepaka, W., Fernando, N., Vaira, D., Holton, J., dan Basset, C. 2005. Bactericidal and Anti-Adhesive Properties of Culinary and Medical Plants Against *Helicobacter pylori*. *World Journal of Gastroenterology*. Vol. 11 (47): 7499-7507.
- Ozdemir, M. I., Kara, K. Erciyas, H. dan Ozer, S. A. 2012. Preventive Effects of Thymoquinone in a Rat Periodontitis Model: a Morphometric and Histopathological Study. *Journal of Periodontal Research*. Vol. 47 (1): 74-80.
- Parhusip, A. 2004. Pengaruh Ekstrak Andaliman terhadap Hidrofobisitas Bakteri *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhimurium*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. Vol. 2 (2): 23-32.
- Rachmawati, Anita. 2012. Pengaruh Pemberian Infusa Jintan Hitam (*Nigella sativa* Linn) terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans*. *Analisis Kesehatan Sains*. Vol. 1 (1): 16-20.
- Randhawa M. A. dan Al-Ghamdi M. S. 2002. A Review of the Pharmacotherapeutic Effects of *Nigella sativa*. *Pakistan J Med Res*. Vol. 41 (2): 1-10.
- Redaksi Trubus. 2010. *Trio Herbal, My Healthy Life*. Jakarta: Trubus Swadaya.
- Robinson, T. 2005. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Alih bahasa Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB.
- Salman, Khan, dan Sukhla. 2005. *A Study of Nigella sativa Seed for Antimicrobial Activity with Special Reference to Resistant Bacteria*. Master Thesis. India: Aligarh Muslim University.
- Santosaningsih, D. 2003. "Peranan Protein Fimbriae dan Lipopolisakarida terhadap Perlekatan Bakteri Enterohemorragic *Escherichia coli* (EHEC) 0157 pada Enterosit Kelinci secara In Vitro : Penelitian Eksperimental Laboratoris". Tidak diterbitkan. Tesis. Surabaya: Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga.
- Savitri, E. S. 2008. *Rahasia Tumbuhan Berkhasiat Obat Perspektif Islam*. Malang: UIN Press.

- Sloane, Ethel. 2003. *Anatomi dan Fisiologi untuk Pemula*. Alih bahasa James Veldman. Jakarta: EGC.
- Sugindro. Mardiyati, E. dan Djajadisastra, J. 2008. Pembuatan dan Mikroenkapsulasi Ekstrak Etanol Biji Jinten Hitam Pahit (*Nigella sativa L.*). *Majalah Ilmu Kefarmasian*. Vol. V (2): 57-66.
- Sumawinata, Narlan. 2004. *Senarai Istilah Kedokteran Gigi Inggris-Indonesia*. Jakarta: EGC.
- Sung, S. H., Kyoung, H. K., Byong, T. J., Sun, H. C., Jae, H. P., Dong, H. K., HYuk, J. K., dan Sang, H. M. 2012. Antibacterial And Antioxidant Activities of Tannins Extracted from Agricultural by Products. *Journal of Medicinal Plants Research*. Vol. 6 (15): 3072-3079.
- Suryo, Joko. 2010. *Herbal Penyembuh Gangguan Sistem Pernapasan*. Yogyakarta: B First.
- Tembhurne S. V., Feroz S., More B. H., dan Sakarkar D. M. 2014. A Review on Therapeutic Potential of *Nigella sativa* (Kalonji) Seeds. *Journal of Medicinal Plants Research*. Vol. 8 (3): 167-177.
- Tersono, Lukas. 2008. *Tanaman Obat dan Jus untuk Mengatasi Penyakit Jantung, Hipertensi, Kolesterol, dan Stroke*. Jakarta: AgroMedia Pustaka.
- Todar, K. 2008. *Online Textbook of Bacteriology*. <http://textbookofbacteriology.net/> [27 Juli 2013].
- Underwood, J. C. E. 1999. *Patologi Umum dan Sistemik. Volume 2*. Jakarta: EGC.
- United State Departement of Agriculture. 2007. *Nigella sativa*. <http://plants.usda.gov/java/ClassificationServlet?source=display&classid=NISA2>.
- Utami, Prapti. 2013. *Diet Aman dan Sehat Berkat Herbal*. Jakarta: FMedia
- Utami, P. dan Puspaningtyas, D. E. 2013. *The Miracle of Herbs*. Jakarta: AgroMedia Pustaka.
- Wardhani, T. F. 2012. *Jumlah Koloni Streptococcus mutans pada Plak Gigi Anak Sebelum dan Setelah Minum Minuman Probiotik*. Tesis. Jakarta: Program Studi Ilmu Kedokteran Gigi Anak, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia. <http://www.google.co.id/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=0CB8QFjAA&url=http%3A%2F%2Flib.ui.ac.id%2Ffile%3Ffile>

[%3digital%2F20313493T%252031730Jumlah%2520koloniull%2520text.pdf&ei=N8RVIywJIKuASAmoGICQ&usg=AFQjCNHuvap_X1gDvYDKkxDbBhadIYoGQ&sig2=xeUSmPIW7WHzdPeV3nhnA&bvm=bv.74894050,d.c2E](#) [9 September 2014].

Widyasari, R. 2007. *Aplikasi Penambahan Flokulan terhadap Pengolahan Sari Buah Jambu Mete (Anacardium occidentale, L)*. Bogor: Fakultas Pertanian IPB.

Wilson, J. W., Schurr, M. J., Leblanc, C. L., Ramamurthy, R., Buchanan, K. L., dan Nickerson, C. A. 2002. Mechanism of Bacterial Pathogenicity. *Postgraduate Medical Journal*. Vol. 78: 216-224.

Yuyun. 2011. *Kedahsyatan Habbatussauda Mengobati Berbagai Penyakit*. Jakarta: AgroMedia Pustaka.

Zaenab, Mardiasuti, H. W., Anny, dan Logawa. 2004. Uji Antibakteri Siwak (*Salvadora persica* Linn.) terhadap *Streptococcus mutans* (ATC31987) dan *Bacteroides melaninogenicus*. *Makara Kesehatan*. Vol. 8 (2): 37-40.

Zawrotniak, Marcin., dan Kozik, M. R. 2013. Neutrophil Extracellular Traps (NETs) – Formation and Implication. *Acta Biochimika Polonica*. Vol. 60 (3): 277-284.

Lampiran A. Informed consent**Surat Persetujuan (Informed Consent)**

Saya yang bertanda dibawah ini :

Nama : Mohammad Haris
Umur : 22 Tahun
Jenis kelamin : Laki-laki
Alamat : Jl. Baturaden II . no. 7 . Jember

Menyatakan dengan sesungguhnya, tanpa ada paksaan dari pihak lain, bersedia menjadi subyek penelitian dari :

Nama : Adinda Martina
NIM : 111610101072
Fakultas : Kedokteran Gigi Universitas Jember
Alamat : Jalan Kalimantan IV no 77A. jember

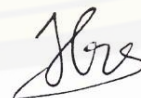
Dengan judul “Pengaruh Ekstrak Biji Lintan Hitam (*Nigella sativa L.*) Terhadap Adhesi *Streptococcus mutans* Pada Neutrofil” dan saya juga bersedia menanggung segala resiko yang mungkin terjadi dengan catatan apabila tindakan tersebut terbukti tidak menyalahi prosedur yang telah ditetapkan.

Adapun keterangan mengenai prosedur pelaksanaan, persiapan tindakan dan lain-lain telah diberikan oleh peneliti.

Demikian surat pernyataan ini saya buat.

Jember, 23 Desember 2014

Yang Membuat Pernyataan,



(..Mohammad Haris..)

Lampiran B. Surat keterangan identifikasi biji jintan hitam



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(*INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES*)
UPT BALAI KONSERVASI TUMBUHAN
KEBUN RAYA PURWODADI

JL. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163
Telp. (+62 343) 615033, (+62 341) 426046, Faks. (+62 343) 615033, (+62 341) 426046
website: <http://www.krpurwodadi.lipi.go.id>




CERT NO. 105-067-9-14
ISO 9001 : 2008 Lembaga Sertifikasi Sistem Mutu
LSM-040-1DN

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI
No. 1310 /IPH.06/HM/X/2014

Kepala UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi dengan ini menerangkan bahwa material tanaman yang dibawa oleh :

Adinda Martina, NIM : 111610101072

Mahasiswa Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, datang di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi pada tanggal 03 Oktober 2014, berdasarkan PROSEA (Plants Resources of South-East Asia) No 13; Spices, editor C.C. de Guzman dan J.S. Siemonsma, tahun 1999, halaman 148-151 nama ilmiahnya adalah :

Genus : *Nigella*
Species : *Nigella sativa* L

Adapun menurut buku The Standard Cyclopedia of Horticulture, karangan L.H. Bailey, jilid I, tahun 1953, halaman 3, klasifikasinya adalah sebagai berikut :

Divisio : *Spermatophyta*
Sub Divisio : *Angiospermae*
Kelas : *Dicotyledoneae*
Ordo / Bangsa : *Ranales*
Family / Suku : *Ranunculaceae*

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 08 Oktober 2014

An. Kepala
UPT Balai Konservasi Tumbuhan
Kebun Raya Purwodadi
Kepala Seksi Konservasi Ex-situ,



Deden Mudiana, S.Hut, M.Si.

Lampiran C. Surat keterangan hasil ekstraksi biji jintan hitam

**KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
RUMAH SAKIT GIGI DAN MULUT
UNIVERSITAS JEMBER**

Jl. Kalimantan 37 Jember 68121, Telp. / fax (0331) 325041

DATA HASIL PENGUJIAN

Nama : Adinda Martina
NIM : 111610101072
Fakultas : Kedokteran Gigi
Tanggal Pengujian : 29 Desember 2014
Bahan : Jintan Hitam (*Nigella Sativa*)
Pelarut Ekstraksi : Etanol 70%
Metode Ekstraksi : Maserasi berulang
Hasil : 90 gr

Jember, 2 Januari 2015



Mengetahui,
Wadir I RSGM
Drg. Sulistiyani, M.Kes
NIP. 196601311996012001

Petugas Laboratorium

Nur Aziza, A.Md, Ak
NIP. 198603052010122003

Lampiran D. Surat keterangan identifikasi *S. mutans*



**LABORATORIUM MIKROBIOLOGI
BAGIAN BIOMEDIK KEDOKTERAN GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER**

SURAT KETERANGAN

No. 057/MIKRO/SKET/2014

Sehubungan dengan keperluan identifikasi mikroorganisme, maka kami menerangkan bahwa mahasiswa berikut:

Nama : Adinda Martina
Nim : 111610101072
Fakultas : Kedokteran Gigi
Keperluan : Penelitian Skripsi

Telah melakukan uji identifikasi terhadap isolat *Streptococcus mutans*; hasil uji identifikasi dengan pengecatan Gram menunjukkan bakteri *Streptococcus* Gram positif.

Jember, 30 Desember 2014

Mengetahui,

Ketua Bagian Biomedik Kedokteran Gigi

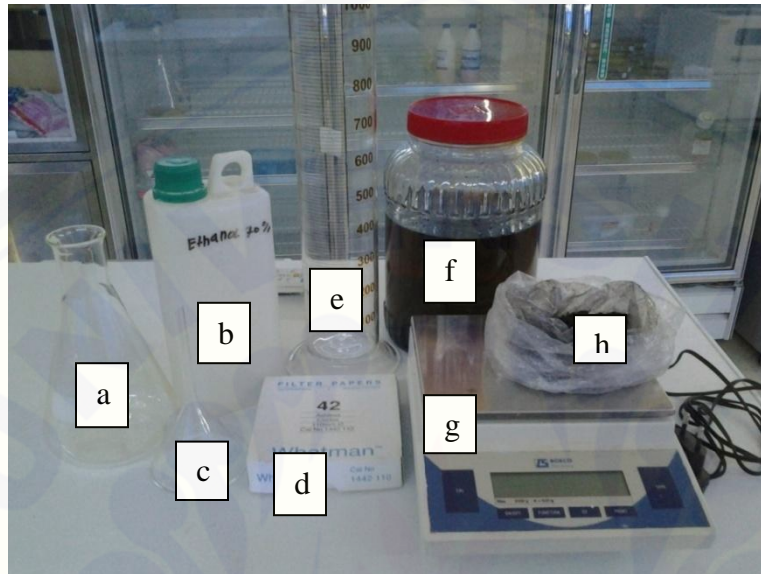
Penanggung Jawab Laboratorium Mikrobiologi

(Prof. Dr. drg. I Dewa Ayu Ratna D., M.Si)
NIP: 196705021997022001

(drg. Pujiana Endah Lestari, M.Kes)
NIP: 197608092005012002

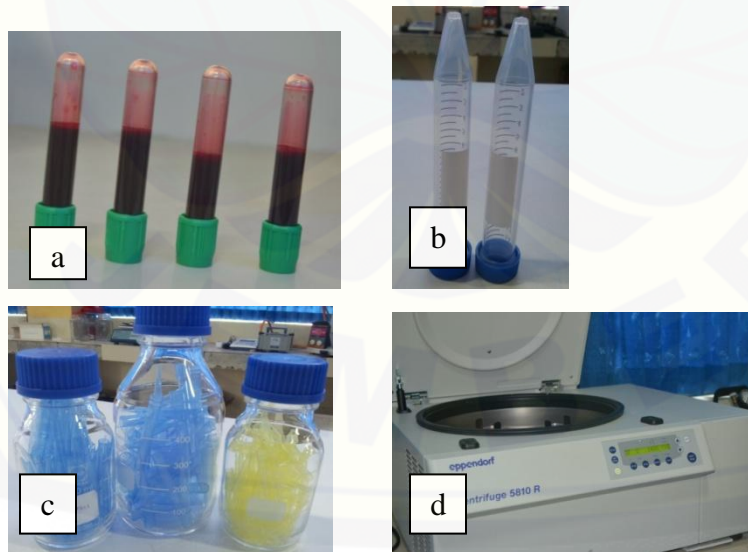
Lampiran E. Foto alat dan bahan penelitian

1. Pembuatan ekstrak biji jintan hitam



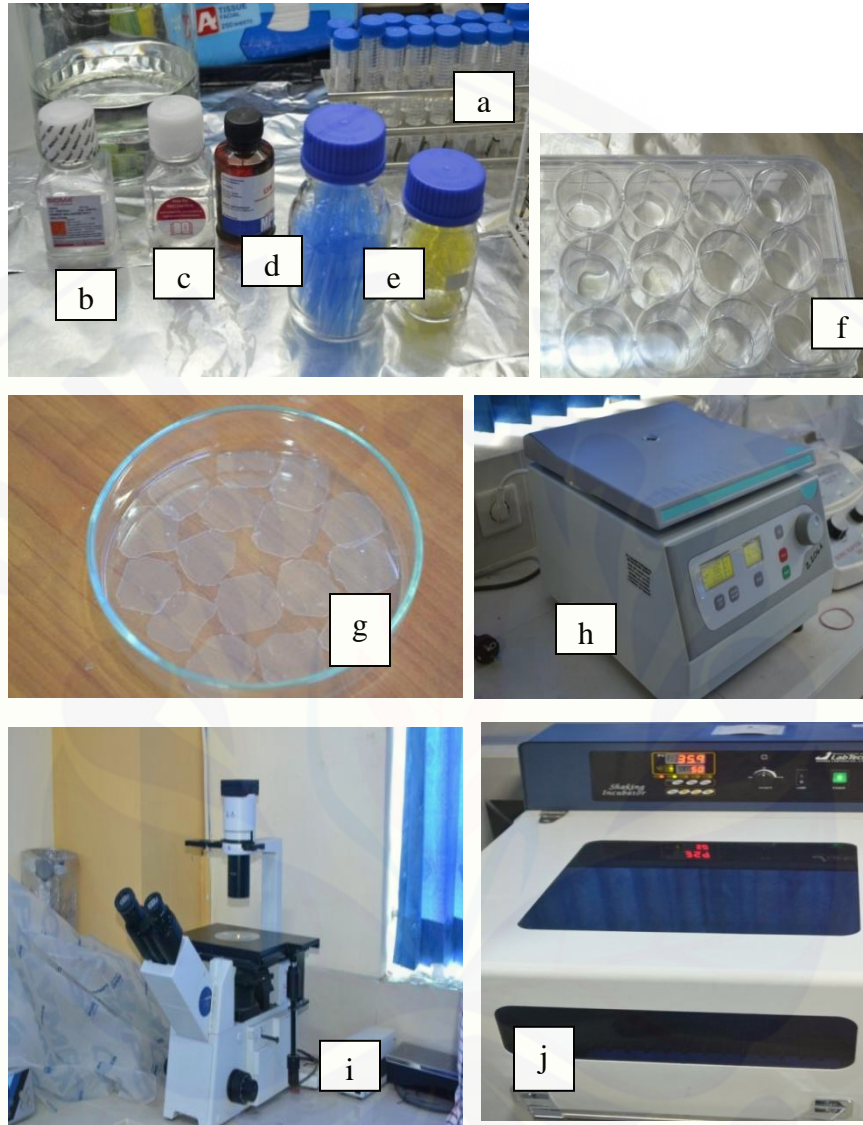
a. tabung elenmeyer; b. ethanol 70%; c. corong Buchner; d. kertas saring Whatman; e. *beaker glass*; f. wadah kaca untuk tempat maserasi; g. neraca; h. biji jintan hitam yang sudah dihaluskan

2. Isolasi neutrofil

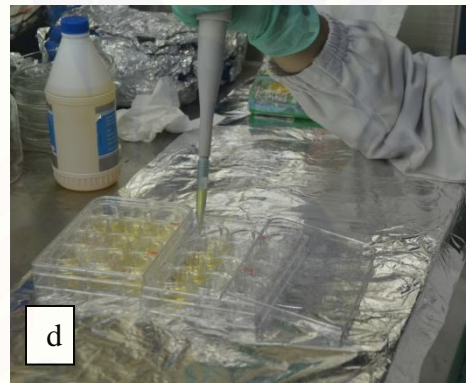
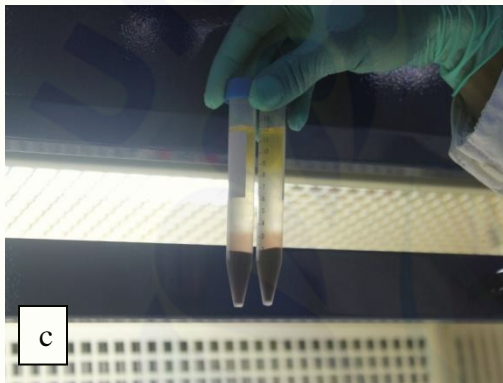
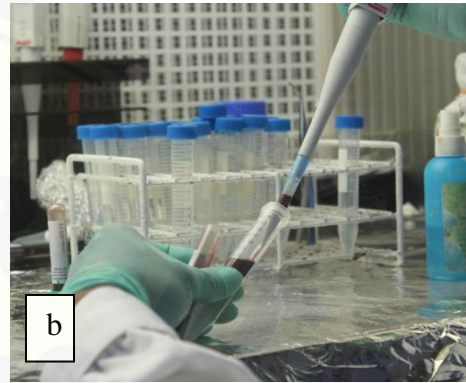


a. tabung heparin; b. tabung falcon; c. *blue and yellow tip*; d. *centrifuge*

3. Uji adhesi



a. tabung falcon; b. HBSS; c. fungizon; d. *ficoll-hypaque*; e. *blue tip and yellow tip*; f. *microplate 12 well*; g. *coverslip*; h. *inkubator*; i. *mikroskop inverted*; j. *autoclave*

Lampiran F. Foto prosedur penelitian**Keterangan :**

- a. Proses penyaringan maserasi ekstrak biji jintan hitam.
- b. Proses memasukkan darah ke dalam tabung falcon sebelum disentrifugasi.
- c. Proses sentrifugasi akan menghasilkan 6 lapisan, lapisan yang diambil adalah lapisan ke empat yaitu granulosit.
- d. Proses *pipetting* menggunakan mikropipet.

Lampiran G. Hasil penghitungan adhesi *S. mutans* pada neutrofil1. Kelompok 1 (kontrol): isolat neutrofil + *S. mutans*

| Sampel A | | | | | | | | | | |
|----------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|
| Lapang pandang | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| 1 | 8 | 2 | 0 | 1 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 |
| 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 3 | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 3 | 3 |
| 5 | 2 | 4 | 1 | 2 | 0 | 2 | 1 | 0 | 1 | 2 |
| 6 | 0 | 3 | 2 | 1 | 0 | 4 | 5 | 2 | 5 | 4 |
| 7 | 3 | 3 | 0 | 3 | 0 | 0 | 5 | 1 | 3 | 8 |
| 8 | 0 | 5 | 4 | 2 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 | 1 |
| 9 | 5 | 3 | 5 | 2 | 1 | 2 | 2 | 1 | 3 | 3 |
| 10 | 2 | 1 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 |
| Total : 160 | | | | | | | | | | |
| Indeks Adhesi : 1,6 | | | | | | | | | | |

| Sampel B | | | | | | | | | | |
|-----------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|
| Lapang pandang | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| 1 | 1 | 9 | 3 | 1 | 3 | 0 | 1 | 0 | 3 | 0 |
| 2 | 2 | 2 | 9 | 5 | 0 | 2 | 2 | 3 | 1 | 3 |
| 3 | 4 | 1 | 0 | 3 | 0 | 5 | 1 | 3 | 3 | 1 |
| 4 | 1 | 3 | 4 | 3 | 5 | 2 | 2 | 3 | 1 | 1 |
| 5 | 3 | 0 | 3 | 0 | 2 | 1 | 3 | 4 | 0 | 1 |
| 6 | 2 | 8 | 1 | 2 | 0 | 2 | 2 | 2 | 1 | 3 |
| 7 | 1 | 7 | 3 | 1 | 0 | 1 | 1 | 2 | 0 | 6 |
| 8 | 5 | 2 | 2 | 6 | 1 | 2 | 3 | 2 | 1 | 5 |
| 9 | 2 | 1 | 1 | 5 | 1 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| 10 | 0 | 3 | 3 | 3 | 5 | 1 | 2 | 2 | 2 | 1 |
| Total : 217 | | | | | | | | | | |
| Indeks Adhesi : 2,17 | | | | | | | | | | |

| Sampel C | | | | | | | | | | |
|----------------------|--------------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|
| Lapang pandang | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| 1 | 3 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 3 | 1 | 1 | 1 |
| 2 | 3 | 1 | 1 | 3 | 3 | 2 | 1 | 1 | 1 | 3 |
| 3 | 2 | 2 | 4 | 1 | 0 | 0 | 3 | 0 | 1 | 0 |
| 4 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 2 |
| 5 | 7 | 0 | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 6 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 0 | 0 | 2 | 2 |
| 7 | 0 | 2 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| 8 | 2 | 0 | 2 | 2 | 3 | 2 | 0 | 3 | 4 | 1 |
| 9 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 3 | 4 | 1 |
| 10 | 4 | 0 | 0 | 2 | 2 | 2 | 1 | 4 | 0 | 1 |
| Total | : 122 | | | | | | | | | |
| Indeks Adhesi | : 1,2 | | | | | | | | | |

| Sampel D | | | | | | | | | | |
|----------------------|--------------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|
| Lapang pandang | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 4 | 0 |
| 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 2 |
| 3 | 0 | 0 | 0 | 3 | 2 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 5 | 0 | 0 | 5 | 9 | 0 | 1 | 1 | 6 | 2 | 1 |
| 6 | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 7 | 3 | 0 | 0 | 1 | 2 | 3 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 8 | 1 | 0 | 2 | 0 | 0 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 1 | 2 | 4 | 0 |
| 10 | 0 | 3 | 0 | 2 | 1 | 0 | 4 | 0 | 0 | 2 |
| Total | : 86 | | | | | | | | | |
| Indeks Adhesi | : 0,8 | | | | | | | | | |

2. Kelompok 2: isolat neutrofil + ekstrak biji jintan hitam 100 % + *S. mutans*

| Sampel A | | | | | | | | | | |
|----------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|
| Lapang pandang | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| 1 | 6 | 6 | 4 | 5 | 3 | 2 | 1 | 2 | 0 | 0 |
| 2 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 |
| 3 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 3 | 0 |
| 4 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 7 | 0 | 0 | 3 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 9 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 |
| 10 | 2 | 0 | 0 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Total : 69 | | | | | | | | | | |
| Indeks Adhesi : 6,9 | | | | | | | | | | |

| Sampel B | | | | | | | | | | |
|----------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|
| Lapang pandang | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 |
| 2 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 1 |
| 3 | 1 | 0 | 0 | 2 | 1 | 4 | 0 | 2 | 1 | 0 |
| 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 0 | 3 |
| 6 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 7 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 3 |
| 8 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 1 |
| 9 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 2 | 0 |
| 10 | 1 | 0 | 1 | 2 | 3 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| Total : 64 | | | | | | | | | | |
| Indeks Adhesi : 6,4 | | | | | | | | | | |

| Sampel C | | | | | | | | | | |
|----------------------|--------------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|
| Lapang pandang | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 |
| 2 | 0 | 0 | 1 | 2 | 2 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| 4 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 2 |
| 5 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 6 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| 8 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 9 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 10 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| Total | : 36 | | | | | | | | | |
| Indeks Adhesi | : 3,6 | | | | | | | | | |

| Sampel D | | | | | | | | | | |
|----------------------|--------------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|
| Lapang pandang | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 | 2 |
| 2 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 3 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| 4 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 |
| 5 | 2 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 6 | 1 | 0 | 0 | 2 | 1 | 1 | 0 | 2 | 0 | 3 |
| 7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 1 | 1 | 0 |
| 8 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| 10 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Total | : 41 | | | | | | | | | |
| Indeks Adhesi | : 4,1 | | | | | | | | | |

Nilai indeks adhesi kelompok

| Kelompok | Indeks adhesi/ sampel | | | | Jumlah | Rata-rata indeks adhesi |
|-----------------------------|------------------------------|------|------|------|---------------|--------------------------------|
| Kelompok I (kontrol) | 1,6 | 2,17 | 1,22 | 0,86 | 5,58 | 1,462 |
| Kelompok II | 0,69 | 0,64 | 0,36 | 0,41 | 2,1 | 0,525 |

Lampiran H. Analisis data penelitian

1. Uji normalitas

Tests of Normality

| kelompok | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|----------|---------------------------------|----|------|--------------|----|------|
| | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| grup 1 | .167 | 4 | . | .986 | 4 | .938 |
| grup 2 | .258 | 4 | . | .868 | 4 | .291 |

a. Lilliefors Significance Correction

2. *Independent t-test*

Group Statistics

| kelompok | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean |
|----------|---|--------|----------------|-----------------|
| grup 1 | 4 | 1.4625 | .56014 | .28007 |
| grup 2 | 4 | .5250 | .16422 | .08211 |

Independent Samples Test

| | Levene's Test for Equality of Variances | t-test for Equality of Means | | | | | | | | |
|------|---|------------------------------|------|-------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|---|---------|
| | | F | Sig. | t | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference | 95% Confidence Interval of the Difference | |
| | | | | | | | | | Lower | Upper |
| grup | Equal variances assumed | 4.168 | .087 | 3.212 | 6 | .018 | .93750 | .29186 | .22335 | 1.65165 |
| | Equal variances not assumed | | | 3.212 | 3.512 | .039 | .93750 | .29186 | .08076 | 1.79424 |