



**PERAN EKSTRAK DAUN WUNGU (*Graptophyllum pictum* (L.)
Griff) TERHADAP ADHESI *Streptococcus mutans*
PADA NEUTROFIL**

SKRIPSI

**Oleh:
Arina Nur Rahmah
NIM 141610101032**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2018**



**PERAN EKSTRAK DAUN WUNGU (*Graptophyllum pictum* (L.)
Griff) TERHADAP ADHESI *Streptococcus mutans*
PADA NEUTROFIL**

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:

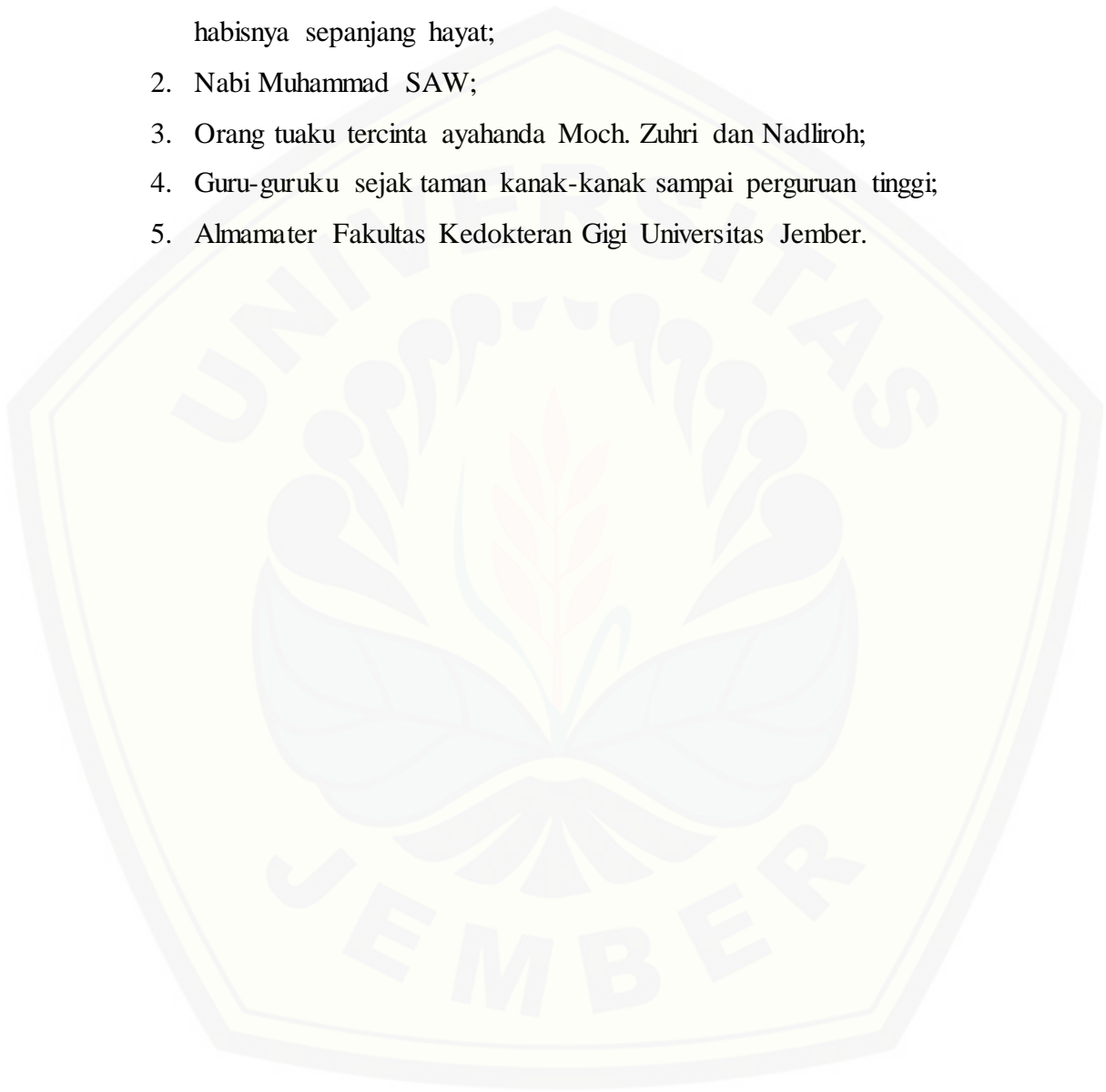
Arina Nur Rahmah
NIM 141610101032

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2018

PERSEMBAHAN

Dengan penuh rasa syukur, skripsi ini saya persembahkan kepada:

1. Allah SWT atas limpahan bekah, rahmat, hidayah, dan kemudahan yang tiada habisnya sepanjang hayat;
2. Nabi Muhammad SAW;
3. Orang tuaku tercinta ayahanda Moch. Zuhri dan Nadliroh;
4. Guru-guruku sejak taman kanak-kanak sampai perguruan tinggi;
5. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.



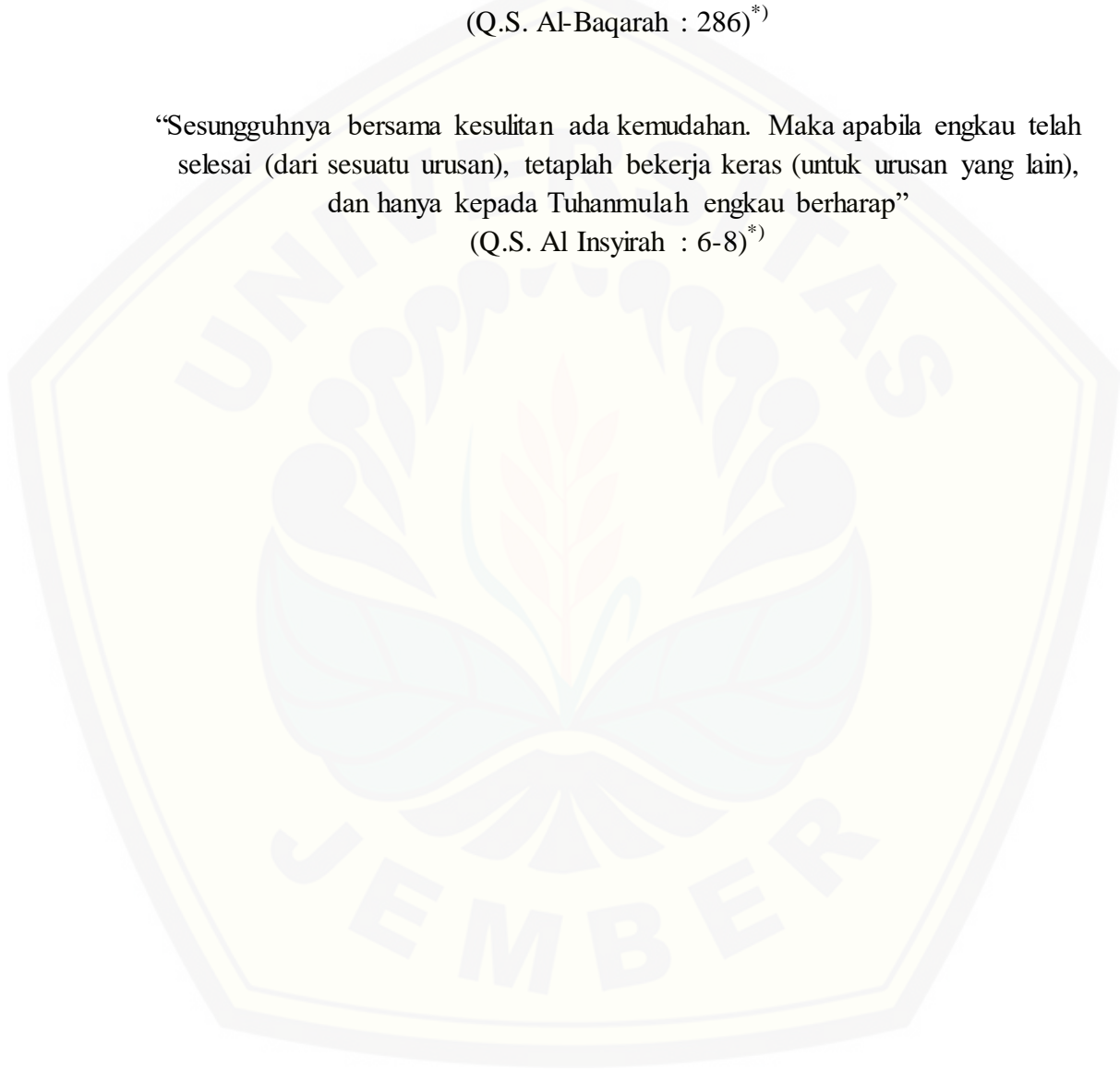
MOTO

“Sesungguhnya Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya”

(Q.S. Al-Baqarah : 286)*)

“Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Maka apabila engkau telah selesai (dari sesuatu urusan), tetaplah bekerja keras (untuk urusan yang lain), dan hanya kepada Tuhanmulah engkau berharap”

(Q.S. Al Insyirah : 6-8)*)



*) Departemen Agama Republik Indonesia. 2013. *Al-Qur'an dan Terjemahannya*. Solo: PT Tiga Serangkai Pustaka Mandiri.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Arina Nur Rahmah

NIM : 141610101032

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Peran Ekstrak Daun Wungu (*Graptophyllum Pictum (L.) Griff*) terhadap Adhesi *Streptococcus mutans* pada Neutrofil” adalah benar-benar hasil karya saya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 12 April 2018

Yang menyatakan,

Arina Nur Rahmah

NIM 141610101032

SKRIPSI

**PERAN EKSTRAK DAUN WUNGU (*Graptophyllum pictum* (L.)
Griff) TERHADAP ADHESI *Streptococcus mutans*
PADA NEUTROFIL**

Oleh :

Arina Nur Rahmah

NIM 141610101032

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : Dr.drg. Atik Kurniawati, M.Kes

Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Sulistiyani, M.Kes

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul "Peran Ekstrak Daun Wungu (*Graptophyllum Pictum* (L.) Griff) terhadap Adhesi *Streptococcus mutans* pada Neutrofil" telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : 12 April 2018

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Utama

Penguji Anggota

drg. Yani Corvianindya Rahayu, M. Kes

NIP. 197308251998022001

drg. Zahara Meilawaty, M. Kes

NIP. 198005272008122002

Pembimbing Utama

Pembimbing Anggota

Dr.drg. Atik Kurniawati, M.Kes

NIP. 197102041998022002

drg. Sulistiyani, M.Kes

NIP.196601311996012001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas jember,

drg. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp. Pros.

NIP. 196901121996011001

RINGKASAN

Peran Ekstrak Daun Wungu (*Graptophyllum Pictum (L.) Griff*) Terhadap Adhesi *Streptococcus mutans* pada Neutrofil; Arina Nur Rahmah, 141610101032; 2017; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Daun wungu mempunyai beberapa kandungan kimia, antara lain sebagai bahan bioaktif yang berfungsi sebagai antiinflamasi dan antibakteri. Flavonoid mampu menghambat adhesi bakteri dan sel netrofil saat mengadakan perlekatan pada interaksi hidrofobik dengan menurunkan hidrofobisitas dan mencegah terjadinya interaksi hidrofobik dari komponen permukaan bakteri dengan sel host. Sel netrofil merupakan pertahanan tubuh non spesifik yang pertama kali muncul untuk mengatasi adanya zat asing dalam tubuh yang diawali dengan perlekatan dan selanjutnya memfagosit antigen tersebut. Bakteri *Streptococcus mutans* merupakan bakteri utama penyebab karies yang mendemineralisasi email gigi hasil fermentasi asam dan selanjutnya akan menginvasi dentin dan menyebabkan inflamasi pulpa (pulpitis) pada kondisi lanjut.

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui daya hambat ekstrak daun wungu terhadap adhesi bakteri *S. mutans* pada neutrofil, dan untuk mengetahui perbedaan daya hambat adhesi bakteri *S. mutans* antara ekstrak daun wungu konsentrasi 3,125%, 6,25%, 12,5%, dan 25%. Sampel penelitian yang digunakan diambil dari darah subyek, yaitu orang sehat dengan kriteria laki-laki dewasa, tidak memiliki riwayat penyakit sistemik, kelainan darah dan kebiasaan merokok, serta bersedia mengisi *informed consent* sebagai tanda persetujuan bahwa darah yang diambil akan dijadikan sampel penelitian.

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental labolatoris dengan desain penelitian menggunakan *The Post Test Only Control Group Design*. Pada penelitian ini digunakan ekstrak daun wungu konsentrasi 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25%, dan kelompok kontrol. Penelitian ini dilakukan dalam empat tahapan, tahapan pertama pembuatan ekstrak daun wungu. Tahapan kedua yaitu pembuatan suspensi *S.mutans*. Tahapan ketiga yaitu isolasi neutrofil yaitu untuk mendapatkan sel netrofil yang terpisah dari sel-sel darah lain, dan tahapan terakhir yaitu perlakuan uji indeks adhesi

S. mutans pada neutrofil yang diinkubasi ekstrak daun wungu. Kemudian dilakukan penghitungan dengan mengambil 100 sel neutrofil pada tiap kelompok sampel dan dihitung berapa banyak *S. mutans* yang melekat pada satu sel neutrofil.

Penelitian ini mendapatkan hasil pada kelompok kontrol terdapat rata – rata indeks adhesi per 100 sel adalah 2,14, pada kelompok II (ekstrak daun wungu 3,125%) sebesar 1,94, pada kelompok III (ekstrak daun wungu 6,25%) sebesar 1,83, pada kelompok IV (ekstrak daun wungu 12,5%) sebesar 1,01, pada kelompok V (ekstrak daun wungu 25%) sebesar 0,615. Kesimpulan penelitian ini adalah ekstrak daun wungu dapat menghambat adhesi *S. mutans* pada neutrofil baik pada konsentrasi 3,125%, 6,25%, 12,5%, maupun 25%; dimana konsentrasi yang lebih tinggi mempunyai kemampuan untuk menghambat adhesi lebih besar dibandingkan dengan konsentrasi yang lebih rendah.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan karunia -Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Peran Ekstrak Daun Wungu (*Graptophyllum Pictum (L.) Griff*) 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 terima kasih kepada:

1. Allah SWT atas berkat rahmatNya saya dapat menyelesaikan skripsi ini;
2. Kedua orang tuaku tercinta; Ayahku Moch. Zuhri dan Ibuku Nadliroh, yang telah memberikan seluruh kasih sayang, perhatian, doa, nasihat, semangat, dan dukungan kepada saya;
3. drg. Rahardyan Parnaadji, M. Kes., Sp. Pros selaku Dekan, Dr. drg. I Dewa Ayu Susilawati, M. Kes. Selaku Wakil Dekan I, Dr. drg. Sri Hernawati, M. Kes. selaku Wakil Dekan II, dan drg. Izzata Barid, M. Kes., selaku Wakil Dekan III Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
4. Dr. drg. Atik Kurniawati, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Utama, dan drg. Sulistiyani, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah banyak meluangkan waktunya untuk memberikan ilmu, bimbingan, saran, nasihat dan motivasi sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik;
5. drg. Yani Corvianindya Rahayu, M. Kes, selaku Dosen Penguji Ketua, dan drg. Zahara Meilawaty, M. Kes selaku Dosen Penguji Anggota yang telah meluangkan waktu untuk membaca, memberikan masukan, kritik dan saran dalam penulisan skripsi ini;
6. drg. Swasthi, M. Kes selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah banyak membeikan nasihat, saran, dan motivasi;
7. Sahabat-sahabatku tercinta yang telah menemani dari maba sampai saat ini; Narita Ajeng Loviana, Azizah Safaatin, Grace Valencia Handoko, Erlita

Prestiandari, Fadhilah Rusmaputeri, Najla Irhamni Phasa, dan Devica Dwi Ratna Putri yang selalu ada di saat suka maupun duka dan yang selalu sabar mendengarkan keluh kesahku selama perkuliahan;

8. Staff Laboratorium Biosciences RSGM Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember; Mas Erwan, Mbak Nur dan Mbak Ning, Staff Laboratorium Biologi Fakulta Farmasi Universitas Jember; Bu Widi terimakasih atas bantuan dan kerjasamanya selama penelitian;
9. Sahabatku Rizki Putri Aulia dan Iqbal Luthfi Nauri yang telah meluangkan banyak waktunya untuk menemani, memberikan semangat kepada penulis;
10. Staff Akademik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
11. Prisca, Arwinda, Yusha, Laras, dan seluruh teman-teman LECI FKG 2014 yang telah berjuang bersama-sama melawati masa suka dan duka selama melaewati masa-masa perkuliahan dai Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, terima kasih atas motivasi, kerja sama, kekeluargaan, hiburan dan kekompakkannya selama ini;
12. Teman-teman KKN UMD 58 Desa Suling Kulon Bondowoso, terimakasih atas pengalaman, cerita dan semangatnya.
13. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 12 April 2018

Penulis

DAFTAR ISI

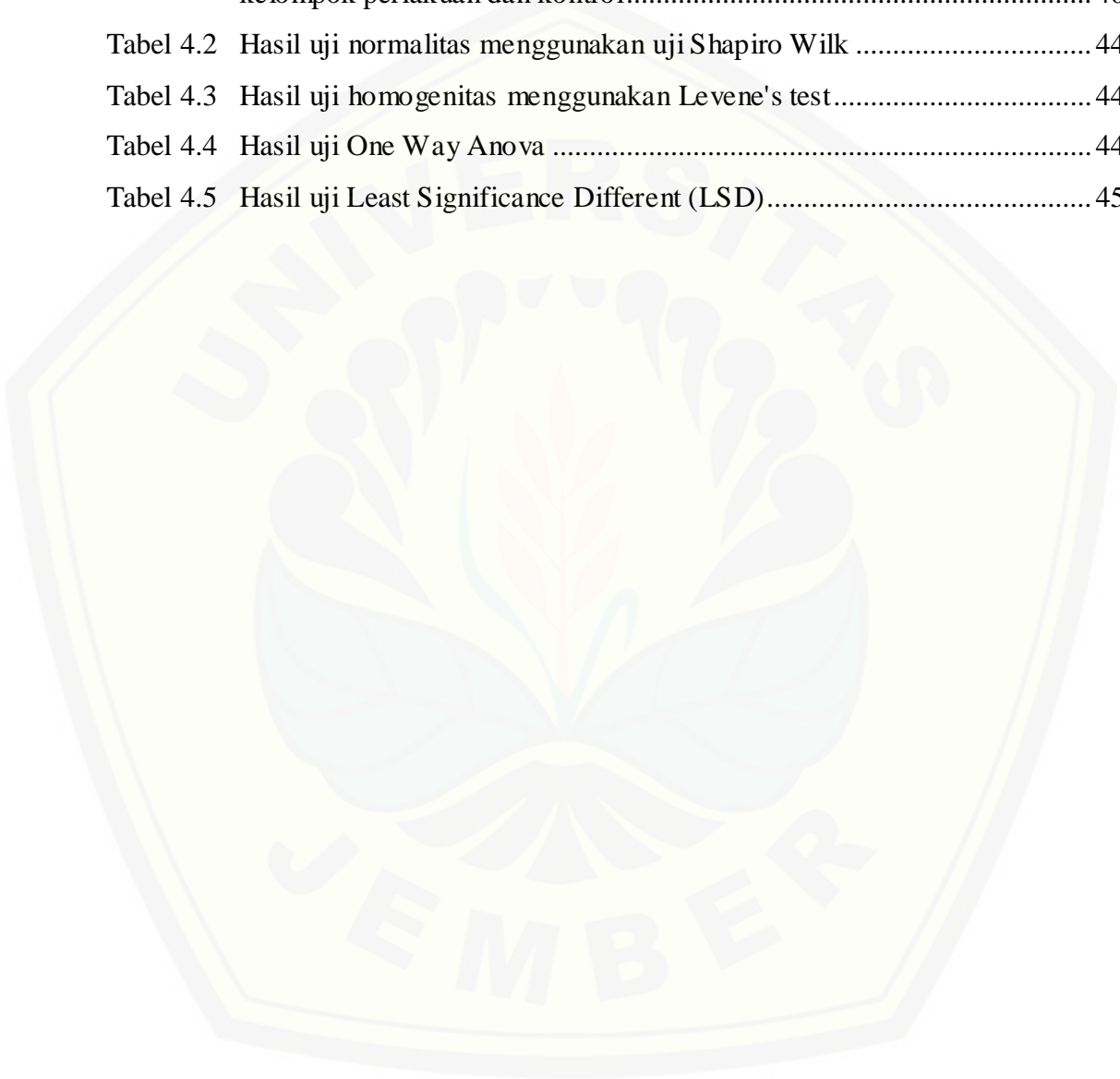
	Halaman
HALAMAN JUDUL	Error! Bookmark not defined.
PERSEMBAHAN	iii
MOTO	iv
PERNYATAAN	v
SKRIPSI	vi
PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	Error! Bookmark not defined.
1.1 Latar Belakang	Error! Bookmark not defined.
1.2 Rumusan Masalah	Error! Bookmark not defined.
1.3 Tujuan Penelitian	Error! Bookmark not defined.
1.4 Manfaat Penelitian	Error! Bookmark not defined.
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Daun Wungu	5
2.1.1 Klasifikasi Tanaman Daun Wungu	6
2.1.2 Morfologi Daun Wungu	6
2.1.3 Habitat Daun Wungu	7
2.1.4 Kandungan Kimia Daun Wungu	7
2.2 Bakteri <i>Streptococcus mutans</i>	9
2.2.1 Taksonomi <i>Streptococcus mutans</i>	9
2.2.2 Morfologi dan Habitat <i>Streptococcus mutans</i>	10
2.2.3 Patogenesis <i>Streptococcus mutans</i>	10
2.2.4 Mekanisme Perlekatan Dinding Sel Bakteri Dengan Sel Inang ...	10

2.3 Adhesi	11
2.3.1 Mekanisme Adhesi.....	11
2.3.2 Perhitungan Indeks Adhesi.....	14
2.4 Neutrofil	15
2.4.1 Morfologi Neutrofil	15
2.4.2 Mekanisme Neutrofil dalam Pertahanan Tubuh.....	17
2.5 Inflamasi Pada Pulpa Gigi	19
2.6 Ekstraksi	22
2.6.1 Definisi Ekstraksi	22
2.6.2 Metode Ekstraksi.....	22
2.6.3 Cairan pelarut.....	24
2.6 Kerangka Konsep	26
2.7 Hipotesis	27
BAB III. METODE PENELITIAN	28
3.1 Jenis Penelitian	28
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	28
3.2.1 Tempat Penelitian.....	28
3.2.2 Waktu Penelitian	28
3.3 Identifikasi Variabel Penelitian	28
3.3.1 Variabel Bebas.....	28
3.3.2 Variabel Terikat.....	28
3.3.3 Variabel Terkendali	28
3.4 Definisi Operasional	29
3.4.1 Ekstrak Daun Wungu	29
3.4.2 <i>Streptococcus mutans</i>	29
3.4.3 Indeks Adhesi.....	29
3.4.4 Neutrofil	29
3.5 Sampel Penelitian	30
3.5.1 Kriteria Isolat Neutrofil	30
3.5.2 Kriteria Daun Wungu	30
3.5.3 Penggolongan Sampel Penelitian	30

3.5.4 Jumlah Sampel.....	31
3.6 Alat dan Bahan Penelitian.....	31
3.6.1 Alat Penelitian.....	31
3.6.2 Bahan Penelitian.....	32
3.7 Prosedur Penelitian.....	32
3.7.1 <i>Ethical Clearance</i>	32
3.7.2 Pembuatan ekstrak daun wungu.....	32
3.7.3 Pembuatan konsentrasi ekstrak daun wungu.....	33
3.7.4 Pembuatan suspensi <i>Streptococcus mutans</i>	34
3.7.5 Isolasi neutrofil.....	34
3.7.6 Perlakuan Uji Indeks Adhesi.....	35
3.7.7 Penghitungan Indeks Adhesi.....	36
3.8 Analisis Data.....	37
3.9 Alur Penelitian.....	38
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	39
4.1 Hasil Penelitian.....	39
4.1.1 Hasil Isolasi Neutrofil dan Identifikasi <i>Streptococcus mutans</i>	39
4.1.2 Hasil Uji Adhesi.....	40
4.2 Hasil Analisis Data.....	43
4.2.1 Uji Normalitas dan Uji Homogenitas.....	43
4.2.2 Uji Perbedaan.....	44
4.3 Pembahasan.....	45
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	51
5.1 Kesimpulan.....	51
5.2 Saran.....	51
DAFTAR PUSTAKA.....	52
LAMPIRAN.....	58

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Hasil skrining fitokimia daun ungu.....	7
Tabel 4.1 Rata-rata indeks adhesi <i>Streptococcus mutans</i> terhadap neutrofil pada kelompok perlakuan dan kontrol.....	40
Tabel 4.2 Hasil uji normalitas menggunakan uji Shapiro Wilk	44
Tabel 4.3 Hasil uji homogenitas menggunakan Levene's test.....	44
Tabel 4.4 Hasil uji One Way Anova	44
Tabel 4.5 Hasil uji Least Significance Different (LSD).....	45



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Daun Wungu	5
Gambar 2.2	<i>Streptococcus mutans</i>	9
Gambar 2.3	Struktur yang berperan dalam proses adhesi.....	12
Gambar 2.4	Gambaran mikroskopis adhesi <i>Streptococcus mutans</i> pada sel neutrofil yang diinkubasi ekstrak polifenol 100%	12
Gambar 2.5	Gambaran mikroskopis uji adhesi <i>P. gingialis</i>	13
Gambar 2.6	Proses adhesi <i>reversible</i> dan <i>irreversible</i>	14
Gambar 2.7	Sel neutrofil yang pembesaran 1000x	17
Gambar 2.8	Neutrofil pada radang akut	19
Gambar 4.1	Isolat neutrofil.	39
Gambar 4.2	Sediaan <i>Streptococcus mutans</i>	40
Gambar 4.3	Diagram batang indeks adhesi <i>Streptococcus mutans</i> pada neutrofil antar kelompok perlakuan	41
Gambar 4.4	Neutrofil yang tidak diinkubasi ekstrak daun wungu (K I).....	42
Gambar 4.5	Neutrofil yang diinkubasi ekstrak daun wungu 3,125% (K II).....	42
Gambar 4.6	Neutrofil yang diinkubasi ekstrak daun wungu 6,25% (K III).....	43
Gambar 4.7	Neutrofil yang diinkubasi ekstrak daun wungu 12,5% (K IV)	43
Gambar 4.8	Neutrofil yang diinkubasi ekstrak daun wungu 25% (K V).....	43

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran A. Informed consent	58
Lampiran B. Surat keterangan identifikasi daun wungu	59
Lampiran C. Surat keterangan hasil ekstraksi daun wungu	60
Lampiran D. Surat keterangan uji identifikasi <i>Streptococcus mutans</i>	61
Lampiran E. Surat keterangan <i>Ethical Clearence</i>	62
Lampiran F. Foto prosedur penelitian	63
Lampiran G. Foto alat dan bahan penelitian	73
Lampiran H. Hasil penghitungan adhesi <i>Steptococcus mutans</i> pada neutrofil	79
Lampiran I. Analisis data penelitian	85

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit gigi dan mulut adalah penyakit yang sering dialami oleh masyarakat Indonesia. Menurut data dari Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) tahun 2013, prevalensi nasional masalah gigi dan mulut adalah 25,9%, diantaranya sebanyak 13 provinsi di Indonesia mempunyai prevalensi masalah gigi dan mulut di atas angka nasional yaitu Sulawesi Selatan 36,2%, Kalimantan Selatan 36,1%, Sulawesi Tengah 35,6%, Sulawesi Barat 32,2%, Yogyakarta 32,1%, Sulawesi Utara 31,6%, Gorontalo 30,1%, DKI Jakarta 29,1%, Sulawesi Tenggara 28,6%, Jawa Barat 28%, Jawa Timur 27,2%, Maluku 27,2%, dan Maluku Utara 26,9%. Salah satu penyakit gigi dan mulut yang paling banyak ditemukan adalah karies. Menurut WHO diperkirakan bahwa 90% anak sekolah di dunia dan sebagian besar orang dewasa pernah menderita karies gigi (Iswandani, 2015).

Karies merupakan suatu penyakit jaringan keras gigi, yaitu email, dentin dan sementum, yang disebabkan oleh aktivitas suatu jasad renik dalam suatu karbohidrat yang dapat diragikan. Karies ditandai dengan adanya demineralisasi jaringan keras gigi yang kemudian diikuti oleh kerusakan bahan organiknya (Kidd, 2013).

Bakteri yang berperan dalam proses terjadinya karies adalah bakteri *Streptococcus mutans*. Ketika lesi karies berkembang, bakteri dapat mengadakan invasi ke jaringan gigi yang lebih dalam seperti dentin, tubuli dentin, dan pulpa (Purnamasari, 2014). Kontak langsung antara agen bakteri dengan sel *host* diawali dengan proses adhesi. Adhesi adalah proses melekatnya permukaan bakteri dengan membran plasma sel inang. Proses ini berperan penting untuk terjadinya kolonisasi, invasi sampai timbulnya suatu infeksi penyakit (Giannasca, 1994). Proses ini dipengaruhi oleh interaksi komponen permukaan bakteri dan sel inang dengan faktor lingkungan yang dapat mendukung seperti *fibrinectin* (suatu protein yang bersifat adhesif), *fibrinogen*, *vitronectin* dan *laktoferin*. Struktur yang bertanggung jawab terhadap sifat adhesi bakteri adalah adhesin *fimbriae*, asam lipoteikoat dan protein adhesin (Doyle dan Rosenberg, 1990).

Saat bakteri masuk ke dalam tubuh *host*, terdapat persaingan antara terjadinya infeksi oleh bakteri atau eliminasi bakteri oleh *host* (Prince dan Wilson, 2002). Ketika *S. mutans* berhasil melakukan invasi ke jaringan gigi yang lebih dalam, bakteri dan toksinnya yang menembus tubuli dentin serta mencapai pulpa akan menyebabkan reaksi inflamasi, yang merupakan reaksi jaringan tubuh terhadap invasi organisme mikro patogen (Purnamasari, 2014). Inflamasi pada jaringan pulpa gigi dapat menyebabkan penyakit pulpitis. Pulpitis adalah proses inflamasi pada jaringan pulpa gigi yang umumnya merupakan kelanjutan dari proses karies, dan apabila tidak dirawat dapat menyebabkan kematian pulpa (nekrosis). Eksudat inflamasi yang cukup banyak menumpuk dan menyebabkan rasa sakit karena adanya tekanan pada ujung saraf (Soerono, 2003).

Neutrofil merupakan salah satu jenis leukosit yang berperan pada respon inflamasi. Neutrofil merupakan leukosit yang berperan terhadap proses fagositosis, yaitu dengan cara membantu membersihkan tubuh dari benda asing, termasuk invasi patogen melalui peningkatan sistem imun (Purnamasari, 2014). Fagositosis adalah salah satu cara tubuh untuk mempertahankan diri dari agen infeksius. Pertahanan ini terdiri dari proses penelanan dan pencernaan mikroorganisme serta toksin. Sel fagosit utama tubuh adalah neutrofil (Sloane, 2002).

Neutrofil berperan penting pada respons radang akut, beberapa jam setelah dimulai radang akut, terjadi peningkatan jumlah neutrofil 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 neutrofil ke dalam sirkulasi untuk segera menuju daerah radang (Guyton dan Hall, 2007).

Kusumawati (1997) dalam penelitiannya menyatakan bahwa Aspek imunologi, umumnya terkait secara menyeluruh dengan terapi infeksi. Respon imun yang timbul akibat suatu infeksi dapat memberikan proteksi terhadap adanya invasi benda asing, tetapi pada hal-hal tertentu dapat menyebabkan keadaan yang merugikan misalnya adanya reaksi inflamasi yang menimbulkan rasa sakit dan panas. Di samping itu juga, bila respon inflamasi menyimpang dari kebiasaan, dapat terjadi

masalah yang serius. Banyak penyakit yang dihadapi para klinisi disebabkan respon inflamasi yang tidak terkendali. Pengobatan dari penyakit-penyakit tersebut adalah terapi dengan antiinflamasi. Berdasarkan keterkaitan aspek imunologis dengan aktivitasnya sebagai antiinflamasi, maka daun wungu mampu menghambat respons imunologis. Uji aktivitas imunologi tanaman obat terdiri dari uji penapisan yang antara lain: pengaruhnya pada pembentukan antibodi primer, pengaruhnya terhadap sel-sel fagosit, pengaruhnya terhadap sel-sel limfosit dan pengaruhnya terhadap sistem komplemen.

Andiyani pada tahun 2015 dalam penelitiannya menyatakan bahwa ekstrak daun wungu mempunyai efek antiinflamasi dan analgesik. Pada uji skrining fitokimia menunjukkan adanya flavonoid pada ekstrak etanol daun wungu yang berperan sebagai antiinflamasi, sehingga proses inflamasi berkepanjangan dapat dicegah dan respons peradangan dihentikan. Selain itu pada penelitian yang telah dilakukan Atik Kurniawati, dkk ditemukan jenis komponen (zat aktif) dari daun wungu, dengan cara melakukan skrining fitokimia dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan berbagai pereaksi geser, daun wungu (*Graptophyllum pictum* (L) Griff) mempunyai kandungan kimia flavonoid, alkaloid, pectin, saponin, tanin, dan steroid (Kurniawati, 2011). Kandungan kimia yang dimiliki daun wungu memiliki efek antiinflamasi dengan menghambat perlekatan bakteri *E. coli* pada reseptor membran sel neutrofil dengan menurunkan fungsi hidrofoblastis membran sel pada proses perlekatan melalui interaksi hidrofobik (Riza, 2010).

Endang (2005) pada penelitiannya menyatakan ekstrak daun wungu dapat menghambat pertumbuhan *S. mutans* pada plat resin akrilik. Ekstrak daun wungu dengan konsentrasi 40% efektif menghambat pertumbuhan plak pada gigi tiruan lengkap resin akrilik. Penelitian yang dilakukan Kusumaningsih (2015) ekstrak etanol daun wungu mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans*. Hasil penelitian yang telah dilakukan menyimpulkan bahwa ekstrak etanol daun wungu (*Graptophyllum pictum* (L) Griff) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *S. mutans* dengan konsentrasi hambat minimal (KHM) sebesar 1,56%, dan konsentrasi bunuh minimal (KBM) sebesar 3,125%.

Berdasarkan uraian diatas, penulis tertarik untuk meneliti tentang peran ekstrak daun wungu (*Graptophyllum Pictum L. Griff*) terhadap adhesi *S. mutans* pada neutrofil.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dapat ditarik rumusan masalah penelitian sebagai berikut :

- a. Apakah pemberian ekstrak daun wungu dapat menghambat adhesi bakteri *S. mutans* pada neutrofil ?
- b. Apakah terdapat perbedaan indeks adhesi bakteri *S. mutans* antara ekstrak daun wungu konsentrasi 3,125%, 6,25%, 12,5%, dan 25% ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu :

- a. Untuk mengetahui pemberian ekstrak daun wungu terhadap adhesi bakteri *S. mutans* pada neutrofil.
- b. Untuk mengetahui perbedaan indeks adhesi bakteri *S. mutans* antara ekstrak daun wungu konsentrasi 3,125%, 6,25%, 12,5%, dan 25%.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat :

- a. Memberi informasi mengenai ekstrak daun wungu terhadap adhesi bakteri *S. mutans* pada neutrofil.
- b. Sebagai dasar penelitian lebih lanjut yang terkait.
- c. Sebagai pertimbangan dalam penggunaan ekstrak daun wungu sebagai alternatif terapi alami.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Daun Wungu

Daun Wungu (*Graptophyllum pictum* (L) Griff) sering ditemukan tumbuh liar di pedesaan, atau ditanam sebagai tanaman hias dan tanaman pagar. Daun wungu berasal dari Irian dan Polynesia (Dalimartha, 1999). Daun wungu biasanya digunakan dalam pengobatan diuretik (batang atau daunnya), melancarkan haid (bunganya), dan daunnya digunakan untuk pengobatan antiinflamasi, sembelit, ambeien, reumatik, bisul dan pencahar ringan (Pidada, 2009).



Gambar 2.1 Daun Wungu berdaun tunggal, tersusun saling berhadapan, dengan panjang 15 – 25 cm dan lebar 5–11 cm, dengan helaian daun tipis, dengan ujung runcing, pertulangan menyirip dan permukaan mengkilat (Dokumentasi pribadi, 2017).

2.1.1 Klasifikasi Tanaman Daun Wungu

Secara taksonomi, daun wungu dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Subdivisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledonae</i>
Bangsa	: <i>Solanales</i>
Suku	: <i>Acanthaceae</i>
Marga	: <i>Grathophyllum</i>
Jenis	: <i>Grathophyllum pitum Griff</i>
Nama umum	: Daun Ungu / Daun Wungu
Nama Daerah :	
Sumatra	: Pudin (Simalur)
Jawa	: Daun ungu (Jawa Tengah) Handeleum (Sunda) Karaton (Madura)
Bali	: Temen (Perwita, 2011).

2.1.2 Morfologi Daun Wungu

Daun wungu memiliki batang tegak, berwarna ungu, dan penampang batangnya berbentuk mendekati segi tiga tumpul. Ukurannya kecil dan tingginya hanya dapat mencapai 3 meter. Bunga bersusun dalam satu rangkaian tandan yang berwarna merah tua (Santoso, 2013). Perbungaan majemuk, keluar di ujung batang, tersusun dalam rangkaian berupa tandan yang panjangnya 3 - 12 cm. Buahnya buah kotak, bentuknya lonjong, warnanya ungu kecoklatan. Biji kadang – kadang 2, bentuknya bulat, warnanya putih. Kulit dan daun berlendir dan baunya kurang enak. Cabang bersudut tumpul, berbentuk galah dan beruas rapat. Daun tunggal, bertangkai pendek, letaknya berhadapan bersilang, bulat telur sampai lanset, ujung dan pangkal runcing, tepi bergelombang, tepi pertulangan menyirip, panjang 8 – 20 cm, lebar 3 - 13 cm, permukaan atas warnanya ungu mengkilap (Dalimartha, 1999).

2.1.3 Habitat Daun Wungu

Daun wungu dapat ditemukan dari dataran rendah sampai pegunungan dengan ketinggian 1.250 meter di atas permukaan laut. Tanaman ini dapat tumbuh dengan baik pada tempat terbuka yang banyak terkena sinar matahari, dengan iklim kering atau lembab (Dalimartha, 1999).

2.1.4 Kandungan Kimia Daun Wungu

Daun tumbuhan ini mengandung alkaloida yang tidak beracun, glikosida, steroida, saponin, klorofil dan lendir. Batang daun tumbuhan wungu mengandung kalsium oksalat, asam formik, dan lemak (Dalimartha, 1999). Selain itu daun wungu juga memiliki kandungan kimia triterpenoid, flavonoid, alkaloid, dan tanin.

Tabel 2.1 Hasil skrining fitokimia daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff)

No	Pemeriksaan	Hasil
1.	Triterpenoid/steroid bebas	+
2.	Alkaloid	+
3.	Flavonoid	+
4.	Glikosida	+
5.	Saponin	+
6.	Tanin	+

(+) ada golongan senyawa (Erlin, dkk., 2011)

Triterpenoid merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam berbagai tanaman. Senyawa ini dapat ditemukan pada bagian akar, batang, daun, buah, maupun biji tanaman. Triterpenoid memiliki ikatan karbon yang berasal dari enam satuan isoprene yang merupakan turunan dari hidrokarbon C₃₀ asiklik yang memiliki gugus alkohol, aldehida, atau asam karboksilat. Senyawa triterpenoid ini memiliki nilai ekologi karena senyawa ini bekerja sebagai antifungi, insektisida, antibakteri dan antivirus (Indriana, 2017).

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman hijau, kecuali alga. Flavonoid termasuk senyawa fenolik alam yang potensial sebagai antioksidan dan mempunyai bioaktivitas sebagai obat. Flavonoid

umumnya terdapat dalam tumbuhan baik sebagai aglikon (tidak terikat pada gula) maupun sebagai glikosida (terikat pada gula). Umumnya flavonoid dalam bentuk aglikon (tanpa terikat dengan gula) dalam jumlah kecil sering hadir dan ditemukan dalam proporsi penting dari total senyawa flavonoid dalam tanaman. Manfaat flavonoid antara lain adalah untuk meningkatkan efektivitas vitamin C, antiinflamasi, antioksidan, sebagai antibiotik, untuk melindungi struktur sel, dan sebagai antibakteri (Waji, 2009). Flavonoid merupakan golongan terbesar senyawa fenol. Senyawa fenol dalam daun wungu bersifat antibakteri, senyawa ini dapat mengikat protein karena sifatnya yang mampu menambah permeabilitas sel dan mengendapkan protein. Senyawa fenol bekerja dengan mekanisme merusak sel bakteri melalui denaturasi protein yang akan mengubah sifat protein dan menyebabkan terganggunya metabolisme dan aktivitas pembentukan sel bakteri yang berujung pada kerusakan sel bakteri. Kerusakan sel tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan membunuh bakteri (Irianto, 2016).

Alkaloid mempunyai kemampuan menghambat kerja enzim untuk mensintesis protein bakteri. Alkaloid juga dapat merusak komponen penyusun dinding sel sehingga menyebabkan kematian bakteri (Irianto dkk., 2016). Saponin juga diketahui memiliki beberapa efek farmakologi seperti immunomodulator, antitumor, antiinflamasi, antivirus, antibakteri dan antijamur. Senyawa saponin diketahui memiliki kemampuan berdifusi dengan membran dan dinding sel bakteri sehingga dapat menyebabkan sitoplasma bocor dan keluar dari sel yang mengakibatkan sel bakteri mengalami lisis (Indriana, 2017).

Tanin adalah senyawa polifenol dari kelompok flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan kuat, anti peradangan, dan antikanker. Tanin merupakan senyawa polifenol yang mampu mengkerutkan membran sel sehingga mengganggu pertumbuhan bakteri. Senyawa tanin ditemukan pada banyak jenis tumbuhan yang berperan penting untuk melindungi tumbuhan dari pemangsa oleh herbivora dan hama (Sulaksono dkk., 2015).

2.2 Bakteri *Streptococcus mutans*

2.2.1 Taksonomi *Streptococcus mutans*

Taksonomi *Streptococcus mutans* adalah sebagai berikut:

Kingdom : *Monera*

Divisio : *Firmicutes*

Class : *Bacili*

Order : *Lactobacilalles*

Family : *Streptococcaceae*

Genus : *Streptococcus*

Species : *Streptococcus mutans*(Fatmawati, 2011).

Streptococcus mutans diklasifikasikan berdasarkan serotype menjadi 8 kelompok yaitu serotype “a” sampai “h”. Pembagian serotype ini berdasarkan perbedaan karbohidrat pada dinding sel. Akan tetapi, berdasarkan hibridasi DNA bakteri ini dibagi menjadi 4 kelompok genetik. Pembagian ini berdasarkan prosentase basa DNA yaitu guanine dan sitosin. Strain *S. mutans* yang banyak terdapat pada manusia adalah serotype c, e dan (36 % to 38% G + C), dimana *S.mutans* serotype c merupakan bakteri utama penyebab karies gigi (Fatmawati, 2011).



Gambar 2.2 *Streptococcus mutans* yang memiliki bentuk kokus yang sendiri, bulat atau bulat telur dan tersusun dalam rantai (Nugraha, 2008).

2.2.2 Morfologi dan Habitat *Streptococcus mutans*

Streptococcus mutans merupakan bakteri gram positif, bersifat non motil (tidak bergerak), bakteri anaerob fakultatif. Memiliki bentuk kokus yang sendirian berbentuk bulat atau bulat telur dan tersusun dalam rantai. Bakteri ini tumbuh secara optimal pada suhu sekitar 18°- 40° C. *S. mutans* biasanya ditemukan pada rongga gigi manusia yang luka, habitat utama *S. mutans* adalah permukaan gigi namun bakteri ini tidak dapat tumbuh secara bersama ke seluruh permukaan gigi melainkan sering tumbuh pada area tertentu pada permukaan gigi. Biasanya kita dapat menemukan koloni *S. mutans* dalam pit dan fisur, permukaan oklusal, area proksimal permukaan gigi, gingiva atau pada lesi karies gigi yang sudah mencapai pulpa, dan menjadi bakteri yang paling kondusif menyebabkan karies (Nugraha, 2008).

2.2.3 Patogenesis *Streptococcus mutans*

Streptococcus mutans merupakan kuman yang kariogenik karena mampu segera membentuk asam dari karbohidrat yang dapat diragikan. Kuman tersebut dapat tumbuh subur dalam suasana asam dan dapat menempel pada permukaan gigi karena kemampuannya membuat polisakarida ekstra sel. Polisakarida ekstra sel ini terutama terdiri dari polimer glukosa yang menyebabkan matriks plak mempunyai konsistensi seperti gelatin, akibatnya bakteri terbantu untuk melekat pada gigi serta saling melekat satu sama lain. Plak makin lama makin tebal, sehingga akan menghambat fungsi saliva untuk melakukan aktivitas antibakterinya, sehingga proses pelarutan email gigi berjalan lebih cepat (Pratiwi, 2004).

2.2.4 Mekanisme Perlekatan Dinding Sel Bakteri Dengan Sel Inang

Bakteri mengadakan perlekatan dengan sel inang dengan interaksi hidrofobik, yaitu perlekatan antara partikel hidrofobik (menolak air) pada membran sel bakteri dengan membran sel inang. Bakteri *S. mutans* juga difagosit melalui mekanisme awal perlekatan dengan bantuan opsonisasi oleh imunoglobulin dan aktivasi komplemen. Proses opsonisasi dimulai dengan melapisi partikel antigen (*S. mutans*) oleh antibodi (imunoglobulin) dan komponen komplemen sehingga lebih mudah

terjadi perlekatan diantara *S. mutans* dan sel imun / neutrofil, dimana membran neutrofil memiliki reseptor yang sesuai (Baratawidjaja, 1996).

Neutrofil berikatan dengan antigen melalui reseptor yaitu reseptor fraksi Fc antibodi dan komplemen yang diaktifkan. Reseptor Fc antibodi akan berikatan dengan antibodi (imunoglobulin) yang melekat pada antigen / bakteri gram positif, sedangkan reseptor komplemen yang diaktifkan akan berikatan dengan komplemen yang diaktifkan, dalam hal ini komplemen C3b (Rakhmawati, 2012).

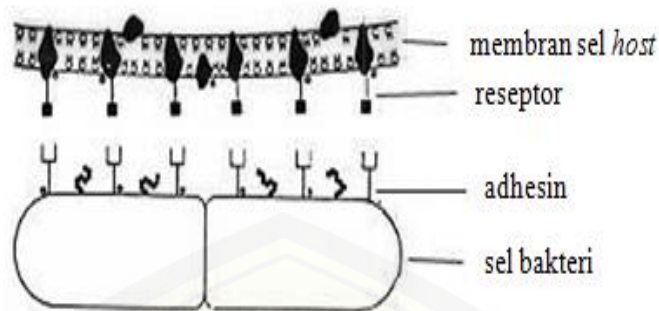
2.3 Adhesi

2.3.1 Mekanisme Adhesi

Kata *adhesive* berasal dari bahasa latin *adhaerere* yang berarti melekat. Secara terminology 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).

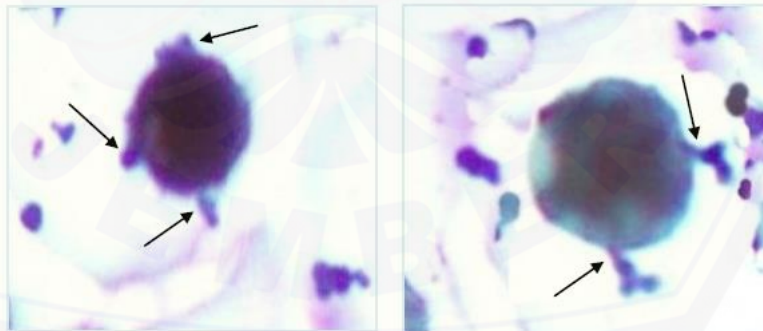
Proses adhesi adalah merupakan tahap awal infeksi bakteri yang berperan dalam kolonisasinya pada permukaan sel inang. Adhesi bakteri pada permukaan sel memperpendek jarak antara bakteri dengan permukaan tubuh sehingga mempermudah toksin atau metabolit lain yang dihasilkan bakteri untuk melekat pada reseptornya di permukaan sel inang (Pratiwi, 2012).

Adhesi bakteri pada permukaan jaringan atau sel inang dapat terjadi apabila terdapat dua komponen, yaitu reseptor dan adhesin. Reseptor adalah komponen yang berupa residu peptida dan karbohidrat spesifik pada permukaan sel. Sedangkan adhesin bakteri adalah komponen makromolekul yang terdapat pada permukaan sel bakteri yang berinteraksi secara spesifik dengan reseptor sel inang, seperti *fimbriae*, *outer membran protein* (OMP), serta kapsul polisakarida (Todar dalam Santosaningsih, 2003).

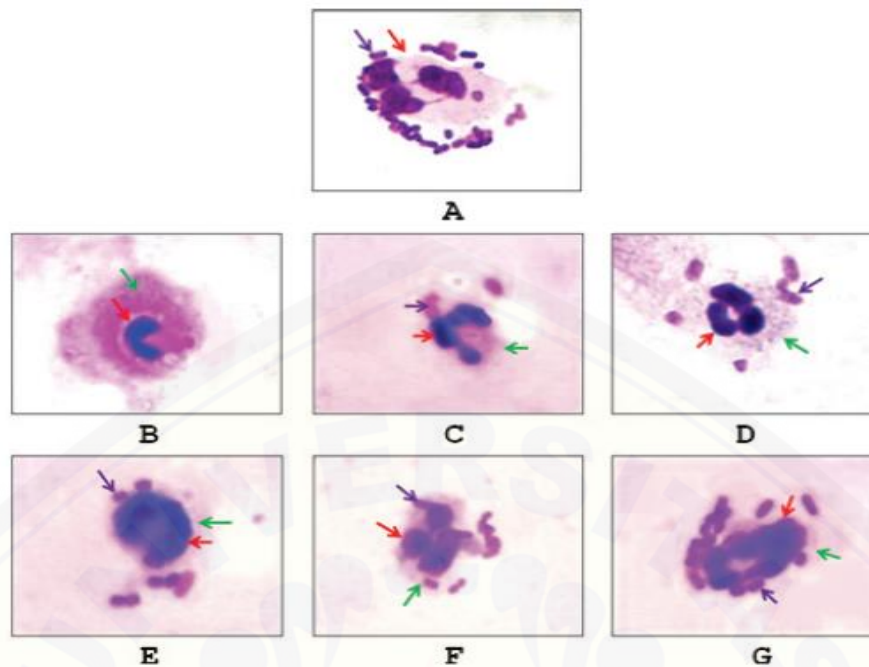


Gambar 2.3 Struktur yang berperan dalam proses adhesi (Todar, 2008)

Perlekatan bakteri pada sel inang berfungsi sebagai penetap dan dapat merupakan langkah awal proses infeksi. Proses ini dipengaruhi oleh interaksi komponen permukaan bakteri dan sel inang dengan faktor lingkungan yang dapat mendukung, seperti *fibrinectin* (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 and Rosenberg, 1990). Bakteri mengadakan perlekatan dengan sel inang dengan interaksi hidrofobik, yaitu perlekatan antara partikel hidrofobik (menolak air) pada membran sel bakteri dengan membran sel inang (Rakhmawati, 2012).



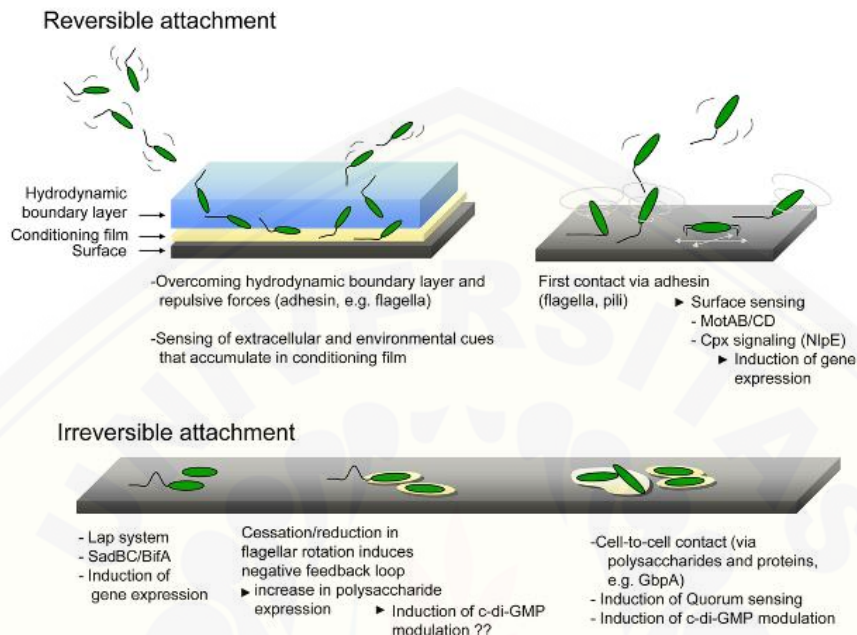
Gambar 2.4 Gambaran mikroskopis adhesi *S. mutans* pada sel neutrofil yang diinkubasi ekstrak polifenol 100% tampak adhesi *S. mutans* (tanda panah) dengan pengecatan giemza pada pembesaran 1000x (Rakhmawati, 2012)



Gambar 2.5 Uji Hambat Adhesi *P. gingivalis* oleh Protein Hemagglutinin OMP 49,4 kDa pada Neutrofil. Gambar A menunjukkan adhesi pada sel neutrofil tanpa hambatan OMP 49,4 kDa. Gambar B-G menunjukkan perbedaan indeks adhesi akibat hambatan OMP 49,4 kDa dengan pengenceran konsentrasi bertingkat, masing-masing konsentrasi 100%; 50 %; 25%; 12,5%; 6,25% dan 3,125%.
 → *P. gingivalis* → neutrofil → OMP *P. gingivalis* dengan Pewarnaan Giemsa perbesaran 1000 x (Mubarokah, 2009).

Sel neutrofil akan merespon adanya bakteri *S. mutans* yang masuk karena sel neutrofil aktif pada awal inflamasi yang diawali dengan proses perlekatan. Proses pelekatan ini terjadi karena adanya interaksi antara komponen permukaan bakteri dan sel inang. Proses adhesi dapat dibedakan dalam dua bentuk, yaitu bersifat spesifik dan stabil (*irreversible*) serta adhesi yang tidak spesifik dan labil (*reversible*) (Rakhmawati, 2012). 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. Semakin tinggi adhesi *S. mutans* pada sel neutrofil dapat mengakibatkan sel neutrofil mengalami lisis dan dapat terjadi pengeluaran cairan intraselular. Hal ini dikarenakan

sel neutrofil hanya mampu memfagositosis 3 – 20 bakteri kemudian sel neutrofil akan menjadi inaktif dan lisis (Pratiwi,2012).



Gambar 2.6 Proses adhesi yang dibedakan dalam dua bentuk, yaitu bersifat tidak spesifik (*reversible*) dimana perlekatan umumnya tidak kuat dan bersifat sementara dan adhesi spesifik (*irreversible*) yang bersifat kuat (Petrova, 2012).

2.3.2 Perhitungan Indeks Adhesi

Adhesi merupakan gaya tarik menarik atau daya mengumpul antara molekul-molekul dari partikel lain. Bila dua zat berkontak erat satu sama lain, molekul dari 1 zat mendekat atau ditarik ke molekul dari zat lainnya, gaya ini disebut adhesi (Annusavice, 2004). Proses adhesi merupakan tahap awal infeksi bakteri yang berperan dalam kolonisasi bakteri pada permukaan sel inang. Terdapat beberapa cara untuk menghitung indeks adhesi pada bakteri, antara lain :

1. Menurut Rakhmawati pada tahun 2012 :

- a. Melakukan perhitungan dengan cara menghitung jumlah bakteri yang menempel per 100 sel neutrofil, dengan dua kali pengulangan, dan diambil rata-ratanya pada semua konsentrasi dan kelompok kontrol.
- b. Kemudian dipilih 75 sel tiap kelompok perlakuan untuk dilakukan uji analisis data dengan menggunakan acuan data yang paling sering muncul (modus).

2. Menurut Mubarokah pada tahun 2009 :

Penghitungan indeks adhesi dilakukan dengan cara menghitung jumlah bakteri yang melekat pada setiap sel yang dihitung pada 100 sel menggunakan mikroskop inverted kemudian dihitung rata-ratanya. Perhitungan indeks adhesi dilakukan dengan rumus:

$$\text{indeks adhesi} = \frac{\text{jumlah } S. mutans \text{ yang melekat per neutrofil (100 neutrofil)}}{\text{jumlah total neutrofil yang dihitung (=100)}}$$

3. Menurut Pratiwi pada tahun 2012 :

a. Melakukan perhitungan dengan cara menghitung jumlah bakteri yang menempel per neutrofil sampai jumlah neutrofil keseluruhan per satu lapang pandang, dengan dua kali pengulangan.

b. Indeks adhesi dihitung dengan menggunakan rumus sebagai:

$$\text{indeks adhesi} = \frac{\text{jumlah bakteri yang melekat per neutrofil}}{\text{jumlah total neutrofil keseluruhan}}$$

2.4 Neutrofil

2.4.1 Morfologi Neutrofil

Neutrofil adalah leukosit granular matur polimornuklear, yaitu inti memiliki hingga lima lobus yang dihubungkan oleh benang kromatin tipis, dan sitoplasma mengandung granula halus (Dorland, 2006). Leukosit darah terdiri dari suatu kumpulan sel-sel berinti yang satu sama lain berbeda morfologi dan fungsinya. Normalnya ada 4000 - 11.000 leukosit permikroliter darah manusia (Ganong, 2002). Neutrofil merupakan sel yang paling banyak diantara sel-sel leukosit yang lainnya, yaitu sekitar 60 sampai 70%. Pada saat terjadi infeksi, misalnya oleh bakteri, jumlah neutrofil menjadi meningkat mencapai 10.000 - 15.000 sel per mm³. Selanjutnya sel-sel neutrofil akan bergerak menerobos dinding pembuluh darah dan menyerang (memakan) bakteri tersebut (Sudjadi, 2007).

Neutrofil diklasifikasikan sebagai *polymorphonuclear cells* (PMNs), hal ini dikarenakan karakteristik dari intinya yang berbentuk *multi lobus*. Struktur neutrofil terdiri dari mitokondria, sedikit badan golgi kompleks, poli ribosom, glikogen dan granula - granula, berdiameter 12-15 µm, inti bergelambir 2-5 yang dihubungkan oleh

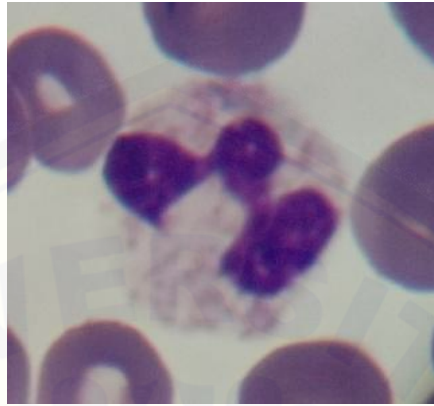
lapisan tipis dan sitoplasmanya bergranul yang bersifat eosinofilik dan basofilik (Dellmann dan Eurell, 1998). Neutrofil yang telah matang ditandai dengan adanya inti yang berlobus-lobus yang dihubungkan oleh filamen dan lebih dikenal dengan nama sel yang bersegmentasi (*segmented cells*), sedangkan sel neutrofil yang belum matang masih memiliki satu buah lobus yang terlihat seperti pita yang disebut neutrofil muda (neutrofil *band*) (Foster dkk., 2008).

Membran sel neutrofil berfungsi sebagai barier semi permeabel 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. Komposisi membran sel adalah protein 55%, fosfolipid 25%, kolesterol 13%, lipid lain 4%, dan karbohidrat 3% (Guyton dan Hall, 1997).

Protein pada membran sel sebagian besar tersusun atas glikoprotein. Salah satunya terdiri dari protein integral yang memiliki fungsi sebagai reseptor. Dalam hal ini protein integral yang tersebar di membran sel berfungsi sebagai sarana penyampaian informasi mengenai lingkungan di luar ke dalam sel. Pada neutrofil reseptor ini berupa reseptor Fc (FcR) dan reseptor C3b (C3bR) yang berinteraksi dengan sebuah antibodi yang diangkut darah yaitu IgG dan sebuah komponen komplemen dari plasma darah yaitu C3b, yang melekat pada permukaan bakteri pada proses opsonisasi (Guyton dan Hall, 1997).

Neutrofil memiliki umur yang pendek, hanya beberapa hari. Terdapat granula yang mengandung sejumlah faktor bakterisidal. Granulosit (neutrofil) mengandung sedikitnya dua tipe granula, yaitu : (1) Azurofil atau granula primer dan (2) granula sekunder atau spesifik (Jawetz, 2005). Granula primer ini berdiameter 0,4 mikron mengandung lisozim, enzim hidrolitik lain dan beberapa protein kationik serta defensin, suatu antimikroba. Granula yang sekunder atau spesifik mengandung laktoferin dan beberapa jenis enzim termasuk kolagenase.

Kedua jenis granula ini penting dalam penghancuran benda-benda yang ditelan dan dalam pembunuhan mikroorganisme. Produksi dan pelepasan granula diduga dibawah pengendalian faktor seluler humoral (Jawetz, 2005).



Gambar 2.7 Sel neutrofil yang memiliki nukleus dengan dua hingga lima lobus diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000x (Gaut, 2001)

2.4.2 Mekanisme Neutrofil dalam Pertahanan Tubuh

Neutrofil merupakan sel pertahanan tubuh non spesifik yang pertama kali mengatasi adanya antigen dengan memfagosit antigen tersebut. Neutrofil berperan penting pada respon radang akut, dimana terjadi perubahan-perubahan vaskuler dan eksudasi. Beberapa jam setelah dimulai radang akut, terjadi peningkatan jumlah neutrofil 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 neutrofil-neutrofil ke dalam sirkulasi untuk segera menuju daerah radang. Di dalam jaringan neutrofil memiliki sifat yaitu diapedesis, ameboid, kemotaksis dan fagositosis (Guyton dan Hall, 1997).

Secara in-vivo, proses fagositosis diawali dengan migrasi neutrofil. Celah antara sel endotel pembuluh darah dilewati dengan cara diapedesis. Jadi walaupun ukuran celahnya jauh lebih kecil daripada besarnya sel, pada suatu ketika sebagian kecil sel tersebut meluncur dan berkonstriksi sesuai dengan ukuran celah tersebut. Kemudian selanjutnya neutrofil bergerak melalui jaringan dengan gerakan ameboid.

Beberapa sel dapat bergerak dengan kecepatan sebesar 40 $\mu\text{m}/\text{menit}$, beberapa kali panjangnya sendiri tiap menit (Guyton dan Hall, 1997).

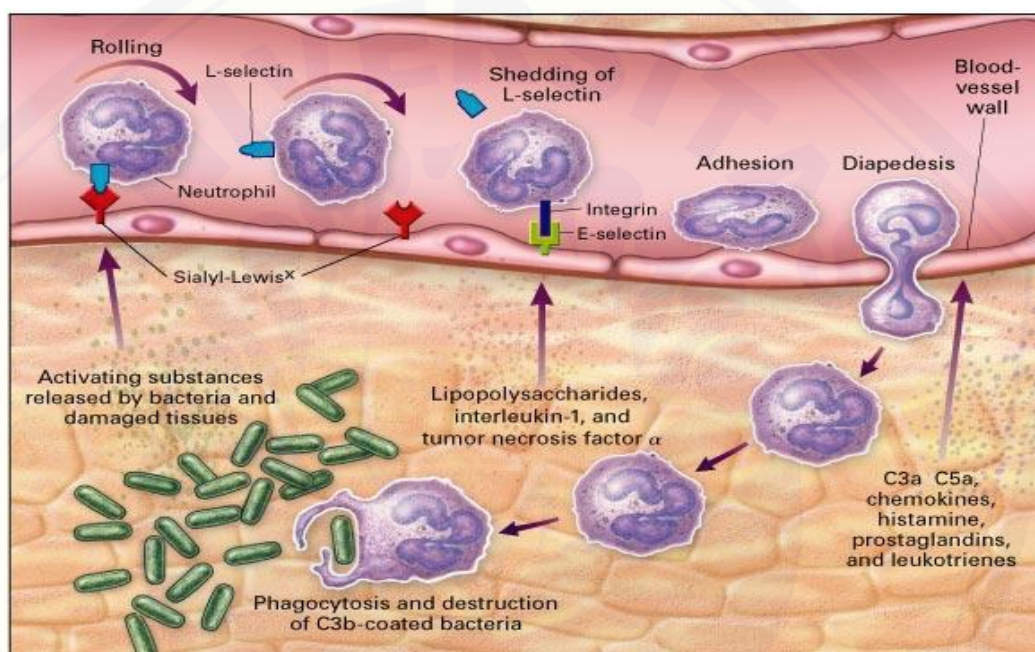
Neutrofil menuju jaringan terinfeksi dengan cara merangkak dan diarahkan oleh suatu kemotaktik faktor (kemoatraktan) sehingga neutrofil akan bergerak ke arah konsentrasi kemoatraktan lebih tinggi. Kemoatraktan yang mengarahkan gerak neutrofil antara lain adalah produk bakterial, formil-methionil-leucocil-protein (F-MLP), lektin, komplemen C5a, kalikrein dan faktor Hageman (Ferencik, 1993). Sejumlah zat kimia dalam jaringan menyebabkan leukosit bergerak mendekati atau menjauhi sumber zat kimia. Fenomena ini dikenal sebagai hasil kemotaksis. Hasil-hasil degenerasi jaringan yang meradang khususnya jaringan polisakarida dan salah satu hasil reaksi zat-zat kompleks yang dinamakan komplemen dapat menyebabkan neutrofil bergerak mendekati daerah peradangan. Selain itu sejumlah toksin bakteri dapat menyebabkan kemotaksis leukosit (Guyton dan Hall, 1997).

Kemotaksis tergantung dari adanya gradien konsentrasi zat kemotaksis. Konsentrasi paling besar tergantung pada sumber dan waktu zat menyebar dengan difusi menjauhi sumbernya, konsentrasinya berkurang sebanding jarak kuadrat. Pada sisi sel yang menjauhi zat kemotaktik, konsentrasinya lebih sedikit dari pada tempat yang menuju sumber. Konsentrasi yang tersebar pada salah satu sisi menyebabkan pseudopodi menonjol ke arah sumber dari zat kemotoksik (Guyton dan Hall, 1997).

Setelah berada di lokasi di mana bakteri tersebut berada, akan terjadi perlekatan antara bakteri dengan neutrofil. Perlekatan tersebut dipermudah oleh proses opsonisasi, sehingga opsonin yang mengikat bakteri mudah melekat pada reseptornya di membran neutrofil. Setelah melekat, neutrofil akan membentuk pseudopodia yang dijulurkan di sekitar bakteri, mengelilingi bakteri dan berfusi membentuk vesikel vakuola fagosom. Membran yang menyelimuti bakteri, sedikit demi sedikit menjauh dari permukaan membran dan fagosom dimasukkan ke dalam sel. Bakteri yang berada dalam fagosom selanjutnya dibunuh oleh mekanisme bakterisidal (Ferencik, 1993; Bellanti, 1994).

Fungsi neutrofil yang paling penting adalah fungsi fagositosis. Sebenarnya fagositosis harus memilih zat yang akan difagosit, karena bila tidak, sebagian dari struktur tubuh sendiri akan dimakan. Sebuah sel neutrofil dapat memfagosit 5-20

bakteri sebelum sel neutrofil itu sendiri menjadi inaktif dan mati. Keberhasilan proses fagositosis dipengaruhi oleh faktor neutrofil, bakteri yang difagosit dan lingkungan. Faktor neutrofil yakni 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 (Wahyuningsih, 2009).



Gambar 2.8 Neutrofil pada radang akut (Nathael, 2004)

2.5 Inflamasi Pada Pulpa Gigi

Penyakit pulpa gigi yang banyak terjadi yaitu pulpitis. Pulpitis adalah proses inflamasi pada jaringan pulpa gigi yang umumnya merupakan kelanjutan dari proses karies, dan apabila tidak dirawat dapat menyebabkan kematian pulpa atau yang biasa disebut nekrosis (Soerono, 2003). Inflamasi merupakan reaksi tubuh terhadap bahan infasi, bahan infeksi, antigen atau merupakan cedera fisik, pada reaksi ini terjadi tiga proses utama yaitu: (1) aliran darah ke daerah inflamasi meningkat; (2) permeabilitas kapiler meningkat; (3) leukosit, netrofil dan makrofag, lalu limfosit keluar dari

kapiler dan menuju jaringan sekitarnya dan menuju jaringan yang cedera dengan pengaruh stimulus kemotaktik (Noer dan Wasradji, 1996).

Ciri khas inflamasi dikenal dengan tanda-tanda utama inflamasi, yaitu: (a) *Eritema* (kemerahan), kemerahan terjadi pada tahap pertama dari proses inflamasi. Darah berkumpul pada daerah cedera jaringan akibat pelepasan mediator kimia tubuh (kinin, prostaglandin, histamin); (b) *edema* (pembengkakan) pembengkakan yaitu tahap kedua dari inflamasi. Plasma merembes ke dalam jaringan intestinal tempat cedera. Kinin mendilatasi arteriol meningkatkan permeabilitas kapiler; (c) *kolor* (panas), panas pada tempat inflamasi disebabkan oleh bertambahnya pengumpulan darah dan mungkin juga karena pirogen (substansi yang menimbulkan demam) yang mengganggu pusat pengatur panas di hipotalamus; (d) *dolor* (nyeri), nyeri disebabkan oleh pembengkakan dan pelepasan mediator-mediator kimia; (e) *functio laesa* (hilangnya fungsi), karena penumpukan cairan pada tempat cedera jaringan, rasa nyeri, mengurangi mobilitas pada daerah inflamasi (Kee dan Hayes, 1996).

Penyebab paling umum inflamasi pada pulpa adalah penetrasi bakteri karies, seperti *Streptococcus mutans*, *Actinomyces spp* dan bakteri golongan lainnya (Soerono, 2003). Bakteri dapat masuk ke dalam pulpa melalui tiga cara: (1) invasi langsung melalui dentin, seperti misalnya karies, fraktur mahkota atau akar, terbukanya pulpa pada saat preparasi kavitas, atrisi, abrasi, erosi, atau retak pada mahkota; (2) invasi melalui pembuluh darah atau limfatik terbuka, yang ada hubungannya dengan penyakit periodontal, suatu kanal aksesori pada daerah furkasi, infeksi gingiva, atau pada saat skelling gigi; (3) invasi melalui darah, misalnya selama penyakit infeksius atau bakteremia resisten. Bakteri dapat menembus dentin pada saat preparasi kavitas karena kontaminasi lapisan smear, karena penetrasi bakteri pada tubuli dentin terbuka disebabkan oleh proses karies, dan oleh masuknya bakteri karena tindak operatif yang tidak steril. Bakteri dan toksin menembus tubuli dentin dan saat mencapai pulpa akan dapat menyebabkan reaksi inflamasi (Grossman, 2005).

Spesies bakteri *Streptococcus mutans* akan berkoloni dan menimbulkan cedera jaringan pulpa yang lebih luas dan dalam, serta mengubah sistem mikrosirkulasi jaringan pulpa. Diawali dengan vasodilatasi sistem mikrovaskularisasi

yang menyebabkan sirkulasi darah menjadi statis kemudian terjadi mobilisasi leukosit, sel-sel polimorfonuklear (PMN) mengadakan marginasi yang dilanjutkan dengan emigrasi ke jaringan sekitarnya, disebut keadaan inflamasi akut. Apabila proses berlanjut menjadi kronik, tampak gambaran mikroskopik berupa penyebaran sel-sel radang kronik seperti limfosit, sel plasma, histiosit yang aktif, dan makrofag. Sel-sel tersebut muncul oleh karena proses inflamasi dan berperan dalam mekanisme pertahanan tubuh terhadap jejas yang masuk.

Inflamasi pulpa secara klinis dapat diklasifikasikan menjadi tiga yaitu pulpitis reversible, pulpitis ireversibel dan nekrosis pulpa. Pulpitis reversibel adalah suatu kondisi inflamasi pada pulpa ringan sampai sedang yang disebabkan oleh beberapa stimuli, tetapi pulpa mampu kembali pada keadaan tidak terinflamasi setelah stimuli stimuli diiadakan. Rasa sakit yang berlangsung sebentar dapat dihasilkan oleh stimuli termal pada pulpa yang mengalami inflamasi reversibel, tetapi rasa sakit hilang segera setelah stimuli dihilangkan. Penyebab pulpitis reversibel disebabkan oleh apa saja yang mampu melukai pulpa. Penyebab dapat berasal dari trauma oklusal, syok termal saat preparasi kavitas dengan bur yang terlalu lama, dehidrasi kavitas dengan alkohol atau kloroform yang berlebihan, adanya bakteri yang masuk ke dalam pulpa. Gejala pada pulpitis reversibel ditandai oleh rasa sakit yang tajam namun sebentar saat adanya rangsangan misalnya pada saat makan atau minum. Pada pulpitis reversibel rasa sakit tidak terjadi secara spontan (Grossman, 2005).

Pulpitis ireversibel adalah suatu kondisi inflamasi pulpa yang persisten. Rasa sakit yang ditimbulkan pada pulpitis reversibel berlangsung sangat lama dan tetap ada setelah stimulus dihilangkan. Penyebab paling umum pada pulpitis ireversibel adalah keterlibatan bakterial pulpa melalui karies gigi. Pulpitis reversibel dapat memburuk menjadi pulpitis ireversibel (Grossman, 2005).

Nekrosis pulpa adalah matinya pulpa. Dapat sebagian atau seluruhnya, tergantung pada apakah sebagian atau seluruh pulpa yang terlibat. Penyebab pada nekrosis pulpa yaitu dapat karena trauma, bakteri dan iritasi kimiawi. Gejala yang nampak yaitu diskolorasi gigi yaitu perubahan warna gigi menjadi keabu-abuan atau kecoklat-coklatan yang nyata (Grossman, 2005).

2.6 Ekstraksi

2.6.1 Definisi Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu teknik pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan distribusi zat terlarut diantara dua pelarut yang saling bercampur. Pelarut yang digunakan harus dapat mengekstrak substansi yang diinginkan tanpa melarutkan material lainnya (BPOM RI, 2005).

2.6.2 Metode Ekstraksi

Menurut Departemen Kesehatan RI (2005), ada 3 metode ekstraksi, yaitu:

A. Ekstraksi dengan menggunakan pelarut

1. Cara dingin

a) Maserasi

Maserasi adalah proses pengestrakan simplisia dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi adalah proses pengestrakan simplisia dengan menggunakan pelarut. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinu (terus-menerus). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya.

b) Perlokasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetasan / penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan.

2. Cara panas

a) Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

b) Soxhlet

Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

c) Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan, yaitu sekitar temperatur 40 - 50°C.

d) Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 96-98°C) selama waktu tertentu (15 - 20 menit).

e) Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama (~30°C) dan temperatur sampai titik didih air

B. Destilasi uap

Destilasi uap adalah ekstraksi senyawa kandungan menguap (minyak atisiri) dari bahan (segar atau simplisia) dengan uap air berdasarkan peristiwa tekanan parsial senyawa kandungan menguap dengan fase uap air dari ketel secara kontinu sampai sempurna dan diakhiri dengan kondensasi fase uap campuran (senyawa kandungan menguap ikut terdestilasi) menjadi destilat air bersama senyawa kandungan yang memisah sempurna atau memisah sebagian.

C. Cara ekstraksi lainnya

1. Ekstraksi berkesinambungan.

Proses ekstraksi yang dilakukan berulang kali dengan pelarut yang berbeda atau resirkulasi cairan pelarut dan prosesnya tersusun berturutan beberapa kali. Proses ini dilakukan untuk meningkatkan efisiensi (jumlah pelarut) dan dirancang untuk bahan dalam jumlah besar yang terbagi dalam beberapa bejana ekstraksi.

2. Superkritikal karbondioksida

Penggunaan prinsip superkritik untuk ekstraksi serbuk simplisia, dan umumnya digunakan gas karbondioksida. Dengan variabel tekanan dan temperatur akan diperoleh spesifikasi kondisi polaritas tertentu yang sesuai untuk melarutkan

golongan senyawa kandungan tertentu. Penghilangan cairan pelarut dengan mudah dilakukan karena karbondioksida menguap dengan mudah, sehingga hampir langsung diperoleh ekstrak.

3. Ekstraksi Ultrasonik

Getaran ultrasonik (> 20.000 Hz.) memberikan efek pada proses ekstrak dengan prinsip meningkatkan permeabilitas dinding sel, menimbulkan gelembung spontan (*cavitation*) sebagai stres dinamik serta menimbulkan fraksi interfase. Hasil ekstraksi tergantung pada frekuensi getaran, kapasitas alat dan lama proses ultrasonikasi.

4. Ekstraksi energi listrik

Energi listrik digunakan dalam bentuk medan listrik, medan magnet serta "*electric-discharges*" yang dapat mempercepat proses dan meningkatkan hasil dengan prinsip menimbulkan gelembung spontan dan menyebarkan gelombang tekanan berkecepatan ultrasonik.

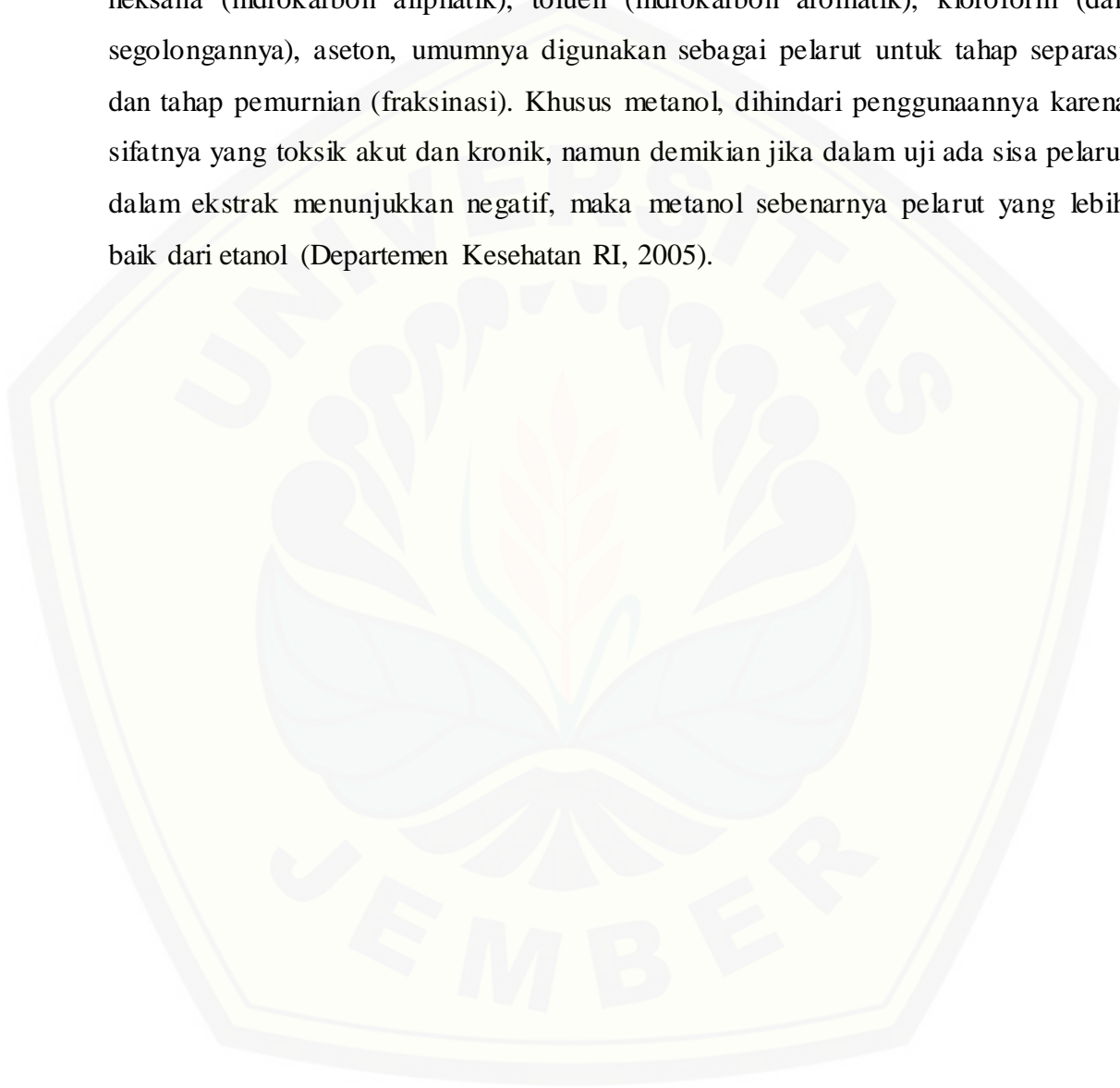
2.6.3 Cairan pelarut

Cairan pelarut dalam proses pembuatan ekstrak adalah pelarut yang baik (optimal) untuk senyawa kandungan yang berkhasiat atau yang aktif, dengan demikian senyawa tersebut dapat terpisahkan dari bahan dan dari senyawa kandungan lainnya, serta ekstrak hanya mengandung sebagian besar senyawa kandungan yang diinginkan. Dalam hal ekstrak total, maka cairan pelarut dipilih yang melarutkan hampir semua metabolit sekunder yang terkandung. Faktor utama untuk pertimbangan pada pemilihan cairan penyari adalah sebagai berikut (Departemen Kesehatan RI, 2005) :

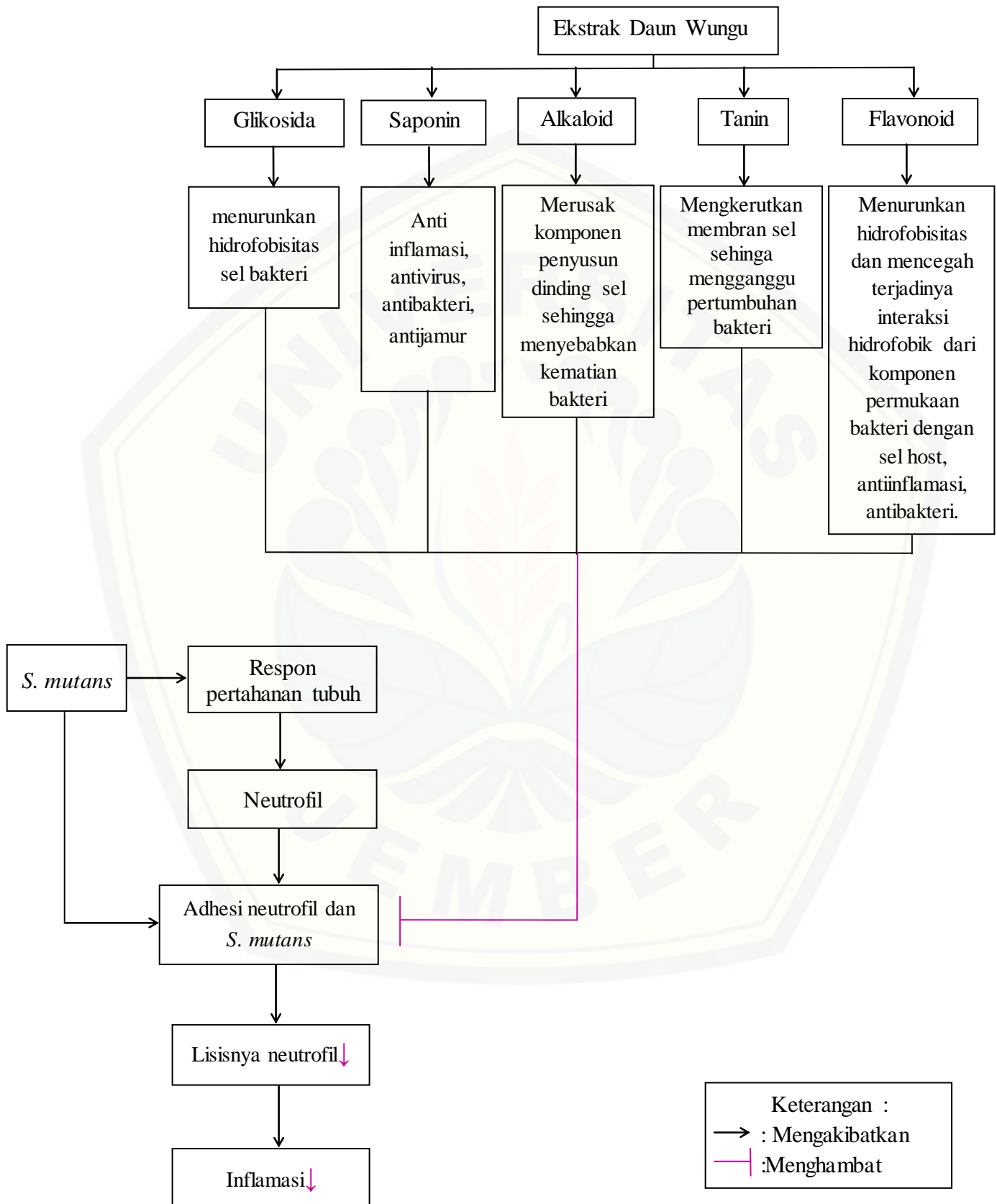
- (1) Selektivitas
- (2) Kemudahan bekerja dan proses dengan cairan tersebut
- (3) Ekonomis
- (4) Ramah lingkungan
- (5) Keamanan

Namun demikian kebijakan dan peraturan pemerintah dalam hal ini juga ikut membatasi, cairan pelarut apa yang diperbolehkan dan mana yang dilarang. Pada

prinsipnya cairan pelarut harus memenuhi syarat kefarmasian atau dalam perdagangan dikenal dengan kelompok spesifikasi "*pharmaceutical grade*". Sampai saat ini berlaku aturan bahwa pelarut yang diperbolehkan adalah air dan alkohol (etanol) serta campurannya. Jenis pelarut lain seperti metanol (alkohol turunannya), heksana (hidrokarbon aliphatik), toluen (hidrokarbon aromatik), kloroform (dan segolongannya), aseton, umumnya digunakan sebagai pelarut untuk tahap separasi dan tahap pemurnian (fraksinasi). Khusus metanol, dihindari penggunaannya karena sifatnya yang toksik akut dan kronik, namun demikian jika dalam uji ada sisa pelarut dalam ekstrak menunjukkan negatif, maka metanol sebenarnya pelarut yang lebih baik dari etanol (Departemen Kesehatan RI, 2005).



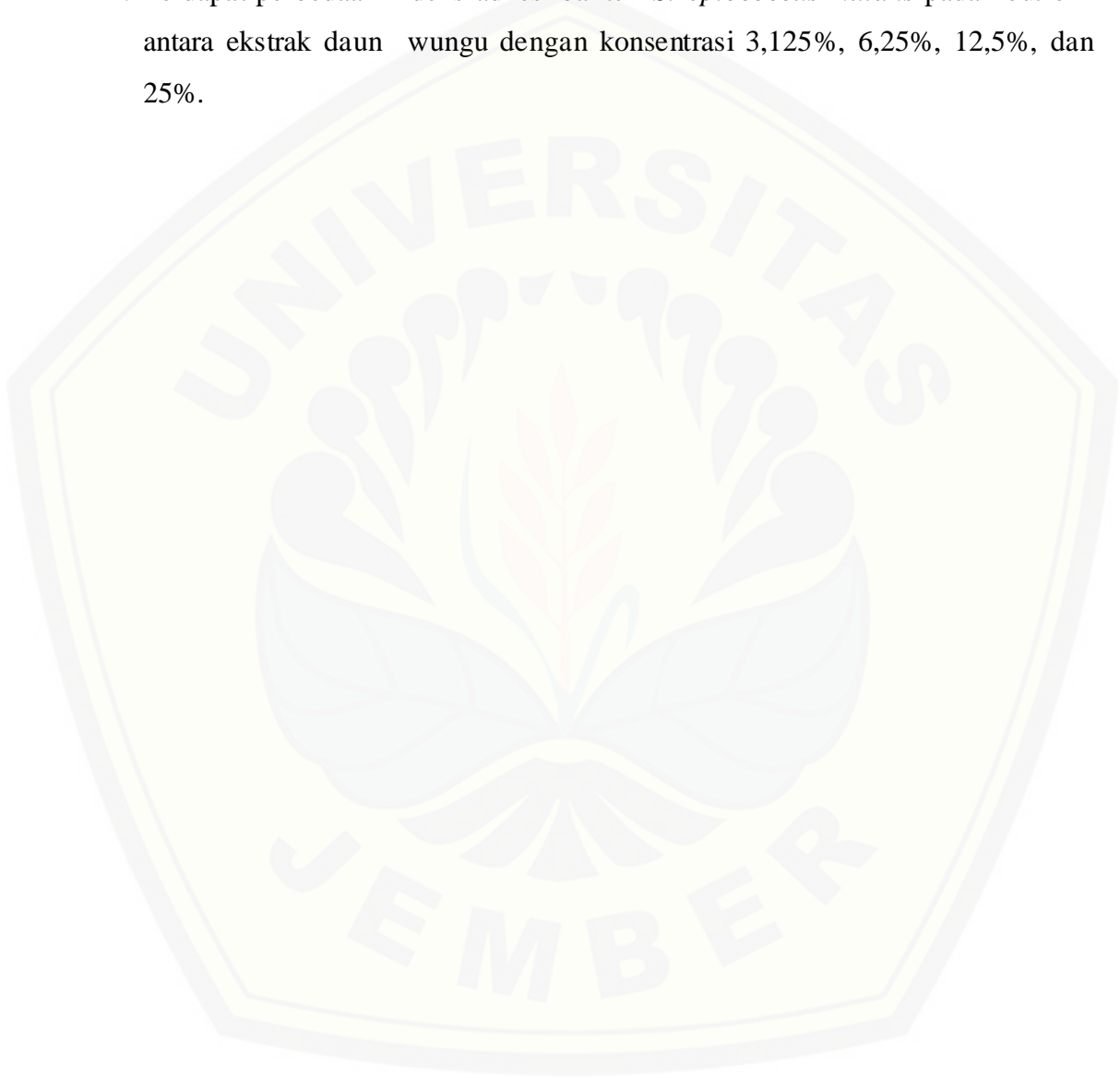
2.6 Kerangka Konsep



2.7 Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini yaitu:

1. Pemberian ekstrak daun wungu dapat menurunkan indeks adhesi bakteri *Streptococcus mutans* pada neutrofil.
2. Terdapat perbedaan indeks adhesi bakteri *Streptococcus mutans* pada neutrofil antara ekstrak daun wungu dengan konsentrasi 3,125%, 6,25%, 12,5%, dan 25%.



BAB III. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris. Dipilih jenis ini karena baik pada sampel maupun perlakuan lebih terkontrol, terukur dan pengaruh perlakuan lebih dapat dipercaya dengan desain penelitian menggunakan *post test only control group design* yaitu melakukan pengamatan atau pengukuran setelah perlakuan pada waktu yang telah ditentukan setelah diberi suatu perlakuan dan hasilnya dibandingkan dengan kontrol pengukuran atau observasi pada kelompok kontrol (Notoatmodjo, 2012).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Universitas Jember, Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember, dan Laboratorium *Bioscience* Rumah Sakit Gigi dan Mulut Universitas Jember, dan LIPI Purwodadi.

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan November 2017 – Januari 2018.

3.3 Identifikasi Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak daun wungu (*Graptophillum pictum* (L) Griff) dengan konsentrasi 3,125%, 6,25%, 12,5%, dan 25%.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah adhesi *S. mutans* pada neutrofil.

3.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah:

- a. Kriteria daun wungu (*Graptophillum pictum* (L) Griff) yang digunakan
- b. Cara pembuatan ekstrak daun wungu
- c. Kriteria subyek yang diambil darahnya
- d. Suspensi *S. mutans*
- e. Metode dan cara kerja

3.4 Definisi Operasional

3.4.1 Ekstrak Daun Wungu

Ekstrak daun wungu merupakan sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia daun wungu yang diambil dari Wisata Edukasi Tanaman Obat Universitas Jember menggunakan etanol 96% sebagai pelarut. Ekstrak daun wungu diproses di Lab. Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember.

3.4.2 *Streptococcus mutans*

S. mutans merupakan bakteri gram positif, bersifat nonmotil (tidak bergerak) serta merupakan bakteri anaerob fakultatif. Memiliki bentuk bulat atau bulat telur serta tersusun dalam rantai. *S. mutans* yang dipakai didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Jember.

3.4.3 Indeks Adhesi

Indeks adhesi adalah banyaknya bakteri yang melekat pada suatu sel dan dihitung rata-ratanya. Pada penelitian ini digunakan penghitungan indeks adhesi yaitu banyaknya *S. mutans* yang melekat pada sel neutrofil, baik neutrofil pada kelompok kontrol maupun neutrofil pada kelompok yang diberi perlakuan ekstrak, kemudian dibandingkan.

3.4.4 Neutrofil

Neutrofil diambil dari darah vena perifer orang sehat (tidak memiliki kelainan sistemik). Isolasi neutrofil dilakukan dengan teknik *gradient density* menggunakan *ficoll hypaque centrifugation*.

3.5 Sampel Penelitian

3.5.1 Kriteria Isolat Neutrofil

Isolat neutrofil yang digunakan diambil dari darah subyek, yaitu orang sehat dengan kriteria laki-laki dewasa, tidak memiliki riwayat penyakit sistemik, kelainan darah dan kebiasaan merokok, serta bersedia mengisi *informed consent* sebagai tanda persetujuan bahwa darah yang diambil akan dijadikan sampel penelitian (Rakhmawati, 2012).

3.5.2 Kriteria Daun Wungu

Kriteria daun wungu yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- a. Daun wungu dengan keadaan segar, dan bebas kontaminasi hama (daun tidak berlubang).
- b. Daun wungu diambil dalam lahan yang sama.
- c. Daun wungu yang digunakan tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda, yaitu daun pada urutan ke 4 sampai ke 6 dari pucuk, karena memiliki kandungan zat aktif yang paling baik.
- d. Daun dipetik pada waktu yang sama, yaitu pada waktu sore hari (Indriana, 2017).

3.5.3 Penggolongan Sampel Penelitian

Sampel digolongkan dalam 5 kelompok yaitu :

- a. Kelompok I (kontrol) yaitu isolat neutrofil yang dipapar bakteri *S. mutans* dan tidak diinkubasi ekstrak daun wungu.
- b. Kelompok II yaitu isolat neutrofil yang dipapar bakteri *S. mutans* dan diinkubasi ekstrak daun wungu dengan konsentrasi 3,125%.
- c. Kelompok III yaitu isolat neutrofil yang dipapar bakteri *S. mutans* dan diinkubasi ekstrak daun wungu dengan konsentrasi 6,25%.
- d. Kelompok IV yaitu isolat neutrofil yang dipapar bakteri *S. mutans* dan diinkubasi ekstrak daun wungu dengan konsentrasi 12,5%.
- e. Kelompok V yaitu isolat neutrofil yang dipapar bakteri *S. mutans* dan diinkubasi ekstrak daun wungu dengan konsentrasi 25%.

3.5.4 Jumlah Sampel

Jumlah 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 ditolelir, diasumsikan $\sigma = d$

z = nilai pada tingkat kesalahan tertentu, jika $\alpha = 0,05$ maka $z = 1,96$

Perhitungannya adalah sebagai berikut:

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

Dari hasil perhitungan di atas, diperoleh jumlah sampel minimal yang digunakan dalam penelitian ini adalah 4 sampel untuk setiap kelompok.

3.6 Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1 Alat Penelitian

Becker glass, centrifuge, tourniquet, dyspossibile syringe, kaca objek, cover glass, mikroskop Inferted yang tersambung dengan komputer, inkubator shaker, vortex, oven, autoclave, pipet mikro, rotary evaporator, tabung centrifuge, tabung falcon, laminar flow cabinet, neraca analitik, petridish, blue tip, yellow tip, microplate, desikator, bunsen, tabung heparin, syringe filter, densichek, well plate

3.6.2 Bahan Penelitian

Pewarna *giemsa*, darah vena perifer, heparin, *penicillin-streptomycin solution stabilized*, etanol 96%, methanol, alkohol, media 199 (M199), *Brain Heart Infusion Broth* (BHI-B), *Ficoll hystopaque 1119*, heparin, minyak emersi, Lymphoprep 1077, *Hank's Balance Salt Solution* (HBSS), *Roswell Park Memorial Institute* (RPMI), *fungizone*, aquades steril, daun wungu, ekstrak daun wungu, methanol, suspensi bakteri *S. mutans*.

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Ethical Clearance

Peneliti mengajukan permohonan pembuatan *ethical clearance* pada Komisi Etik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dengan nomor 034/UN25.8/KEPK/DL/2018.

3.7.2 Pembuatan ekstrak daun wungu

Proses awal pembuatan ekstrak adalah tahapan pembuatan serbuk simplisia kering (penyerbukan). Daun wungu dibuat serbuk dengan dilakukan pengeringan dan penghalusan. Sebelum dilakukan pengeringan, daun wungu yang diambil dari Wisata Edukasi Tanaman Obat Universitas Jember sebanyak 700 gram dicuci bersih lalu dikeringkan. Pengeringan dilakukan dengan cara mengangin-anginkan daun wungu yang telah dipotong-potong selama 5 hari ditempat yang teduh yang tidak terkena matahari secara langsung. Setelah kering, daun wungu dilakukan penghalusan dengan cara diblender, dan didapatkan berat 200 gram.

Tahap selanjutnya adalah tahap separasi dan pemurnian. Tujuan dari tahapan ini adalah menghilangkan berbagai senyawa yang tidak dikehendaki semaksimal mungkin tanpa berpengaruh pada senyawa kandungan yang dikehendaki, sehingga diperoleh ekstrak yang lebih murni. Proses-proses pada tahapan ini adalah pengendapan, dan pemisahan. Simplisia direndam dengan pelarut etanol 96 %. Perendaman dilakukan dengan perbandingan 7,5 kali berat simplisia, sehingga menggunakan etanol sebanyak 1500 ml selama 3 hari dalam toples kaca. Setelah 3 hari dilakukan penyaringan dengan kertas saring.

Maserat kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* selama 45 menit dengan suhu 45°–50°C. Penguapan dilakukan dengan tujuan membebaskan/memisahkan ekstrak dari larutan etanol. Sehingga didapatkan ekstrak etanol daun wungu semisolid(kenal) dengan konsentrasi 100% dengan berat 8,124 ml.

3.7.3 Pembuatan konsentrasi ekstrak daun wungu

Untuk mendapatkan berbagai konsentrasi yang diinginkan, maka pengenceran dilakukan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

Keterangan:

M1 : Kadar konsentrasi awal

M2 : Kadar konsentrasi akhir

V1 : Volume awal

V2 : Volumeakhir

Adapun cara pengencerannya yaitu :

- a. Untuk memperoleh ekstrak daun wungu 3,125% sebanyak 4ml :

$$100\% \times V1 = 3,125\% \times 4$$

$$V1 = \frac{3,125 \times 4}{100}$$

$$V1 = 0,125 \text{ ml}$$

Jadi ekstrak daun wungu 100% harus diencerkan dengan menambahkan 3,875 ml akuades steril ke dalam 0,125 ml ekstrak daun wungu 100%.

- b. Untuk memperoleh ekstrak daun wungu 6,25% sebanyak 4ml :

$$100\% \times V1 = 6,25\% \times 4$$

$$V1 = \frac{6,25 \times 4}{100}$$

$$V1 = 0,25 \text{ ml}$$

Jadi ekstrak daun wungu 100% harus diencerkan dengan menambahkan 3,75 ml akuades steril ke dalam 0,25 ml ekstrak daun wungu 100%.

c. Untuk memperoleh ekstrak daun wungu 12,5% sebanyak 4 ml :

$$100\% \times V1 = 12,5\% \times 4$$

$$V1 = \frac{12,5 \times 4}{100}$$

$$V1 = 0,5 \text{ ml}$$

Jadi ekstrak daun wungu 100% harus diencerkan dengan menambahkan 3,5 ml akuades steril ke dalam 0,5 ml ekstrak daun wungu 100%.

d. Untuk memperoleh ekstrak daun wungu 25 % sebanyak 4ml :

$$100\% \times V1 = 25\% \times 4$$

$$V1 = \frac{25 \times 4}{100}$$

$$V1 = 1 \text{ ml}$$

Jadi ekstrak daun wungu 100% harus diencerkan dengan menambahkan 3 ml akuades steril ke dalam 1 ml ekstrak daun wungu 100%.

3.7.4 Pembuatan suspensi *Streptococcus mutans*

S. mutans yang akan dipakai dalam penelitian ini diambil dari stok *S. mutans* bagian Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Jember. Cara pembuatan suspensi *S. mutans* adalah 2 ml media BHI-B steril dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambah 1 ose *S. mutans*. Perlakuan ini dilakukan dengan dilewatkan di atas lampu spiritus yang sedang menyala. Tabung reaksi dimasukkan ke dalam *desicator* dan ditutup rapat. *Desicator* dimasukkan ke inkubator suhu 37°C selama 2 hari, pertumbuhan *S. mutans* ditandai dengan media yang tampak keruh. Setelah dilakukan inkubasi, suspensi *S. mutans* diukur tingkat kekeruhan dengan menggunakan densiheck hingga didapatkan kekeruhan 0,5 *Mc Farland*.

3.7.5 Isolasi neutrofil

Subyek diambil darahnya sebanyak 6 cc dari vena perifer menggunakan *dysposable syringe*, dan dicampur dengan antikoagulan (heparin) dalam tabung heparin. Darah tersebut dibagi menjadi dua tabung dengan jumlah masing-masing 3 cc. Menyiapkan 3 ml larutan *histopaque 1119* dalam tabung falcon, lalu ditambahkan

3 ml larutan Lymphoprep 1077 dengan cara dialirkan melalui dinding falcon dengan sudut miring 45°. Darah dimasukkan ke dalam tabung falcon secara hati-hati agar larutan ficoll tidak pecah. Sentrifugasi dengan kecepatan 900 g selama 30 menit pada suhu 18°-26°C.

Lapisan PMN diambil untuk mendapatkan sel neutrofil, lalu dimasukkan kedalam tabung falcon lain. Lapisan PMN tersebut ditambahkan HBSS dengan perbandingan 1:2, dan dilakukan *pipetting* secara hati-hati sampai homogen. Sentrifugasi dengan kecepatan 600 g selama 10 menit pada suhu 18°-26°C. Setelah disentrifugasi, akan terbentuk endapan pada dasar tabung falcon. Lapisan yang ada di bagian atas (supernatan) dibuang, sementara endapan yang tersisa ditambahkan HBSS dengan perbandingan 1:1, kemudian dilakukan *pipetting* sampai homogen secara hati-hati. Ditambahkan antijamur yaitu *fungizone* sebanyak 5 µl dan antibakteri yaitu *penicillin-streptomycin solution stabilised* sebanyak 20 µl untuk 1000 µl larutan media sel agar terhindar dari kontaminasi mikroorganisme, lalu dilakukan pipetting. Mengambil 100 µl larutan tersebut, kemudian diamati menggunakan mikroskop perbesaran 400 kali. Dilakukan pengamatan untuk melihat populasi sel setiap lapang pandang. Apabila populasi sel masih terlalu padat, maka ditambahkan lagi HBSS sampai didapatkan populasi sel yang diinginkan.

3.7.6 Perlakuan Uji Indeks Adhesi

Coverslip sebanyak 20 buah yang telah disterilkan dalam laminar flow diletakkan dalam microplate dan diberi tanda sesuai kelompok masing – masing. Kemudian neutrofil ditapis pada masing masing coverslip sebanyak 100 µl kemudian diinkubasi dalam *shaker incubator* selama 20 menit, 37°C untuk melekatkan neutrofil pada coverslip. Kemudian dilakukan pengecekan di bawah mikroskop inferted. Setelah itu diinkubasi lagi selama 30 menit pada suhu 37° C sehingga neutrofil semakin melekat. Kemudian larutan RPMI diambil, lalu digantikan dengan media complete (M199) sebanyak 1000 µl, kemudin diamati menggunakan mikroskop inverted perbesaran 400 kali untuk mengetahui ada tidaknya kontaminasi oleh mikroorganisme. Apabila sudah tidak ada kontaminasi

ditambahkan ekstrak daun wungu dengan konsentrasi 3,125%, 6,25%, 12,5%, dan 25% sebanyak 100 µl dan dilakukan pipetting sampai benar-benar homogen.

Media yang telah ditambahkan ekstrak diinkubasi menggunakan *shaker incubator* selama 3 jam pada suhu 37°C dengan pengamatan setiap jamnya untuk melihat penyerapan ekstrak pada neutrofil. Kemudian media inkubasi dibuang, dan digantikan dengan M199 sebanyak 1000 µl. Secara perlahan pada semua *well* masing-masing ditambahkan suspensi *S. mutans* 100 µl, diinkubasikan selama 4 jam dalam suhu 37°C, 5% CO₂. Lalu diamati perubahan dan perkembangan yang terjadi selama setiap jam. Di akhir pengamatan dilakukan pencucian dengan HBSS.

Setelah perlakuan selesai dilakukan fiksasi dengan menggunakan metanol absolut selama kurang lebih 2-3 menit, kemudian metanol dibuang menggunakan mikropipet, lalu dikeringkan. Selanjutnya dilakukan pengecatan dengan cat giemsa. Giemsa dimasukkan ke dalam masing-masing sampel, dan dibiarkan selama 7 menit. Selanjutnya, cat Giemsa dibuang, dan dibilas dengan air mengalir. Setelah kering, dilakukan penghitungan indeks adhesi dengan mikroskop.

3.7.7 Penghitungan Indeks Adhesi

Penghitungan indeks adhesi dilakukan dengan cara menghitung jumlah bakteri yang melekat pada setiap sel yang dihitung pada 100 sel menggunakan mikroskop inverted dengan perbesaran 400x atau 1000x kemudian dihitung rata-ratanya. Perhitungan indeks adhesi dilakukan dengan rumus (Mubarokah dkk., 2009):

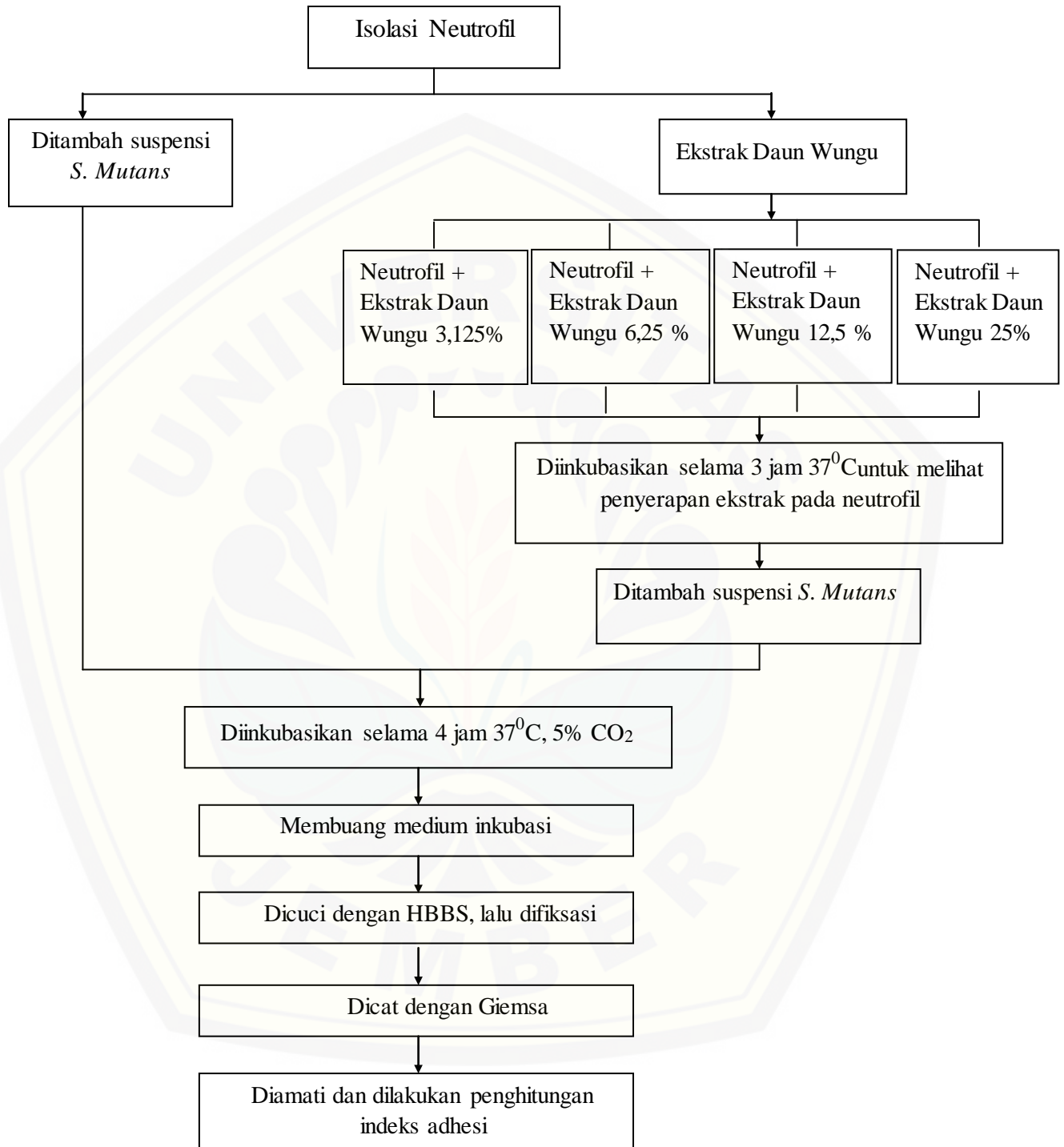
$$\text{indeks adhesi} = \frac{\text{jumlah } S. \text{ mutans yang melekat perneutrofil (100 neutrofil)}}{\text{jumlah total neutrofil yang dihitung (=100)}}$$

3.8 Analisis Data

Analisis data didahului dengan uji normalitas data menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas data menggunakan uji *Levene*. Dilanjutkan dengan uji statistik parametrik, yaitu uji *One Way Anova* untuk mengetahui adanya perbedaan antar kelompok, kemudian dilanjutkan dengan uji *Least Significance Different (LSD)* untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan bermakna.



3.9 Alur Penelitian



DAFTAR PUSTAKA

- Amanda, L. 2010. Sistem Adhesi Kedokteran Gigi. [online]. www.repository.usu.ac.id. Diakses pada: 28 Agustus 2017.
- Andiyani, R., U. Yuniarni, dan D. Mulyanti. 2015. *Uji Eektivitas Ekstrak Daun Wungu (Graptophyllum pictum (L) Griff) sebagai Penyembuh Luka*. Bandung : Program Studi Farmasi Fakultas MIPA Universitas Islam Bandung.
- Baratawidjaja, K.G. 1996. *Imunologi Dasar: Edisi Ketiga*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI.
- BPOM RI. 2005. *Standardisasi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia, Salah Satu Tahapan Penting dalam Pengembangan Obat Asli Indonesia*. Jakarta: Info POM Volume 6 Nomor 4.
- Christensen, G.D., Beachey, E.H. 1984. *The Molecular Basis For The Localization of Bacterial Infections*. Adv Intern Medicine.
- Dalimartha, S. Atlas tumbuhan obat indonesia jlid 1. 1999. Jakarta: Trubus Agriwidya
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI, Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan.
- Dorland. 2006. *Kamus Saku Kedokteran Dorland, Edisi 29*. Jakarta: EGC
- Doyle, R. 1990. *Microbial Cell Surface Hidrophobicity*. New York: SocMicrobial.
- Fatmawati, D. W. A. 2011. Hubungan Biofilm *Streptococcus Mutans* Terhadap Resiko Terjadinya Karies Gigi. *Stomatognatic(J.K.G Unej)*. 8 (3): 127-130.
- Ferencik, M. 1993. *Handbook of Immunocemistry 1st Ed. Melbourne* : Glasgow
- Fitriyana,N., MD. A. Yuliana, H. Harmono, IDA Susilawati. 2013. Pemaparan bakteri *Porphyromonas gingivalis* mempengaruhi produksi superoksida neutrofil. *Dentofasial*. 12(3): 152-153.

- Ganong, W. F. 2002. *Fisiologi Kedokteran, Edisi 20*. Terjemahan Widjadjakusumah, M. Dj. Jakarta: EGC.
- Gaut, J.P., et al. 2001. Neutrophils employ the myeloperoxidase system to generate antimicrobial brominating and chlorinating oxidants during sepsis. In: National Academy of Sciences.
- Gelman, A., G. L. Chew, M. Shnaidman. 2004. Bayesian Analysis of Serial Dilution Assays. *Biometrics*.60: 407-417.
- Giannasca, PJ, Neutra MR. 1994. Interaction of Microorganisms with Intestinal M Cells: Mucosal Invasion and Induction of Secretory Imunity. *Infect Agents Dis. 2*: 242-248.
- Guyton A. C., Hall J. E. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 9. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Guyton, A. C., dan Hall, J. E. 2008. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran, Edisi 11*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Grossman IL, Oliet S, Rio CED. 1995. Ilmu Endodontik dalam Praktik. Ed.11. Jakarta: EGC.
- Hilmarni, Y. Yohana, Dan D. H. Rosi. 2016. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Wungu (*Graptophyllum pictum (L) Griff*) terhadap Profil Hematologi Mencit Putih. *Jurnal Ipteks Terapan* . 10.14 : 234 – 23.
- Indriana, R. A. 2017. Uji Daya Hambat Ekstrak Metanol Daun Ungu (*Graptophyllum Pictum (L.) Griff*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Saluran Akar Gigi. *Skripsi*. Jember: FKG Universitas Jember.
- Irianto, B. W. 2016. Efek Berkumur Seduhan Daun Wungu (*Graptophyllum Pictum (L) Griff*) Terhadap Jumlah Koloni Bakteri Saliva Pada Subyek Dengan Skor Dmf-T 4-5. *Skripsi*. Jember: Fkg Universitas Jember.
- Irianto, B. W., A. Kurniawati, dan N. Fatimatuzzahro. 2016. Efek Berkumur Seduhan Daun Wungu (*Graptophyllum Pictum (L) Griff*) Terhadap Jumlah Koloni Bakteri Saliva Pada Subyek Dengan Skor Dmf-T 4-5. *E-Jurnal Pustaka Kesehatan*
- Iswandani, W. 2015. Gambaran Pengetahuan Anak Usia 7 sampai dengan 12 Tahun Tentang Oral Hygiene Berdasarkan Karakteristik Di SDN Jalan

Anyar Kota Bandung. Bandung : Program Studi Diploma III Keperawatan Universitas Pendidikan Indonesia.

Jawetz, M., dan Adelberg. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: EGC

Kementerian Kesehatan RI. 2013. *Riset Kesehatan Dasar 2013*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI, Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan.

Kidd, E. A., and S. J. Bechal. 2013. *Dasar-Dasar Karies Penyakit dan Penanggulangannya*. Alih Bahasa : Sumatiwa N., dan Faruk S. Judul asli : *Essentials of Dental Caries : The disease and its Management (1987)*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

Kriswandidi, L. I., Sumarno, I. G. W. Ardani. 2005. Karakterisasi Adesin *Fimbriae Streptococcus mutans* lokal yang Berperan Dalam Patogenesis Penyakit Karies Gigi. *Jurnal Penelitian Medika Eksakta*. 6(1): 6-15.

Kurniawati, A., Dewanti, IDA. 2011. Isolasi Zat Aktif Daun Wungu (*Graftophyllum Pictum* L. Griff) sebagai Imunomodulator serta Uji Aktivitasnya terhadap Infeksi *Mycobacterium tuberculosis*. J.K.G. Universitas Jember Stomatognatic.

Kurniawati, A., dan Yani C. 2008. Pengaruh Ekstrak Metanol dari Daun Wungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. J.K.G. *Unej Stomatognatic*.

Kusumawati, I. 1997. *Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Graptophyllum Pictum (L.) Griff. Terhadap Respon Imun Non Spesifik*. Surabaya : Universitas Airlangga.

Lucia, EW. 2011. Aksi Obat: Basis Farmakologi. Klinis. Surabaya: Sandika Surabaya.

Masihi, K.N., 2001, Fighting infection using immunomodulatory agents, *Expert Opin Biol Ther*.

Mubarokah, S. N., I Ketut G. M., dan Sumarno. 2009. 49.4 Kda Outer membrane Protein of *Prophyromonas gingivalis* is Hemagglutin and Adhesin Protein to Neutrophil. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 25 (2) : 48 – 59

Noer HMS, Waspadji, Rachman AM, et al S. 1996. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam I 3rd ed*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI.

- Notoadmodjo, S. 2012. *Metodologi Penelitian Kesehatan Edisi Revisi*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Ningtyas, T. E. 2012. Inhibisi Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea Indica (L.) Less*) Terhadap Indeks Adhesi *Streptococcus Mutans* Pada Neutrofil. Jember : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
- Nugraha, A. W. 2008. *Streptococcus mutans* Si Plak Dimana-mana. Yogyakarta : Fakultas Farmasi USD Yogyakarta
- O'mahony, R., Al-Khteer, H., Deepka, W., Fernando, N., Vaiara, D., Halton J., dan Basset, C. 2005. Bactericidal and Anti-Adesive Properties of Culinary and Medical Plants Against *Helicobacter pylori*. *World Journal of Gastroenterology*. 11(47) : 7499-7507.
- Parhusip, A. 2004. Pengaruh Ekstrak Andaliman terhadap Hidrofobisitas Bakteri *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhimurium*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. 2(2) : 1-10.
- Perwita, F. A. 2011. Teknologi Ekstraksi Daun Ungu (*Graptophyllum Pictum (L.) Griff*) Dalam Ethanol 70% Dengan Metode Perkolasi. Surakarta : Universitas Sebelas Maret.
- Pratiwi, L. C. 2012. Adhesi *Porphyromonas gingivalis* Pada Neutrofil Yang Diinkubasi Ekstrak Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus Sabdariffa L.*). *Skripsi*. Jember : Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
- Pratiwi, R. 2004. *Perbedaan Daya Hambat Terhadap Streptococcus Mutans Dari Beberapa Pasta Gigi Yang Mengandung Herbal*. Makasar : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin
- Purnamasari, I. W., P. Astuti, dan T. Ermawati. 2014. Viabilitas neutrofil yang diinkubasi dalam ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dan dipapar dengan *Streptococcus mutans*. *Jurnal Dentofasial*. 13 (3) : 135-140
- Price, S.A. dan L.M. Wilson. 2002. *Patofisiology : Konsep Klinis Proses Terjadinya Penyakit*. Alih bahasa : Brahm, U. Edisi 6. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Pidada , I. B. R., Dan L. Suhargo. 2009. Peranan Ekstrak Daun Wungu (*Graptophyllum Pictum (L.) Griff*) Untuk Menghambat Atrofi Kelenjar Mammae Mencit Betina Ovariectomi. *Jurnal Penelitian Media Eksakta*. 8 (2) : 120-124

- Rakhmawati, N. Y. I. 2012. Daya Adhesi *Streptococcus Mutans* Pada Neutrofil Yang Diinkubasi Ekstrak Polifenol Biji Kakao (*Theobroma Cacao L.*). Skripsi. Jember : Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
- Riza, N. F. 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Wungu (*Graptophyllum pictum (L) Griff*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. Skripsi. Jember : Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
- Santosaningih, D. 2003. "Peranan Protein *Fimbriae* dan Lipopolisakarida terhadap Perlekatan Bakteri *Enterohemorrhagic Escherichia coli* (EHEC) 0157 pada Enterosit Kelinci secara in Vitro : Penelitian Eksperimental Laboratoris". Tidak diterbitkan. Tesis. Surabaya: Program Pascasarjana Universitas Airlangga.
- Soerono, Akbar. 2003. Penyakit Endodontik dalam Endodontologi, Kumpulan Naskah 1991-2003, Edisi 1. Jakarta: Hafizh.
- Stites, D.P. dan Terr, A.I. 1990. *Basic and Clinical Immunology, Seven Edition*. USA : Appleton and Lange.
- Sloane, Ethel. 2002. *Anatomi dan Fisiologi Untuk Pemula*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Sudjadi, B. dan Siti, Lg. 2007. *Biologi : Sains dalam Kehidupan*. Surabaya: Yudhistira.
- Suhirman, S. dan Winarti, C. 2007. *Prospek dan Fungsi Tanaman Obat sebagai Imunomodulator*. Jakarta : Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik
- Sulaksono, S., Fitrianingih, S. P., dan Yuniarni, U. 2015. Karakterisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Buah Salak. *Prosiding KNMSA*. Bandung: USILA.
- Sung, S. H., Kyoung, H. K., Byong, T. J., Sun, H. C., Jae, H. P., Dong, H. K., Hyuk, J. K., and 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.
- Sya'haya, S., R. N. Iyos. 2016. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Ungu (*Graptophyllum pictum Griff*) terhadap Penyembuhan Hemoroid. *Majority* 5(5) : 155-160.
- Todar, Kenneth. 2008. *The Normal Bacterial Flora of Humans*. <http://www.textbookofbacteriology.net>. [1 September 2017].

Wahyuningtyas, E. dan Indrastuti. 2005. Pengaruh Ekstrak *Graptophyllum Pictum* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus Mutans* Pada Resin Akrilik. Maj. Ked. Gigi (Dent J.) Edisi khusus Temu Ilmiah Nasional IV. hlm. 298-301.

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



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

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Nur Qum Irfan
Umur : 21 tahun
Jenis kelamin : Laki - Laki
Alamat : Mastrip II No. 10

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

Nama : Arina Nur Rahmah
Nim : 141610101032
Fakultas : Kedokteran Gigi Universitas Jember
Alamat : Jl. Mastrip II No. 50, Sumpersari - Jember

Dengan judul "Peran Ekstrak Daun Wungu (*Graptophyllum Pictum (L.) Griff*) 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, 21 Januari 2018.

Saksi

Yang Membuat Pernyataan,



(Grace Valencia Handoko)



(Nur Qum Irfan)

Lampiran B. Surat keterangan identifikasi daun wungu



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)
BALAI KONSERVASI TUMBUHAN
KEBUN RAYA PURWODADI
 Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163
 Telp. (+62 343) 615033, Faks. (+62 341) 426046
 website : <http://www.krpurwodadi.lipi.go.id>

**SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TUMBUHAN**

No: 109 /IPH.06/HM/I/2018

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

Nama : Arina Nur Rahmah
 NIM : 141610101032
 Instansi : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
 Tanggal material diterima : 9 Januari 2018

Telah diidentifikasi/determinasi berdasarkan koleksi herbarium dan koleksi kebun serta referensi ilmiah, dengan hasil sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
 Division : Magnoliophyta
 Class : Magnoliopsida
 Subclass : Asteridae
 Ordo : Scrophulariales
 Family : Acanthaceae
 Genus : Graptophyllum
 Species : *Graptophyllum pictum* (L.) Griff.

Referensi:

1. Backer CA & Bakhuizen van den Brink RC. 1965. Flora of Java Vol.II. NVP Noordhoff, Groningen, The Netherlands. Hal. 579
2. Cronquist A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press, New York, USA. Hal. XVII
3. Heyne K. 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia Hal. 1756

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 16 Januari 2018

An. Kepala

Kepala Seksi Ekspiorasi dan Koleksi Tumbuhan



Sugeng Budiharta, MSc., PhD.

Lampiran C. Surat keterangan hasil ekstraksi daun wungu



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS FARMASI
Jl. Kalimantan 1/2 Kampus Tegal Boto. Telp./ Fax. (0331) 324736 Jember 68121

SURAT KETERANGAN PEMBUATAN EKSTRAK

Data pemohon :
Nama : Arina Nur Rahmah
NIM : 141610101032
Fakultas : Kedokteran Gigi Universitas Jember
Bahan : Daun Wungu (*Graptophyllum Pictum* L. Griff)
Pelarut Pengekstraksi : Etanol 96%
Metode ekstraksi : Maserasi
Prosedur : Serbuk daun wungu (*Graptophyllum Pictum* L. Griff) 200 gram dimaserasi dengan etanol 96% sebanyak 7,5 kali berat serbuk selama 3 hari. Maserat dipekatkan dengan rotary evaporator.
Hasil : Ekstrak etanol daun wungu dengan rendemen 18,14% (b/b)
Tanggal pembuatan : 6 November 2017

Jember, 23 November 2017

Ketua Bagian Biologi Farmasi,



Indah Yulia Ningsih, S.Farm., M.Sc., Apt.
NIP. 198407122008122002

Lampiran D. Surat keterangan uji identifikasi *Streptococcus mutans*

KEMENTERIAN RISET TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN
JURUSAN BIOLOGI
Jalan Kalimantan III No. 23 FMIPA, Universitas Jember, Jawa Timur 68123

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI BAKTERI

Berdasarkan hasil identifikasi dengan pengecatan Giemsa pada bakteri yang digunakan
Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Jember oleh :

Nama : Arina Nur Rahmah
NIM : 141610101032
Jurusan Fakultas : Kedokteran Gigi
PT : Universitas Jember

Maka dapat disampaikan hasilnya, bahwa bakteri tersebut adalah :

Streptococcus mutans

Demikian, mudah-mudahan bermanfaat.

Jember, 31 Januari 2018

Kalab Mikrobiologi

Drs. Rudju Winarsa, M.Kes

NIP. 196008161989021001

Lampiran E. Surat keterangan *Ethical Clearence*

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK)
 FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS JEMBER
 (THE ETHICAL COMMITTEE OF MEDICAL RESEARCH
 FACULTY OF DENTISTRY UNIVERSITAS JEMBER)

ETHIC COMMITTEE APPROVAL

No. 034/UN25.8/KEPK/DL/2018

Title of research protocol : "Peran Ekstrak Daun Wungu (*Graptophyllum Pictum* (L) Griff) Terhadap Adhesi *Streptococcus mutans* Pada Neutrofil"

Document approved : Research Protocol

Principal investigator : Arina Nur Rahmah

Member of research : -

Responsible Physician : Arina Nur Rahmah

Date of approval : February 5th, 2018

Place of research : 1. Microbiology Laboratory Biology Sect. Faculty of Mathematics and Natural Science Universitas Jember
 2. Biology Laboratory Pharmacy Faculty Universitas Jember
 3. Bioscience Laboratory RSGM Universitas Jember
 4. UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi (LIPI)

The Research Ethic Committee Faculty of Dentistry Universitas Jember states that the above protocol meets the ethical principle outlined and therefore can be carried out.

Jember, February 10th, 2018

Dean of Faculty of Dentistry Universitas
 Jember



Dr. P. M. Kes, Sp. Pros)



Chairperson of Research Ethics Committee Faculty
 of Dentistry Universitas Jember


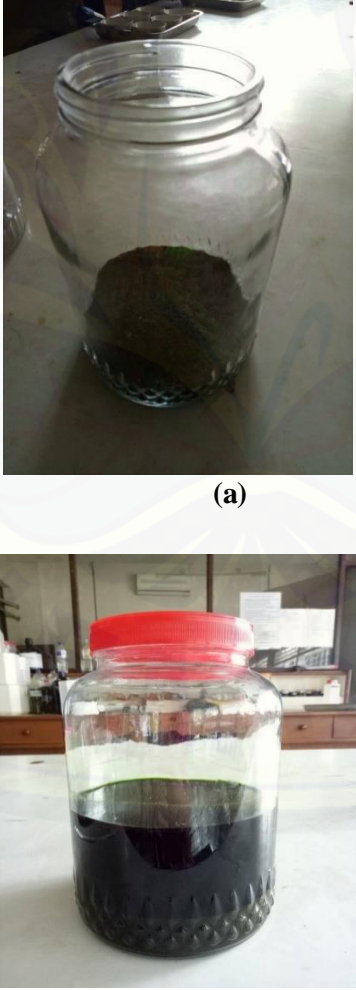





Dr. I Dewa Ayu Ratna Dewanti, M. Si.)

Lampiran F. Foto prosedur penelitian




1. Pembuatan Ekstrak Daun Wungu

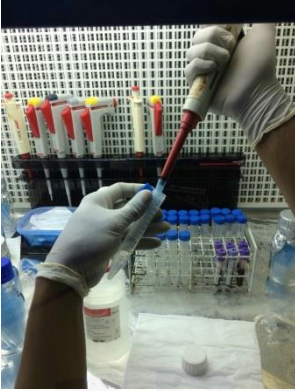
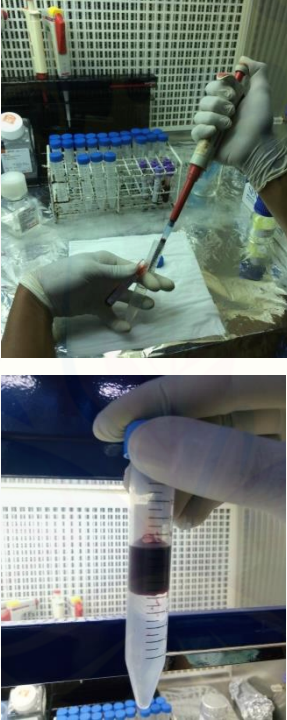
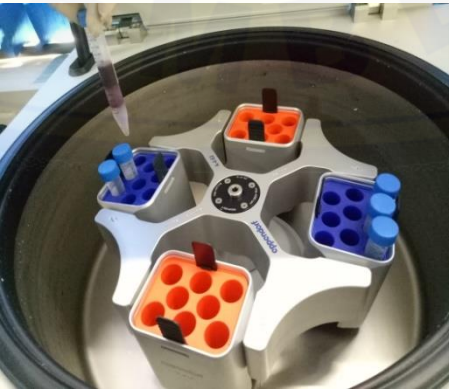
	Gambar	Keterangan
Gambar 6.1		Daun wungu sebanyak 700 gram dicuci bersih dengan air mengalir kemudian dikeringkan
Gambar 6.2		Dilakukan pengeringan dengan cara mengangin - anginkan daun wungu yang telah dipotong-potong selama 5 hari ditempat yang teduh yang tidak terkena matahari secara langsung.
Gambar 6.3		Daun wungu yang sudah kering lalu diblender.

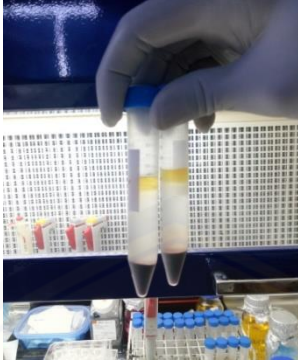
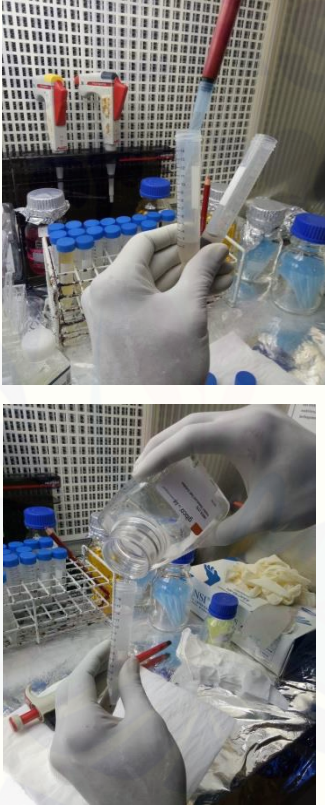

<p>Gambar 6.4</p>		<p>Daun wungu yang telah di blender diayak dan didapatkan berat 200 gram.</p>
<p>Gambar 6.5</p>	 <p>(a)</p> <p>(b)</p>	<p>Bubuk daun wungu dimasukkan ke dalam toples kaca (Gambar a) kemudian dicampurkan dengan etanol 96% sebanyak 1500 ml, diaduk kurang lebih selama 2 menit dan direndam selama 3 hari dalam toples tertutup (Gambar b).</p>

<p>Gambar 6.6</p>	 <p>(a)</p> <p>(b)</p>	<p>Hasil maserasi disaring dengan menggunakan alat penyaring (Gambar a) dan kertas saring (Gambar b).</p>
<p>Gambar 6.7</p>		<p>Maserat kemudian diuapkan dengan rotary evaporator selama 45 menit dengan suhu 45° – 50°C.</p>
<p>Gambar 6.8</p>		<p>Ekstrak daun wungu murni 100 %</p>

2. Isolasi Neutrofil

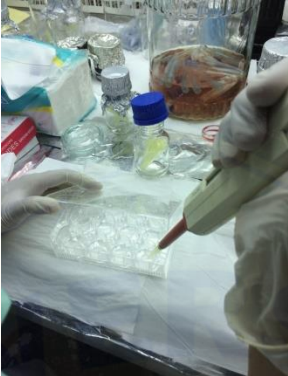
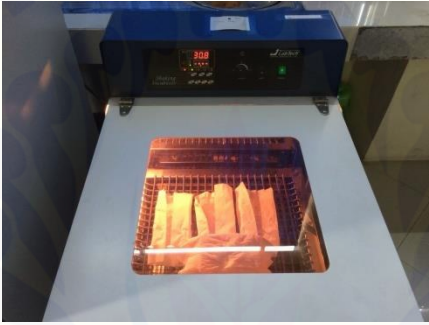
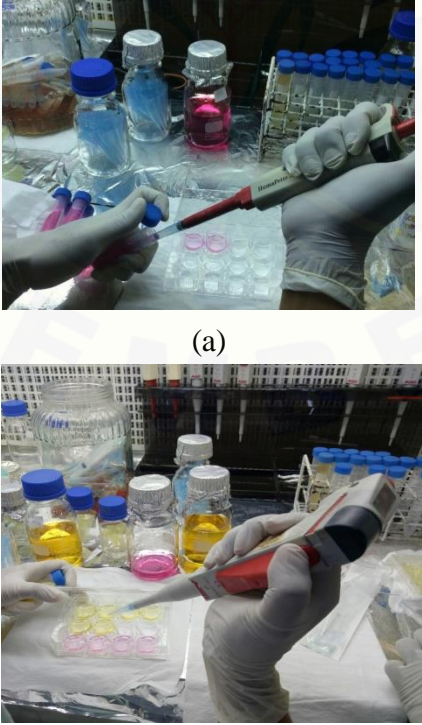
	Gambar	Keterangan
Gambar 6.9		Pengambilan darah vena perifer subyek sebanyak 6 cc dari menggunakan <i>dysposable syringe</i>
Gambar 6.10		Darah dicampur dengan antikoagulan (heparin) dalam tabung heparin.
Gambar 6.11		Memasukkan 3 ml larutan <i>histopaque 1119</i> dalam tabung falcon

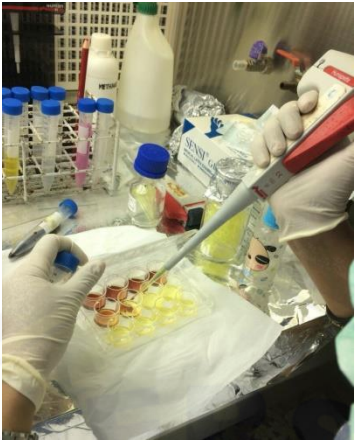



Gambar 6.12		Menambahkan 3 ml larutan Lymphoprep 1077
Gambar 6.13		Darah dimasukkan ke dalam tabung falcon
Gambar 6.14		Sentrifugasi dengan kecepatan 900 g selama 30 menit


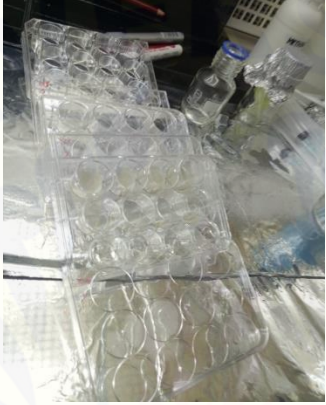
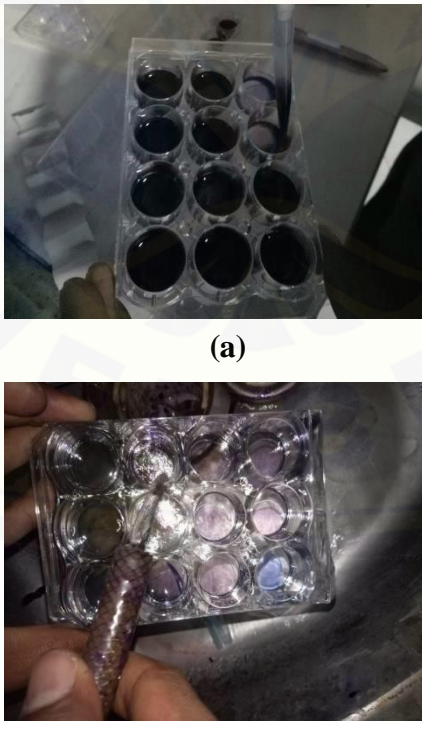
Gambar 6.15		Sentrifugasi menghasilkan 6 lapisan
Gambar 6.16		Lapisan PMN diambil, lalu dimasukkan kedalam tabung falcon lain dan ditambahkan HBSS dan dilakukan <i>pipetting</i> sampai homogen
Gambar 6.17		Sentrifugasi dengan kecepatan 600 g selama 10 menit

Gambar 6.18		Ditambahkan HBSS dengan perbandingan 1:1 , kemudian dilakukan <i>pipetting</i> sampai homogen secara hati-hati.
Gambar 6.19		Ditambahkan antijamur yaitu <i>fungizone</i> sebanyak 5 μ l dan antibakteri yaitu <i>penicillin-streptomycin solution stabilised</i> sebanyak 20 μ l

3. Uji Adhesi

	Gambar	Keterangan
Gambar 6.20		Neutrofil ditapiskan pada coverslip 100 μ l kemudian diinkubasi dalam <i>shaker incubator</i> selama 20 menit 37 ⁰ C
Gambar 6.21		Dilakukan pengecekan di bawah mikroskop inferted dan diinkubasi lagi selama 30 menit pada suhu 37 ⁰ C
Gambar 6.22	 <p>(a)</p> <p>(b)</p>	(a) Pemberian larutan RPMI (b) Larutan RPMI diambil, lalu digantikan dengan media complete (M199) sebanyak 1000 μ l

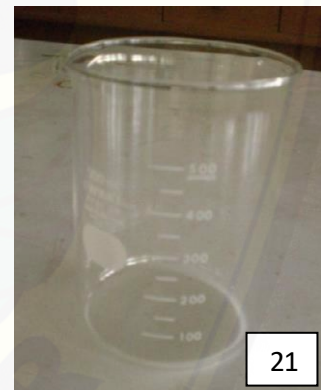
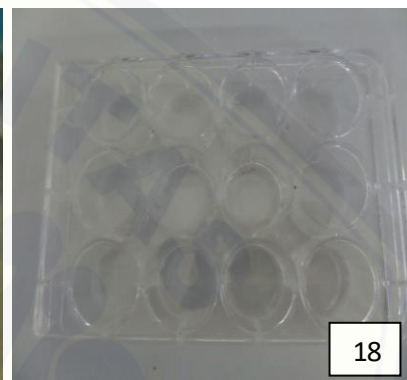
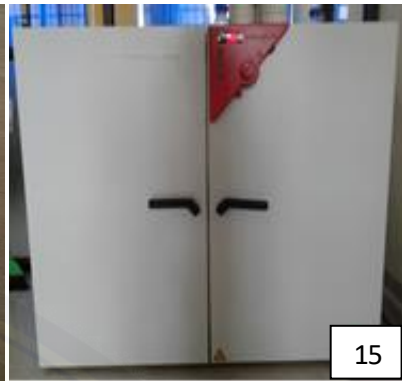
Gambar 6.23		Ditambahkan ekstrak daun wungu dengan konsentrasi 3,125%, 6,25%, 12,5%, dan 25% sebanyak 100 μ l
Gambar 6.24		Diinkubasi dengan <i>shaker incubator</i> selama 3 jam pada suhu 37°C
Gambar 6.25		Medium inkubasi dibuang, dan digantikan dengan M199 sebanyak 1000 μ l
Gambar 6.26		Ditambahkan suspensi <i>S. mutans</i> 100 μ l, diinkubasikan selama 4 jam dalam suhu 37°C, 5% CO ₂

Gambar 6.27		Dilakukan pencucian dengan HBSS
Gambar 6.28		Fiksasi dengan menggunakan metanol absolut, lalu metanol dibuang kemudian dikinginkan dengan posisi miring.
Gambar 6.29	 <p>(a)</p> <p>(b)</p>	(a) Pengecatan dengan Giemsa (b) Cat Giemsa dibuang, dan dibilas dengan air mengalir lalu dilakukan pengeleman <i>coverslip</i> ke objek <i>glass</i>

Lampiran G. Foto alat dan bahan penelitian

1. Alat



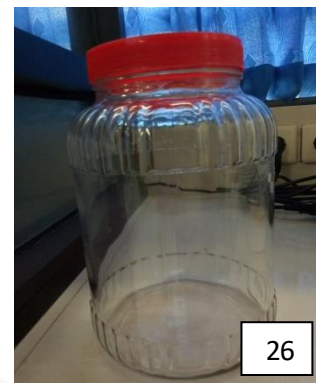




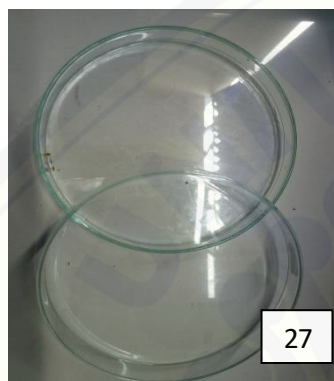
24



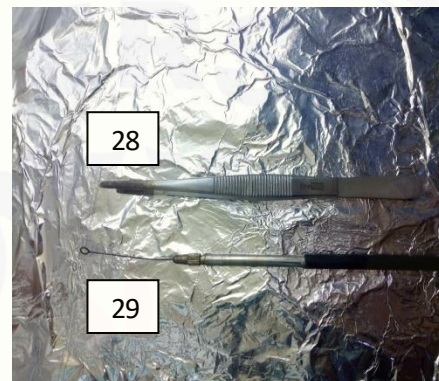
25



26

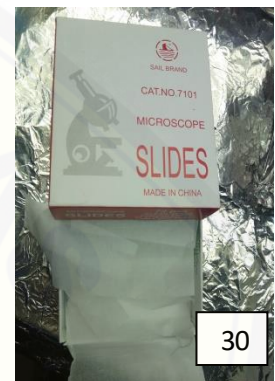


27



28

29



30



31

32

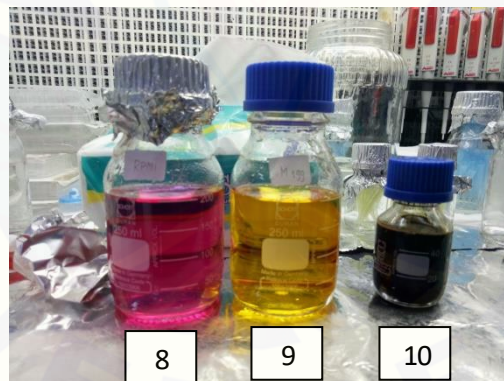
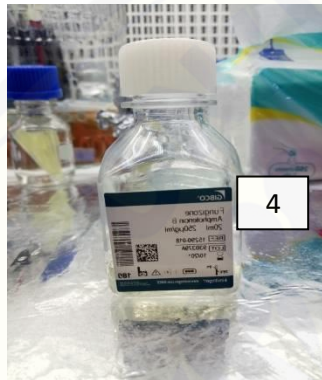
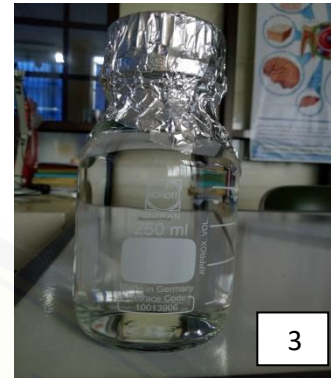
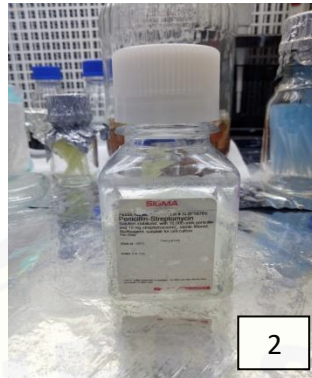
33

Keterangan Gambar :

- 1) Mikropipet
- 2) Tabung heparin
- 3) *Dyspossible syringe*
- 4) Tabung *centrifuge*
- 5) *Laminar flow cabinet*
- 6) *Torniquet*

- 7) *Centrifuge*
- 8) *Blue tip*
- 9) *Syringe filter*
- 10) *Yellow tip*
- 11) Densichek
- 12) Bunsen
- 13) Inkubator *shaker*
- 14) Tabung falcon
- 15) Oven
- 16) *Desikator*
- 17) Vortex
- 18) *Well plate*
- 19) *Blender*
- 20) *Rotary evaporator*
- 21) *Becker glass*
- 22) Mikroskop *Inferted* yang tersambung dengan komputer
- 23) Mesin penyaring
- 24) *Neraca analitik*
- 25) *Cover glass*
- 26) Toples kaca
- 27) Petidish
- 28) Pinset
- 29) Ose
- 30) *Coverslip*
- 31) *Handscoon*
- 32) Tisu

2. Bahan





Keterangan :

- 1) *Hank's Balance Salt Solution (HBSS)*
- 2) *Penicillin-streptomycin solution stabilized*
- 3) Aquades steril
- 4) *Fungizone*
- 5) Lymphoprep 1077
- 6) Etanol 96%
- 7) Pewarna *giemsa*
- 8) *Roswell Park Memorial Institute (RPMI)*
- 9) Media 199 (M199)
- 10) Ekstrak Daun Wungu
- 11) Methanol
- 12) Alkohol 70%
- 13) Intellon
- 14) Daun wungu
- 15) *Brain Heart Infusion Broth (BHI-B)*
- 16) *Streptococcus mutans*
- 17) Darah vena perifer

Lampiran H. Hasil penghitungan adhesi *Streptococcus mutans* pada neutrofil

1. Kelompok I (kontrol): isolat neutrofil + *S. mutans*

SAMPEL A										
Lapang pandang	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	3	2	5	2	3	2	1	3	2	3
2	2	0	3	2	4	3	2	1	2	2
3	5	6	3	0	2	3	4	0	4	3
4	2	4	0	2	3	0	2	4	3	5
5	3	2	2	0	2	2	2	3	2	4
6	2	3	2	2	2	4	3	2	4	3
7	5	0	4	3	2	2	3	4	2	2
8	2	2	3	0	2	3	2	2	2	3
9	4	3	5	4	2	2	3	5	4	1
10	2	2	3	0	4	3	0	4	4	2
jumlah	30	24	30	15	26	24	22	28	29	28
Total	:									256
Indeks adhesi	:									2,56

SAMPEL B										
Lapang pandang	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	2	2	3	2	2	0	1	2	3	2
2	1	0	3	5	2	2	0	1	2	3
3	3	6	2	0	0	2	3	4	3	4
4	2	4	0	2	3	4	0	4	0	3
5	2	2	0	5	0	3	2	2	2	4
6	0	3	2	0	3	0	0	1	0	2
7	3	0	0	3	2	0	2	4	0	3
8	2	2	2	0	0	2	2	2	3	4
9	3	3	4	5	0	3	2	2	4	3
10	2	2	2	1	0	1	2	0	3	2
Jumlah	20	24	18	23	12	17	14	22	20	30
Total	:									200
Indeks adhesi	:									2

SAMPEL C										
Lapang pandang	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	6	3	2	3	5	2	4	3	2	2
2	2	3	2	2	4	2	1	2	3	5
3	2	0	2	3	5	0	4	3	3	2
4	4	2	2	3	2	0	2	1	4	4
5	1	3	1	2	3	3	2	2	0	1
6	2	2	3	5	2	4	3	3	4	4
7	3	4	5	2	3	4	2	2	3	3
8	1	2	2	0	3	2	2	1	2	4
9	3	2	1	3	3	0	2	4	2	0
10	2	0	2	4	2	0	2	2	4	4
jumlah	26	21	22	27	32	17	24	23	27	29
Total	:									248
Indeks adhesi	:									2,48

SAMPEL D										
Lapang pandang	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	4	2	3	2	2	2	3	0	2	2
2	3	4	0	2	2	0	1	0	2	5
3	2	1	0	2	0	3	0	2	1	2
4	4	2	3	0	2	2	3	4	2	4
5	2	0	0	2	0	3	2	2	2	1
6	4	3	0	3	2	2	2	0	3	4
7	1	2	1	0	3	4	2	1	2	3
8	3	2	1	5	0	2	3	5	4	4
9	1	2	2	0	3	2	4	3	2	0
10	3	2	1	2	3	2	2	1	3	4
Jumlah	27	20	11	18	17	22	22	18	23	29
Total	:									207
Indeks adhesi	:									2,07

2. Kelompok II : isolat neutrofil + ekstrak daun wungu 3,125% + *S. mutans*

SAMPEL A										
Lapang pandang	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	2	3	2	2	0	2	3	2	0	3
2	5	2	2	1	3	2	2	1	1	2
3	1	3	0	2	2	3	5	2	2	1
4	0	2	2	3	0	0	2	2	3	3
5	4	2	1	2	2	3	0	3	2	3
6	2	0	2	5	3	2	0	2	3	2
7	1	2	4	0	0	3	0	2	2	3
8	3	2	3	0	1	0	2	1	3	2
9	1	3	1	1	0	2	3	1	2	0
10	4	0	5	0	4	2	0	2	1	2
jumlah	23	19	22	16	15	19	17	18	19	21
Total :										189
Indeks adhesi :										1,89

SAMPEL B										
Lapang pandang	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	4	3	5	2	3	2	1	2	2	4
2	6	0	2	5	3	1	2	2	4	2
3	3	2	3	2	2	1	0	2	2	1
4	2	0	3	3	0	0	2	1	1	2
5	3	0	2	4	3	3	4	1	0	2
6	2	2	3	5	2	2	1	0	1	2
7	4	3	1	0	0	1	5	2	3	1
8	3	2	2	0	0	1	2	2	0	0
9	0	0	1	0	4	0	0	5	0	2
10	2	3	1	1	2	3	2	0	4	3
Jumlah	29	15	23	22	19	14	19	17	17	19
Total :										194
Indeks adhesi :										1,94

SAMPEL C										
Lapang pandang	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	4	3	2	1	2	3	0	0	2	3
2	3	3	2	0	2	2	1	0	3	4
3	0	5	0	6	0	1	0	2	0	3
4	2	3	4	0	2	1	2	3	3	2
5	1	0	2	1	1	0	2	3	4	0
6	2	2	0	2	0	0	2	3	1	2
7	0	2	0	1	3	0	1	2	2	1
8	2	1	1	4	2	5	0	0	0	2
9	0	2	3	1	0	0	2	2	1	0
10	3	3	2	0	2	1	0	0	2	3
jumlah	17	24	16	16	14	13	10	15	18	20
Total :										163
Indeks adhesi :										1,63

SAMPEL D										
Lapang pandang	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	4	3	2	3	3	2	2	1	2	1
2	3	1	1	2	0	3	2	2	3	2
3	2	4	0	5	6	0	3	2	0	4
4	5	5	4	3	4	2	0	2	0	3
5	2	0	0	3	3	4	2	2	2	1
6	3	2	2	1	1	0	0	2	1	2
7	3	1	4	2	1	1	0	2	3	1
8	2	4	5	1	2	3	4	6	4	3
9	1	3	4	1	3	2	2	3	2	1
10	3	2	4	2	2	4	3	1	3	3
Jumlah	28	25	26	23	25	21	18	23	20	21
Total :										230
Indeks adhesi :										2,3

3. Kelompok III : isolat neutrofil + ekstrak daun wungu 6,25% + *S. mutans*

SAMPEL A										
Lapang pandang	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	3	2	2	1	3	0	2	2	2	2
2	2	2	3	4	2	4	3	3	3	2
3	1	3	3	3	2	5	2	2	2	2
4	2	3	2	2	5	2	4	3	3	2
5	4	4	0	2	3	3	2	2	0	2
6	0	0	1	0	2	2	3	2	0	1
7	2	2	1	0	0	0	4	3	2	2
8	2	2	1	2	2	0	0	2	1	2
9	1	1	2	0	3	2	3	2	3	4
10	3	2	0	2	2	1	0	3	2	1
jumlah	20	21	15	16	24	19	23	24	18	20
Total :										200
Indeks adhesi :										2,00

SAMPEL B										
Lapang pandang	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	3	2	3	0	4	3	3	3	3	3
2	2	2	3	0	0	0	2	1	0	3
3	4	3	2	3	2	2	1	2	0	2
4	2	0	2	1	1	2	2	3	1	0
5	1	2	1	2	0	0	0	3	2	2
6	3	2	2	1	1	2	2	3	2	1
7	0	0	2	0	0	2	1	0	2	0
8	1	0	0	1	1	2	0	2	1	1
9	3	2	1	0	0	2	1	1	1	2
10	2	2	0	0	0	1	0	1	1	2
Jumlah	21	15	16	8	9	16	12	19	13	16
Total :										145
Indeks adhesi :										1,45

SAMPEL C										
Lapang pandang	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	2	3	2	3	2	2	3	2	2	1
2	3	2	2	2	1	1	3	1	2	2
3	2	2	1	1	0	2	3	2	2	1
4	3	1	1	2	3	3	2	1	1	2
5	2	2	1	1	0	4	0	2	0	1
6	3	1	1	2	1	2	1	0	1	2
7	2	2	2	1	0	1	2	1	1	0
8	1	1	0	2	1	0	1	3	2	0
9	2	2	1	0	0	2	1	2	2	1
10	3	2	1	0	2	2	2	1	3	2
jumlah	23	18	12	14	10	19	18	15	16	12
Total :										157
Indeks adhesi :										1,57

SAMPEL D										
Lapang pandang	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	2	4	3	2	3	5	4	2	3	1
2	5	4	2	5	2	1	2	3	2	2
3	3	2	1	1	4	3	2	3	3	3
4	5	4	2	3	2	0	4	2	2	1
5	4	3	3	0	2	1	2	3	3	2
6	2	0	0	2	3	2	2	1	1	1
7	4	1	3	4	3	2	2	2	2	2
8	2	3	1	2	3	4	3	2	2	1
9	2	1	2	1	2	3	3	2	3	2
10	2	3	2	2	1	2	0	3	2	1
Jumlah	31	25	19	22	25	23	24	23	23	16
Total :										231
Indeks adhesi :										2,31

4. Kelompok IV : isolat neutrofil + ekstrak daun wungu 12,5% + *S. mutans*

SAMPEL A										
Lapang pandang	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	2	0	0	1	1	0	2	0	0	1
2	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0
3	1	1	0	0	2	3	0	2	0	1
4	2	1	1	2	0	0	1	0	1	1
5	1	0	2	0	2	0	1	0	0	0
6	2	0	1	0	1	2	0	0	2	1
7	1	1	2	1	0	0	1	1	0	0
8	2	0	0	1	1	1	0	1	1	1
9	1	2	2	0	0	2	0	1	0	2
10	2	0	0	1	2	0	0	1	1	1
jumlah	14	5	9	6	9	9	5	7	6	8
Total	:									78
Indeks adhesi	:									0,78

SAMPEL B										
Lapang pandang	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	0	0	0	1	0	2	0	1	1	0
2	2	0	2	2	1	0	0	2	1	1
3	0	0	0	0	2	2	2	0	0	1
4	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0
5	2	0	0	3	0	0	2	0	0	1
6	0	0	3	2	0	1	1	0	1	0
7	0	2	0	0	0	3	0	0	0	1
8	1	0	0	1	0	0	0	0	1	1
9	1	1	1	0	1	0	2	0	1	1
10	0	0	0	0	2	1	1	1	0	0
Jumlah	6	4	6	9	7	9	8	5	6	6
Total	:									66
Indeks adhesi	:									0,66

SAMPEL C										
Lapang pandang	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	2	2	0	3	2	2	0	0	1	1
2	2	0	2	0	1	1	2	2	0	1
3	0	1	1	2	2	0	1	0	1	2
4	2	2	1	0	1	0	2	1	0	2
5	1	0	2	2	2	0	1	1	0	1
6	2	0	1	1	0	2	0	0	2	2
7	1	0	2	0	1	0	1	1	2	0
8	2	0	1	1	0	1	0	3	2	2
9	3	2	0	0	2	0	1	2	0	1
10	4	2	0	2	2	3	2	3	2	2
jumlah	19	9	10	11	13	9	10	13	10	14
Total	:									118
Indeks adhesi	:									1,18

SAMPEL D										
Lapang pandang	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	2	3	5	2	3	2	2	2	1	0
2	3	1	0	2	1	1	1	2	2	2
3	0	3	2	0	2	1	1	2	1	2
4	4	0	3	2	3	2	0	2	1	2
5	1	2	2	2	2	0	2	0	2	2
6	0	0	3	2	1	2	3	0	0	2
7	1	0	0	2	0	2	2	3	2	2
8	1	2	0	3	1	0	0	2	1	2
9	1	2	3	0	0	2	2	1	0	0
10	2	0	0	1	1	0	1	0	1	1
Jumlah	15	13	18	16	14	12	14	14	11	15
Total	:									142
Indeks adhesi	:									1,42

5. Kelompok V : isolat neutrofil + ekstrak daun wungu 25% + *S. mutans*

SAMPEL A										
Lapang pandang	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	2	0	1	0	1	1	2	0	0	1
2	1	2	2	1	0	0	0	1	1	0
3	0	1	0	2	1	1	1	2	1	0
4	1	1	0	0	0	1	0	0	1	1
5	0	0	1	2	2	0	1	0	0	0
6	2	1	0	0	0	1	0	1	0	1
7	1	0	1	0	1	0	0	0	1	1
8	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0
9	0	0	1	0	1	0	0	1	1	1
10	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1
jumlah	8	6	6	7	6	5	5	5	5	6
Total :										59
Indeks adhesi :										0,59

SAMPEL B										
Lapang pandang	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	2	0	0	0	1	0	0	1	0	0
2	1	0	0	2	0	0	1	0	2	1
3	2	1	1	0	1	2	0	1	0	0
4	0	0	1	1	0	2	0	1	1	1
5	1	1	0	2	2	0	1	0	1	0
6	0	0	2	3	0	1	0	1	0	1
7	0	0	1	0	1	1	1	0	1	1
8	1	1	0	2	0	1	2	1	0	1
9	2	1	0	0	1	0	0	2	1	0
10	1	0	1	0	0	1	1	1	2	1
Jumlah	10	4	6	10	6	8	6	8	8	6
Total :										72
Indeks adhesi :										0,72

SAMPEL C										
Lapang pandang	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0
2	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0
4	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0
5	0	0	1	0	0	0	1	0	1	1
6	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
7	0	1	1	0	1	0	0	1	0	1
8	1	0	1	0	0	1	0	1	1	1
9	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0
10	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1
jumlah	3	4	3	2	4	4	5	4	4	4
Total :										40
Indeks adhesi :										0,4

SAMPEL D										
Lapang pandang	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	0	0	1	0	0	1	0	1	2	0
2	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0
3	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1
4	1	1	0	0	0	1	0	1	1	0
5	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1
6	1	1	0	1	0	0	1	0	1	0
7	0	0	1	0	1	1	0	1	0	1
8	1	0	1	0	0	1	1	0	1	0
9	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
10	1	1	0	0	1	0	1	0	0	1
Jumlah	5	3	3	4	4	4	5	3	6	5
Total :										42
Indeks adhesi :										0,42

Nilai indeks adhesi per sampel dan kelompok

Kelompok	Indeks adhesi per sample				Jumlah	Indeks adhesi per kelompok
Kelompok I	2,02	2	2,48	2,07	8,57	2,14
Kelompok II	1,89	1,94	1,63	2,30	7,76	1,94
Kelompok III	2	1,45	1,57	2,31	7,33	1,83
Kelompok IV	0,78	0,66	1,18	1,42	4,04	1,01
Kelompok V	0,59	0,72	0,40	0,42	2,13	0,53



Lampiran I. Analisis data penelitian

1. Deskriptif data penelitian

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Kontrol	4	1,94	2,49	2,2400	0,27677
3,125%	4	1,68	2,31	1,9075	0,27633
6,25%	4	1,43	2,29	1,8125	0,38939
12,5%	4	0,72	1,52	1,0525	0,39084
25%	4	0,51	0,77	0,6125	0,11147

2. Uji normalitas *Shapiro-Wilk test*

Tests of Normality Shapiro-Wilk

	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Hasil	Kontrol	,287	4	.	,853	4	,238
	3,125%	,374	4	.	,818	4	,139
	6,25%	,233	4	.	,946	4	,690
	12,5%	,288	4	.	,870	4	,296
	25%	,295	4	.	,905	4	,457

a. Lilliefors Significance Correction

3. Hasil Uji Homogenitas Data dengan *Levene's Test*

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3,008	4	15	,052

4. Hasil Uji Parametrik Menggunakan *Uji One Way Anova*

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7,184	4	1,796	19,117	,000
Within Groups	1,409	15	,094		
Total	8,594	19			

5. Hasil Uji *LSD (Least Significant Differences)*

Multiple Comparisons

LSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	3,125%	,33250	,21674	,146	-,1295	,7945
	6,25%	,42750	,21674	,067	-,0345	,8895
	12,5%	1,18750*	,21674	,000	,7255	1,6495
	25%	1,62750*	,21674	,000	1,1655	2,0895
3,125%	Kontrol	-,33250	,21674	,146	-,7945	,1295
	6,25%	,09500	,21674	,667	-,3670	,5570
	12,5%	,85500*	,21674	,001	,3930	1,3170
	25%	1,29500*	,21674	,000	,8330	1,7570
6,25%	Kontrol	-,42750	,21674	,067	-,8895	,0345
	3,125%	-,09500	,21674	,667	-,5570	,3670
	12,5%	,76000*	,21674	,003	,2980	1,2220
	25%	1,20000*	,21674	,000	,7380	1,6620
12,5%	Kontrol	-1,18750*	,21674	,000	-1,6495	-,7255
	3,125%	-,85500*	,21674	,001	-1,3170	-,3930
	6,25%	-,76000*	,21674	,003	-1,2220	-,2980
	25%	,44000	,21674	,060	-,0220	,9020
25%	Kontrol	-1,62750*	,21674	,000	-2,0895	-1,1655
	3,125%	-1,29500*	,21674	,000	-1,7570	-,8330
	6,25%	-1,20000*	,21674	,000	-1,6620	-,7380
	12,5%	-,44000	,21674	,060	-,9020	,0220

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