EKSTRAK BIJI KAKAO SEBAGAI PEMBERSIH GIGI TIRUAN AKRILIK TERHADAP JUMLAH KOLONI *CANDIDA ALBICANS*

SKRIPSI

Oleh:

RITA ANGELINA

020810029

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS AIRLANGGA

SURABAYA

2012

LEMBAR PENGESAHAN

EKSTRAK BIJI KAKAO SEBAGAI PEMBERSIH GIGI TIRUAN AKRILIK TERHADAP JUMLAH KOLONI *CANDIDA ALBICANS*

SKRIPSI

Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Menyelesaikan Pendidikan Dokter Gigi di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya

Oleh:

RITA ANGELINA
NIM: 020810029

Menyetujui

Pembimbing Utama	Pembimbing Serta
Soebagio, drg.,M Kes.	**Endanus Harijanto, drg, M. Kes**
NIP: 19561019198403 1 002	**NIP: 19570505198303 1 005**

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2012

PENETAPAN PANITIA PENGUJI

Skripsi ini telah diuji pada tanggal 13 Januari 2012

PANITIA PENGUJI SKRIPSI

1. **Soebagio, drg., M. Kes (Pembimbing Utama)**
2. **Endanus Harijanto, drg., M. Kes (Pembimbing Serta)**
3. **Asti Meizarini, drg., M.S (Ketua Penguji)**
4. **Titien Hary Agustantina, drg., M. Kes (Notulen)**
5. **R.M Yogiartono, drg., M. Kes (Anggota)**

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Kuasa atas rahmat dan berkatNya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Ekstrak Biji Kakao Sebagai Bahan Pembersih Gigi Tiruan Akrilik Terhadap Jumlah Koloni *Candida albicans*". Penyusunan skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk menyelesaikan strata satu Program Studi Pendidikan Dokter Gigi di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya.

Penyusunan skripsi ini tak lepas dari dukungan dan bantuan banyak pihak. Oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Prof. R.M. Coen Pramono Danudiningrat, drg., S.U., Sp.BM (K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya.
2. Prof. Dr. Anita Yuliati, drg., M.Kes selaku Ketua Departemen Material Kedoteran Gigi yang telah memberikan ijin untuk pembuatan skripsi.
3. Soebagio, drg., M. Kes , selaku dosen pembimbing utama dalam penyusunan skripsi ini. Terima kasih atas doa, bimbingan, semangat, kepercayaan serta nasehat-nasehat yang telah diberikan.
4. Endanus Harijanto, drg., M. Kes selaku dosen pembimbing serta dalam penyusunan skripsi ini. Terima kasih atas doa, bimbingan, semangat, kepercayaan serta nasehat-nasehat yang telah diberikan.

6. Dosen-dosen penguji proposal dan skripsi, Asti Meizarini, drg., M.S, Titien Hary Agustantina, drg., M. Kes., R.M Yogiartono, drg., M. Kes. Terima kasih atas saran, tanggapan dan masukan-masukannya
5. Kepada orang tua dan keluarga. Terima kasih atas doa, dukungan, semangat dan kepercayaan yang telah diberikan.
6. Teman – teman seperjuangan. Terimakasih atas bantuan, dukungan dan masukan-masukannya.
7. Serta semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis berharap, semoga penulisan skripsi ini dapat bermanfaat bagi dokter gigi, mahasiswa Fakultas Kedokteran Gigi khususnya dan pembaca pada umumnya. Untuk itu, kritik dan saran yang membangun dari berbagai pihak sangat diharapkan.

Semoga skripsi ini dapat menjadi sumbangan yang berguna bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

Surabaya, 12 Januari 2012

Penulis

EKSTRAK BIJI KAKAO SEBAGAI PEMBERSIH GIGI TIRUAN AKRILIK TERHADAP JUMLAH KOLONI *CANDIDA ALBICANS*

Cacao Seed Extract as a Acrylic Denture Cleaning of the Candida Albicans Colony Counts

ABSTRACT

Background. *Candida Albicans is believed to be the cause of denture stomatitic. Cacao seed extract contains polyphenol which has antimicrobes and antifungal activities expecially against Candida Albicans.* ***Purpose.*** *This research aims to evaluate number of Candida Albicans colonies that grow on acrylic resin plates after immersed in cacao seed extract.* ***Method.*** *The method used in this study was carried out on unpolished acrylic resin plates with 10x10x10mm dimension, solution with 12,5%, 25%, 50% cacao seed extract concentrations, 8 hours of immersion times to calculate the candida albicans colony counts. Sterilized aquadest used as a control. Calculation on Candida albicans existence was carried out by calcuting the amount of Candida albicans colonies which grew on Soudauroud's dextrose aga. The data was analyzed using One-way Anova and LSD with 5% degree of significance.* ***Result.*** *There was a significant difference between groups of cacao seed extract concentration 12,5%, 25% and 50% and control ($p<0,05$).* ***Conclusion.*** *The Concentration of Cacao seed extract 50% is the most effetive to decrease the numbers of colonies Candida Albicans on acrylic resin plates.*

Keywords : Candida Albicans, cacao seed extract, antifungi.

DAFTAR ISI

Halaman

LEMBAR JUDUL..... i

LEMBAR PENGESAHAN..... ii

KATA PENGANTAR..... iv

ABSTRACT vi

DAFTAR ISI vii

DAFTAR TABEL…… x

DAFTAR GAMBAR..... xi

BAB 1. PENDAHULUAN 1

1.1 Latar belakang.....1

1.2 Rumusan masalah …… 4

1.3 Tujuan penelitian.....4

1.4 Manfaat penelitian …….. ..4

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA 5

2.1 Resin Akrilik.....5

2.1.1. Jenis dan Komposisi Resin Akrilik 5

2.1.2. Polimerasi Resin Akrilik 6

2.1.3. Sifat-Sifat Resin Akrilik *Heat cured*..... 6

2.2 Kakao 7

2.2.1 Kandungan Kimia pada Kakao…….. 9

2.2.2.1 Tinjauan tentang Senyawa Polifenol ..……..……..... 10

2.3 Bahan Pembersih Gigi Tiruan……12

2.4 Candida Albicans…… 14

2.4.1 Lapisan Biofilm pada *Candida albicans*…… 16

2.4.2 Perlekatan *Candida albicans* pada Lempeng Akrilik…….. 16

2.5 Penghitungan Jumlah Koloni *Candida albicans*……. 18

BAB 3. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS.....19

BAB 4 METODE PENELITIAN.....21

4.1 Jenis penelitian 21

4.2 Rancangan penelitian.....21

4.3 Subjek penelitian 21

4.4 Sampel penelitian.....21

4.4.1 Kriteria sampel.....21

4.4.2 Jumlah Sampel …… ...21

4.5 Variabel Penelitian …….. 22

4.5.1 Variabel bebas.....22

4.5.2 Variabel tergantung 22

4.5.3 Variabel terkendali …… 22

4.6 Definisi Operasional Variabel ……. 23

4.7 Lokasi dan Waktu Penelitian 23

4.8 Alat dan Bahan penelitian 25

4.8.1 Bahan Penelitian …….. 25

4.8.2 Alat Penelitian 25

4.9 Cara Kerja..... 25

4.9.1 Pembuatan Ekstrak Biji Kakao …….. 25

4.9.2 Persiapan Suspensi Candida Albicans 27

4.9.2.1 Identifikasi Candida Albicans 27

4.9.2.2 Pembuatan Suspense Candida Albicans.....27

4.9.3 Penetuan Konsentrasi Ekstrak Biji Kakao Dengan Cara Penipisan Seri …….. 28

4.9.4 Pembuatan lempeng resin akrilik jenis *heat cured* 30

4.9.5 Cara Pembuatan Saliva Steril 31

4.9.6 Konsentrasi Ekstrak Biji Kakao Sebagai Bahan Perendam……31

4.9.7 Penghitungan Candida Albicans.....32

4.10 Pengolahan dan Analisis Data..... ...33

4.11 Alur Penelitian.....34

BAB 5. HASIL PENELITIAN.....35

5.1 Hasil Penelitian.....35

BAB 6. PEMBAHASAN 39

BAB 7. SARAN DAN SIMPULAN.....42

DAFTAR PUSTAKA.....43

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 Hasil Perhitungan Nilai *Mean* dan Standart Deviasi ……... 36

Tabel 5.2 Hasil Uji *One Way ANOVA* ……. 37

Tabel 5.3 Hasil Uji Lanjut dengan *Least Significant Difference* (LSD) ……. 38

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman kakao…….. 9

Gambar 2.2 Buah kakao……. 9

Gambar 2.3 Biji kakao…… 9

Gambar 2.5 Struktur Polifenol……..... 11

Gambar 2.6 *Candida Albicans*……... 14

Gambar 4.1 Bubuk Biji Kakao ……26

Gambar 4.2 Kertas Saring, corong gelas dan ekstrak biji kakao …… 26

Gambar 4.3 Maserasi Kinetik ……..... 27

Gambar 4.4 *Rotary Evapouration1*…… 27

Gambar 4.5 Sampel Lempeng Akrilik Heat Cured ……... 30

Gambar 5.1 Koloni *Candida albicans* dalam media *Sabouraud's dextrose agar.* Hasil perontokan dari lempeng akrilik yang direndam dalam ekstrak biji kakao 50% ……35

Gambar 5.2 Koloni *Candida albicans* dalam media *Sabouraud's dextrose agar.* Hasil perontokan dari lempeng akrilik yang direndam dalam ekstrak biji kakao 25% ……35

Gambar 5.3 Koloni *Candida albicans* dalam media *Sabouraud's dextrose agar.* Hasil perontokan dari lempeng akrilik yang direndam dalam ekstrak biji kakao 12,5% …… 36

Gambar 5.4 Koloni *Candida albicans* dalam media *Sabouraud's dextrose agar.* Hasil perontokan dari lempeng akrilik yang direndam dalam *aquades steril* sebagai control…….. 36

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Resin akrilik polimetil metakrilat (PMMA) jenis *heat cured* sampai saat ini masih merupakan pilihan utama bahan basis gigi tiruan. Keuntungan resin akrilik ini karena mempunyai sifat antara lain tidak toksis, mudah dimanipulasi, tidak menimbulkan iritasi, tidak larut dalam cairan mulut meskipun menyerap air, mempunyai estetika yang cukup baik, warna dapat dibuat mirip gingiva dan stabil, mudah dipreparasi, perubahan dimensi kecil dan harganya terjangkau (Craig 2004, p 280).

Penutupan mukosa oleh basis gigi tiruan dapat mengurangi efek pembersihan sisa makanan oleh saliva. Akibatnya sisa makanan makin menumpuk dan mikro organisme termasuk prevalensi *Candida albicans* dapat meningkat. Koloni *Candida albicans* banyak dijumpai pada pemakai gigi tiruan lepasan yang tidak pernah melepas dan membersihkan gigi tiruan lepasannya, *Candida albicans* akan meningkat bila terjadi *denture stomatitis* (Nevzatoglu 2007, p 232).

Candida albicans hidup secara *inocous comensals* yaitu hidup pada organisme lain dan tidak membahayakan. *Candida albicans* dapat berubah menjadi patogen apabila pemakai gigi tiruan tidak menjaga *oral hygene* dengan baik (Naoumi 2009, p 270). Pencegahan berkembangnya *Candida albicans* pada pemakai gigi tiruan adalah hal yang penting, sehingga terjadinya *denture stomatitis* dapat

terhindarkan. Salah satu cara untuk mencegah perkembangan *Candida albicans* adalah dengan membersihkan gigi tiruan secara teratur.

Pembersihan gigi tiruan dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu dengan cara mekanik dan kimiawi. Pembersihan secara mekanik dilakukan dengan sikat gigi atau alat pembersih ultrasonik, sedangkan pembersihan secara kimiawi dengan merendam gigi tiruan ke dalam larutan pembersih yang mengandung antiseptik (Jogersen 1979, p 619). Perendaman gigi tiruan ke dalam larutan pembersih adalah salah satu upaya dalam mencegah pertumbuhan bakteri maupun jamur (Harris 2001, p 282). Dalam penelitian ini digunakan ekstrak biji kakao sebagai pengganti bahan pembersih gigi tiruan. Pengolahan biji kakao menjadi ekstrak ditujukan agar kandungannya lebih murni, tidak mudah untuk ditumbuhi organisme, dan tidak mudah rusak (Richard, J.P. 1998, p 346).

Perendaman lempeng akrilik *heat cured* ke dalam ekstrak biji kakao dilakukan selama 8 jam, karena penderita pada umumnya melepas gigi tiruan pada malam hari saat beristirahat atau tidur yaitu selama 6-8 jam dan pada saat tidur malam inilah merupakan waktu yang paling efektif untuk merendam gigi tiruan dalam larutan disinfektan (Jorgensen, 1979, p 619-22 cit Devi R, 2003, p 129).

Tanaman kakao atau biasa disebut dengan cokelat mendapatkan perhatian beberapa tahun terakhir ini, karena telah terbukti adanya efek anti kariogenik dari percobaan *in vivo* dan *in vitro* dari tanaman tersebut (Ferazzano 2009, p 256). Biji kakao (*Theobroma cacao*) mempunyai beberapa komponen aktif, salah satunya adalah polifenol. Penelitian Devi 2010 mengatakan bahwa kandungan polifenol dalam ekstrak biji kakao efektif sebagai antibakteri, namun sebagai anti fungi masih

belum diketahui. Didalam polifenol terdapat sekitar 8000 senyawa polifenol yang ada di alam dan setengahnya adalah flavonoid. Flavonoid pada ekstrak biji kakao sebesar 4,08% (Balai Penelitian dan Konsultasi Industri Laboratorium Penelitian dan Konsultasi Industri Surabaya) mempunyai banyak fungsi seperti: antioksidan, anti-radang, dapat menyebabkan denaturasi protein dan berfungsi sebagai antivirus atau anti bakteri dan antifungi (Jawetz 2007, p 673).

Sehubungan dengan adanya sifat antifungi pada flavonoid yang terdapat pada ekstrak biji kakao, peneliti ingin mengetahui kemampuan ekstrak biji kakao sebagai bahan pembersih gigi tiruan akrilik terhadap pertumbuhan koloni *Candida albicans*. Konsentrasi ekstrak biji kakao yang digunakan pada penelitian ini adalah 12,5%, 25%, dan 50% yang didapatkan dengan cara melakukan penelitian pendahuluan terlebih dahulu. Penelitian pendahuluan terhadap ekstrak biji kakao dilakukan untuk mengetahui kemampuan dalam menghambat pertumbuhan koloni *Candida albicans*, dengan cara penipisan seri (*serial dilution*) untuk melihat kekeruhan larutan ekstrak biji kakao dalam tabung reaksi, yang kemudian dikonfirmasi dengan penanaman pada media *Sabouroud's dextrose agar*. Hasilnya adalah pada konsentrasi 12,5% larutan ekstrak biji kakao pada tabung reaksi terlihat keruh, dan pada media *Sabouroud's dextrose agar* terdapat banyak pertumbuhan koloni *Candida albicans*, konsentrasi 25% larutan ekstrak biji kakao pada tabung reaksi terlihat mulai jernih, dan pada media *Sabouroud's dextrose agar* terdapat sedikit pertumbuhan koloni *Candida albicans*, konsentrasi 50% larutan ekstrak biji kakao pada tabung reaksi terlihat jernih, dan pada media *Sabouroud's dextrose agar* tidak terdapat pertumbuhan koloni *Candida albicans*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian yang telah dikemukakan, maka dapat dirumuskan suatu rumusan masalah sebagai berikut :

Apakah ekstrak biji kakao sebagai pembersih gigi tiruan akrilik mampu menurunkan jumlah koloni *Candida albicans.*

1.3 Tujuan penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan ekstrak biji kakao sebagai pembersih gigi tiruan akrilik terhadap jumlah koloni *Candida albicans.*

1.4 Manfaat penelitian

Penelitian ini bermanfaat untuk memberikan informasi mengenai khasiat ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) dalam menurunkan jumlah koloni *Candida albicans* pada pengguna gigi tiruan yang terbuat dari resin akrilik jenis *heat cured.*

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Resin Akrilik

Resin akrilik merupakan salah satu bahan yang paling sering digunakan untuk pembuatan basis gigi tiruan. Resin akrilik adalah turunan etilen yang mengandung gugus vinil dalam rumus strukturnya yang juga sering disebut dengan nama *polymetyl metacrylate*. Sifat akrilik yang cukup aman dan non toksik adalah alasan utama dalam penggunaannya untuk basis gigi tiruan. Dilihat dari segi biologis, akrilik tidak memiliki rasa, tidak berbau, dan tidak mengiritasi jaringan mulut (Combe 1992, p 191).

2.1.1 Jenis Resin Akrilik dan Komposisi Resin Akrilik.

Menurut American Dental Association (1974) resin akrilik dapat dibedakan menjadi 2 jenis, *self cured* akrilik dan *heat cured* akrilik. Bahan yang paling umum digunakan untuk basis gigi tiruan adalah tipe *heat cured* akrilik. *Heat cured* akrilik terdiri dari 2 komposisi, yaitu polimer yang belum teraktivasi dalam bentuk bubuk dan monomer berbentuk cairan. Bubuk akrilik mengandung *Polimetyl Methacrylate* dengan inisiator *Benzoyl Peroxida* 0.2%-0.5% serta pigmen 1% (McCabe 2008, p114). Penambahan pigmen memiliki tujuan agar warna yang didapatkan dapat menyerupai jaringan gingiva. Sedangkan bentuk cairan dari akrilik mengandung monomer *Methyl Methacrylate* dengan *hidroquinon* 0.0006% dan *cross linking agent* 1-2%. *Hidroquinon* ditambahkan sebagai stabilisator untuk mencegah terjadinya

polimerisasi selama penyimpanan. *Cross linking agent* yang biasa digunakan adalah *Ethyleneglycol Dimethacrylate* untuk menyambung molekul polimer yang panjang sehingga polimer menjadi kuat dan keras serta tahan goresan dan keretakan (Anusavice 2003, p 730).

2.1.2 Polimerisasi Resin akrilik

Polimerisasi resin akrilik lebih mengarah pada polimerisasi adisi yang memilik tahap-tahap aktivasi, inisiasi, propagasi, dan terminasi (Annusavice 2003, p. 726). Setelah proses polimerisasi berakhir pada tahap terminasi, akrilik akan tetap memiliki monomer sisa sebesar 0.2-0.5%. Hal ini juga dapat dipengaruhi oleh suhu dan lama prosesing resin akrilik. Semakin rendah dan singkat waktu yang tersedia, monomer sisa akan bertambah jumlahnya. Monomer sisa memiliki sifat yang kurang menguntungkan. Monomer sisa dapat menyebabkan iritasi pada jaringan mulut serta dapat menurunkan kekuatan dan mempertinggi fleksibilitas dari resin akrilik tersebut (McCabe 2008, p. 120).

2.1.3 Sifat-sifat Resin Akrilik *Heat Cured*

Penanganan yang kurang baik, dapat menyebabkan resin akrilik memiliki porositas. Dua jenis porositas yang mungkin terjadi yaitu *shrinkage porosity* dan *gaseous porosity*. *Shrinkage porosity* sering muncul sebagai lubang tak beraturan pada permukaan dan dalam basis gigi tiruan. Sedangkan *gasseous porosity* merupakan bentukan gelembung- gelembung udara yang tak beraturan dan tersebar

pada daerah yang tertebal dari *denture* dan jauh dari sumber panas luar (Annusavice 2003,p. 738).

Resin akrilik dapat menyerap air hingga 2% karena sifatnya yang dapat mengabsorbsi air. Setiap kenaikan berat akrilik sebesar 1 % disebabkan oleh absorbsi air menyebabkan terjadinya ekspansi linear sebesar 0,23 % (Combe, 1992; McCabe, 2008). Akan tetapi, dalam keadaan kering, resin akrilik dapat mengalami penyusutan, oleh karena itu, *denture* harus direndam dalam air selama tidak digunakan.

Crazing dapat terjadi pada resin akrilik jika terjadi stres mekanik, perbedaan koefisien ekspansi termis, serta kerja bahan pelarut. Abrasi juga dapat terjadi dengan berjalannya waktu yang disebabkan oleh makanan dan *dentrifice cleanser*. Pemilihan *cleanser* yang tepat dapat mengurangi terjadinya abrasi. Resin akrilik juga dapat mengalami kepatahan apabila terjadi *fatigue* dan terjatuh (McCabe 2008, p 119-21).

2.2 Kakao

Divisio : *Spermatophyta*

Sub Divisi : *Angiospermae*

Kelas : *Dycotuledoneae*

Ordo : *Malvales*

Famili : *Sterculiaceae*

Marga : *Theobroma*

Jenis : *Theobroma cacao L.*

Cokelat dihasilkan dari biji buah kakao (Theobroma cacao), kata cokelat berasal dari xocoatl (bahasa suku Aztec) yang berarti minuman pahit (West 1992, p.

105). Kakao (Theobroma cacao) merupakan tumbuhan tahunan (perennial) berbentuk pohon, di alam dapat mencapai ketinggian 10 m. Meskipun demikian, dalam pembudidayaan tingginya dibuat tidak lebih dari 5m tetapi dengan tajuk menyamping yang meluas. Hal ini dilakukan untuk memperbanyak cabang produktif.

Bunga kakao, sebagaimana anggota Sterculiaceae lainnya, tumbuh langsung dari batang (cauliflorous). Bunga sempurna berukuran kecil (diameter maksimum 3cm), tunggal, namun nampak terangkai karena sering sejumlah bunga muncul dari satu titik tunas. Bunga kakao tumbuh dari batang. Penyerbukan bunga dilakukan oleh serangga (terutama lalat kecil midge) Forcipomyia, semut bersayap, afid, dan beberapa lebah Trigona) yang biasanya terjadi pada malam hari1. Bunga siap diserbuki dalam jangka waktu beberapa hari (Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia).

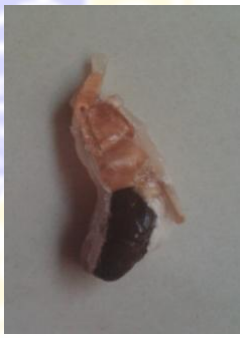
Kakao (Theobroma cacao) secara umum adalah tumbuhan menyerbuk silang dan memiliki sistem inkompatibilitas sendiri. Walaupun demikian, beberapa varietas kakao mampu melakukan penyerbukan sendiri dan menghasilkan jenis komoditi dengan nilai jual yang lebih tinggi. Buah tumbuh dari bunga yang diserbuki. Ukuran buah jauh lebih besar dari bunganya, dan berbentuk bulat hingga memanjang. Buah terdiri dari 5 daun buah dan memiliki ruang dan di dalamnya terdapat biji. Warna buah berubah-ubah. Sewaktu muda berwarna hijau hingga ungu. Apabila masak kulit luar buah biasanya berwarna kuning (McNeil 2002, p 218).

Biji terangkai pada plasenta yang tumbuh dari pangkal buah, di bagian dalam. Biji dilindungi oleh salut biji lunak berwarna putih. Dalam istilah pertanian disebut pulp. Endospermia biji mengandung lemak dengan kadar yang cukup tinggi. Dalam

pengolahan pascapanen, pulp difermentasi selama tiga hari lalu biji dikeringkan di bawah sinar matahari (Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia).

Gambar 2.1 Tanaman kakao

Gambar 2.2. Buah kakao



Gambar 2.3. Biji kakao

2.2.1 Kandungan Kimia pada Kakao

Kakao mengandung alkaloid-alkaloid seperti teobromin, *phenylethylamine*, dan anandamida, yang memiliki efek fisiologis untuk tubuh. Kandungan-kandungan

ini banyak dihubungkan dengan tingkat serotonin dalam otak. (Smart & Simmon 1995, p. 472).

Rasa asli biji kakao sebenarnya pahit akibat kandungan alkaloid, tetapi setelah melalui rekayasa proses dapat dihasilkan kakao sebagai makanan yang disukai oleh siapapun. Biji kakao mengandung lemak 31%, karbohidrat 14%, dan protein 9%. Meski kakao mengandung lemak tinggi namun relatif tidak mudah tengik karena kakao juga mengandung polifenol 11,58% (Balai Penelitian dan Konsultasi Indutri Laboratorium Penelitian dan Konsultasi Industri Surabaya) yang berfungsi sebagai antioksidan pencegah ketengikan, selain itu polifenol diketahui dapat berfungsi sebagai anti bakteri dan dapat dimungkinkan sebagai antifungi karena kandungan flavonoid dan tannin yang terkandung dalam polifenol (Jardin 1999, p. 119).

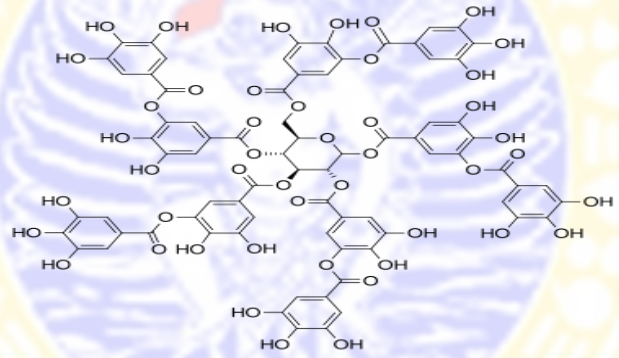
2.2.1.1 Tinjauan tentang Senyawa Polifenol

Senyawa polifenol adalah senyawa yang memiliki *carboaromatic ring* yang berdistribusi dengan satu atau lebih gugus hidroksil seperti fenol. Komponen fenol tersebar luas pada mikroorganisme sampai tanaman tingkat tinggi dan pada binatang. (Nakanishi.K. 1995 cit Puspita B.A. 2004, p 6)

Fenol dapat membunuh sel vegetatif jamur, dan bakteri pembentuk spora dengan mengadakan denaturasi protein dan menurunkan tegangan permukaan sehingga permeabilitas bakteri meningkat (Suhendra 1997).

Cara kerja fenol membunuh sel vegetatif jamur dan bakteri pembentuk spora Melville and Russel (1981) adalah :

1. Bereaksi dengan protein sel melalui proses penghambatan atau pembunuhan dengan cara merusak sistem koloid dengan mengadakan koagulasi dan presipitasi protein. Adanya koagulasi protein sel menyebabkan gangguan metabolisme.
2. Gangguan sistem enzim, dapat merupakan reaksi dengan bagian-bagian dari sistem enzim seperti koenzim atau enzim mengaktifkan ion-ion.
3. Merubah permeabilitas sel membrane dengan menurunkan tegangan permukaan yang mengakhibatkan kenaikan permeabilitas sel membran sehingga cairan masuk dan membunuh mikroba atau jamur.



Gambar 2.5. Struktur Polifenol

Polifenol meliputi senyawa yang sederhana seperti : *arbutin, eugenol, hydroquinn dan myristicin*, sampai senyawa dengan struktur yang lebih kompleks, yaitu : *griseofulvin, podophyllotoxin, procyanidine*, dan *usnic acid.* Pada umumnya sebagian besar polifenol adalah larut air karena berkombinasi dengan gula membentuk glikosida, dalam tanaman dapat ditemukan pada vakuola sentral. Senyawa polifenol lain yang memiliki struktur sederhana adalah *phenolic acid, phenylpropanoids*. (Harborne, 1999, p. 572)

Terdapat sekitar 8000 senyawa polifenol yang ada di alam dan setengahnya adalah flavonoid. Flavonoid merupakan salah satu fenol alam yang terbesar dan terdapat pada semua tumbuhan hijau sehingga dapat dipastikan flavonoid juga terdapat pada ekstrak tumbuhan. Flavonoid pada ekstrak biji kakao sebesar 4,08% yang mempunyai banyak fungsi seperti: antioksidan, anti-radang, dapat menyebabkan denaturasi protein dan berfungsi sebagai antivirus atau anti bakteri dan antifungi (Jawetz 2007, p 673).

Beberapa gugus polimer senyawa polifenol lain yang banyak terdapat dalam tanaman yaitu : tanin, lignin, dan melanin (Harborne, 2006). Tanin dinamakan juga asam manat dan asam galotanat, ada yang tidak berwarna tetapi ada juga yang berwarna kuning atau coklat. Dipandang dari sudut kimia senyawa organik tanin alam dibagi menjadi dua kelompok, yaitu tanin terhidrolisis (misalnya ester asam galat dan asam galat beserta turunannya dengan glukosa) dan tanin terkondensasi. Asam galat yang merupakan tanin terhidrolisis ini memiliki fungsi sebagai astringen, antidiare, anti bakteri, anti fungi, antiinflamasi dan antimutagenik (Harborne, 1999, p. 572).

2.3 Bahan Pembersih Gigi Tiruan

Gigi tiruan berbasis akrilik jenis *heat cured* selama digunakan selalu berkontak dengan saliva, minuman, dan makanan. Pada pasien yang memakai gigi tiruan, mukosa mulutnya tertutup oleh basis gigi tiruan dalam waktu yang lama, sehingga menghalangi pembersihan permukaan mukosa maupun permukaan gigi tiruan oleh lidah dan efek *self cleansing* oleh saliva.

Penumpukan plak dan sisa – sisa makanan akan menyebabkan peningkatan frekuensi dan kepadatan *Candida albicans*. Hal tersebut berhubungan dengan proliferasi *Candida albicans* yang terdapat pada plak yang melekat pada gigi tiruan. Oleh karena itu disinfektan gigi tiruan merupakan faktor penting yang harus dilakukan (Tomamoto dkk, 1985 cit Annisa Rakhmadhani 2002, p.12).

Pembersihan gigi tiruan dapat dilakukan dengan cara mekanik dan cara kimia. Pembersihan secara mekanik dilakukan dengan menyikat gigi atau dengan alat ultrasonic, sedangkan pembersihan secara kimia dilakukan dengan merendam gigi tiruan ke dalam larutan pembersih (Jorgensen 1999, p 619). Membersihkan gigi tiruan resin akrilik dengan cara kimia lebih efeketif dibandingkan dengan cara mekanik. Perendaman gigi tiruan akrilik ke dalam larutan pembersih gigi tiruan dapat dilakukan selama 15 menit, 30 menit, 1 jam atau 8 jam (sepanjang malam). Pada penelitian ini gigi tiruan direndam dalam larutan ekstrak biji kakao selama 8 jam karena pemakai gigi tiruan biasanya melepas dan merendam gigi tiruannya ke dalam larutan pembersih gigi tiruan selama tidur malam (Nikawa 1998, p 77-82)

Syarat – syarat bahan yang dapat digunakan untuk membersihkan gigi tiruan (Craig 2004, p 212) :

1. Tidak beracun dan tidak mengiritasi
2. Dapat menghilangkan kotoran yang melekat pada gigi tiruan
3. Stabil dalam perendaman
4. Lebih baik jika dapat mematikan kuman, bakeri dan jamur
5. Tidak merusak akrilik
6. Mempunyai efek merugikan yang minimal terhadap bahan-bahan gigi tiruan

2.4 *Candida Albicans*

Kingdom : *Fungi*

Phylum : *Ascomycota*

Subphylum : *Saccharomycotina*

Class : *Saccharomycetes*

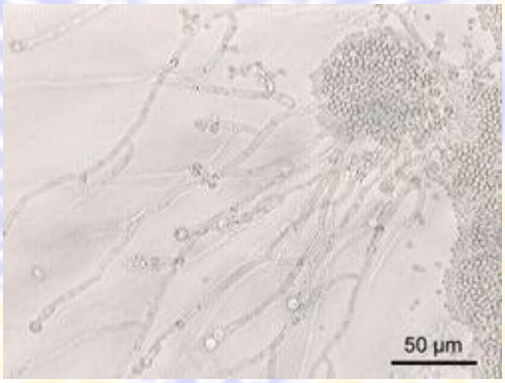
Ordo : *Saccharomycetales*

Family : *Saccharomycetaceae*

Genus : *Candida*

Spesies : *Candida albicans*

Sinonim : *Candida stellatoidea* dan *Oidium albicans*



Gambar 2.6 *Candida Albicans*

Candida albicans adalah jamur yang berbentuk lonjong, bertunas dan berwarna putih yang menghasilkan *pseudomiselium*. Spesies *Candida* ada 8 macam, yang ditemukan pada akrilik denture dan epitel bukal manusia, yaitu : *Candida albicans, Candida glabarata, Candida parapsilosis, Candida tropicalis, Candida stellaitodea, Candida gullermondil, Candida pseudeotropicalis, Candida krusei* sedang spesies yang paling sering menyebabkan infeksi yaitu *Candida albicans*

(Calderone R.A 2002, p 6). *Candida albicans* mempunyai tiga bentuk morfologi, yaitu :

1. *Chalamydospora* terdiri dari badan sel yang bentuknya bulat diameter 7-17µm, bentuk ini ditemukan pada pembenihan dalam media yang tidak memungkinkan terjadinya pertumbuhan yang optimal (media yang kurang nutrisi) seperti *corn meal agar*.
2. Bentuk *vegetative* atau *yeast* terlihat sebagai kumpulan sel berbentuk bulat atau oval dengan diameter 1,5-5µm dan panjang 3-14µm. Sel tersebut melekat pada *pseudeumycelium* dalam kelompok kecil dan disebut *blastopora.*
3. *Pseudohypha sel* yang membentuk ekor panjang pada pembiakan serum manusia atau hewan. Bentuk ini terlihat sebagai tonjolan yang akhirnya akan membentuk sekumpulan *pseudomycellium*.

Candida albicans merupakan mikrorganisme komensal yang didapatkan 20 – 60 % dalam rongga mulut orang sehat. *Candida albicans* merupakan *fungi opportunistic patogen* artinya *Candida albicans* bersifat tidak patogen pada individu normal tetapi akan menjadi patogen pada individu yang menderita berbagai macam kelainan sistemik atau pada penderita yang dirawat dengan antibiotik luas. Perubahan status *Candida albicans* dari komersial menjadi *opportunistic pathogen* berhubungan dengan faktor lokal dan sistemik yang sangat sulit dijelaskan karena patogenesis terjadinya infeksi oleh *Candida albicans* adalah komplek (Calderone 2002, p 3).

2.4.1 Lapisan Biofilm pada *Candida albicans*

Kemampuan suatu mikroorganisme untuk mempengaruhi lingkungannya tergantung pada kemampuan untuk membentuk suatu komunitas. *Candida albicans* membentuk komunitasnya dengan membentuk ikatan koloni yang disebut biofilm, sebagai pelindung sehingga mikroba yang membentuk biofilm biasanya mempunyai resistensi terhadap antimikroba biasa atau menghindar dari sistem kekebalan sel inang. Secara struktur, biofilm terbentuk dari dua lapisan yaitu lapisan basal yang tipis berupa lapisan khamir dan lapisan luar yaitu lapisan hifa yang lebih tebal tetapi lebih renggang (Doyle 2003, p 279).

Berkembangnya biofilm biasanya seiring dengan bertambahnya infeksi klinis pada sel inang sehingga biofilm ini dapat menjadi salah satu faktor virulensi dan resistensi. Pembentukan biofilm dapat dipacu dengan keberadaan serum dan saliva dalam lingkungannya (Nikawa 1998, p 77). Faktor lain yang mempengaruhi pembentukan biofilm *Candida albicans* diantaranya adalah ketersediaan udara. Pada kondisi anaerob, *Candida albicans* dapat membentuk hifa tetapi tidak mampu membentuk biofilm (Doyle 2003, p 279).

2.4.2 Perlekatan *Candida albicans* pada Lempeng Akrilik

Perlekatan *Candida albicans* pada lempeng akrilik terjadi melalui dua tahap, tahap awal perlekatan dan tahap perlekatan sekunder (Nevzatoglu et al, 2007,p.231). Tahap awal perlekatan didasari oleh teori termodinamik. Makin tinggi *surface energy* akrilik akan menyebabkan makin banyak perlekatan *Candida albicans* karena permukaan akrilik dapat berfungsi sebagai *reservoir* bagi *Candida albicans* yang juga

bersifat hidropobik (Cenci et al 2008, p 89). Sedangkan pada tahap sekunder melibatkan interaksi adesi dan reseptor. Mikrorganisme memiliki sifat adesif yang dapat mengikat reseptor komplemen pada permukaan resin akrilik secara stereokimia (Nevzatoglu et al 2007, p 232). Perlekatan *Candida albicans* pada akrilik merupakan awal kolonisasi dan perkembangan suatu infeksi (Noumi et al 2009, p 269).

Para peneliti menemukan bahwa koloni *Candida albicans* dijumpai pada penderita pemakai gigi tiruan lepasan dan koloni tersebut akan meningkat pada penderita dengan *denture stomatitis* oleh karena gigi tiruan (Nevzatoglu 2007, p 236). Keadaan tersebut juga dijumpai pada penderita yang tidak melepas gigi tiruannya pada malam hari. Pemakaian gigi tiruan merupakan salah satu faktor yang dapat menyebabkan meningkatnya *Candida albicans* dalam mulut. Penutupan mukosa oleh basis gigi tiruan dapat mengurangi efek pembersihan sisa makanan oleh saliva. Akibatnya sisa makanan makin menumpuk dan mikroorganisme termasuk prevalensi *Candida albicans* dapat meningkat. Pada keadaan normal, bakteri baik dalam usus akan berkompetisi dengan candida dan menjaganya agar tetap terkendali tanpa menyebabkan masalah kesehatan apapun. Namun ketika keseimbangan antara bakteri baik dan *Candida albicans* terganggu, maka infeksi atau candidiasis tidak dapat dihindari lagi (Cenci et al 2008, p 87).

Infeksi *Candida albicans* menyebabkan berbagai masalah kesehatan. Pada wanita dapat menyebabkan keputihan, rasa gatal dan terbakar pada vagina yang biasa disebut dengan vaginitis (Romani 2000, p175-9). Sedangkan infeksi *Candida* di mulut atau yang biasa disebut *oral candidiasis* atau *thrush*, pada lidah berkembang lapisan berwarna putih yang tampak seperti endapan keju, menutupi bercak

kemerahan yang dapat menyebabkan sakit tenggorokan, nyeri saat menelan, mual, dan kehilangan nafsu makan. Infeksi ini bisa menyebar hingga kerongkongan dan disebut sebagai esophagitis (Gumru 2006, p 221).

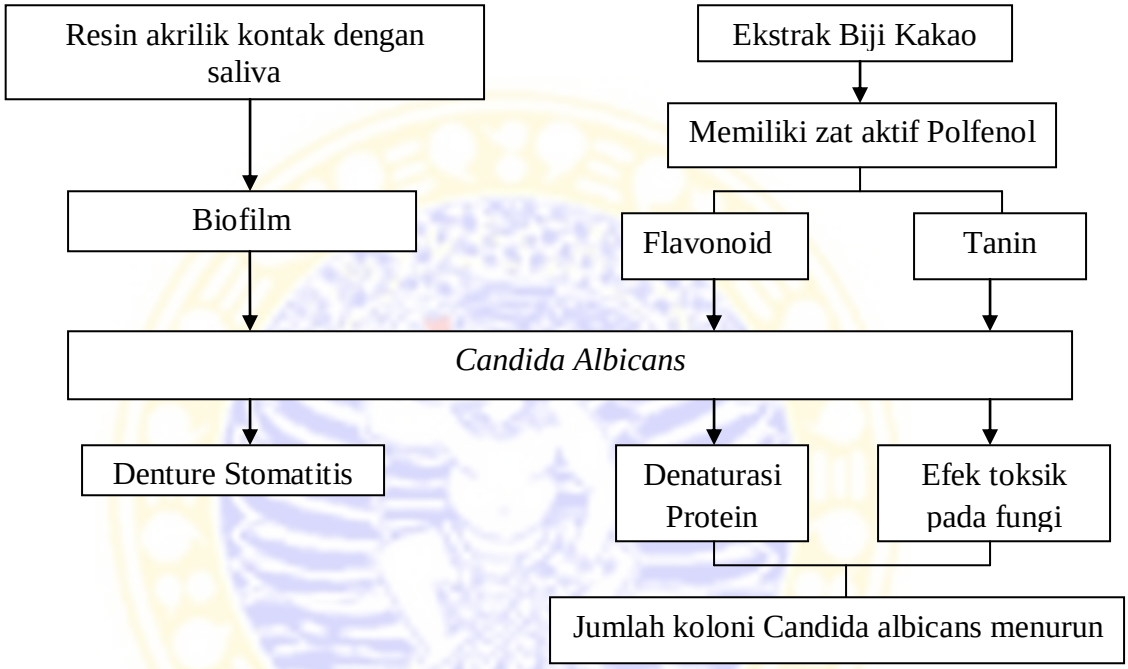
2.5 Penghitungan Jumlah Koloni *Candida albicans*

Penghitungan jumlah koloni *Candida albicans* dilakukan dengan cara menghitung koloni *Candida albicans* yang tumbuh pada media *Sauboraud's Dextrose Agar*. Penghitungan ini dilakukan oleh 3 orang pada tiap media *Sauboraud's Dextrose Agar* untuk mendapatkan keakuratan hasil jumlah pertumbuhan koloni *Candida albicans* .

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS

3.1 Skema kerangka konseptual



Resin akrilik yang berkontak dengan saliva menyebabkan terbentuknya biofilm dan dapat menurunkan kekerasan dan tegangan permukaan resin akrilik sehingga resin akrilik rentan terhadap pertumbuhan *Candida albicans* (Cenci 2008, p 92). Meningkatnya jumlah *Candida albicans* merupakan penyebab terjadinya *denture stomatitis* (Darko et al, 2001).

Biji kakao mempunyai beberapa komponen aktif, salah satunya adalah polifenol. Terdapat sekitar 8000 senyawa polifenol yang ada di alam dan setengahnya

adalah flavonoid. Flavonoid pada ekstrak biji kakao sebesar 4,08% mempunyai banyak fungsi seperti: antioksidan, anti-radang, dapat menyebabkan denaturasi protein dan berfungsi sebagai antivirus atau anti bakteri dan antifungi (Jawetz 2007, p 673). Selain itu kandungan tannin pada polifenol diketahui juga dapat bersifat sebagai antifungi dengan cara memeberi efek toksik pada fungi (Harborne, 2006). Sehingga hal ini dapat menyebabkan menurunnya jumlah koloni *Candida albicans* dan mencegah terjadinya *denture stomatitis*.

3.2 Hipotesis

Peningkatan konsentrasi ekstrak biji kakao dapat menurunkan jumlah koloni *Candida albicans* pada gigi tiruan akrilik.

BAB 4

METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris.

4.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian adalah *post test only control group design.*

4.3 Subjek Penelitian

Subjek penelitian adalah ekstrak biji kakao (*Theobroma Cacao*)

4.4 Sampel Penelitian

4.4.1 Kriteria Sampel

Bentuk dan ukuran:

1. Bentuk lempeng dengan ukuran (10x10x1) mm^3 (ADA, 1974).
2. Tidak porus, tidak ada perubahan bentuk
3. Permukaan sampel tidak dipulas, datar dan rata

4.4.2 Jumlah Sampel

Besar sampel (n) minimal dihitung dengan rumus (Daniel, 1999) :

$$n = \frac{(Z_{1/2}\alpha)^2\ \delta^2}{d^2}$$

Keterangan :
$Z_{1/2}\,\alpha$ = 1,96 (untuk $\alpha = 0.05$)
δ = simpang baku (SD) terbesar dari hasil peneliti sebelumnya
d1 = ½ atau ¼ SD

Dalam penelitian ini, digunakan 7 sampel pada masing-masing kelompok untuk menambah tingkat keakuratan (Marchello 2011, p 19).

- Kelompok I terdiri dari 7 sampel yang akan diberikan perlakuan perendaman dengan menggunakan ekstrak biji kakao konsentrasi 50% selama 8 jam.
- Kelompok II terdiri dari 7 sampel yang akan diberikan perlakuan perendaman dengan menggunakan ekstrak biji kakao konsentrasi 25 % selama 8 jam.
- Kelompok III terdiri dari 7 sampel yang akan diberikan perlakuan perendaman dengan menggunakan ekstrak biji kakao konsentrasi 12,5% selama 8 jam.
- Kelompok IV terdiri dari 7 sampel yang direndam dalam air aquadest steril selama 8 jam.

4.5 Variabel Penelitian

4.5.1 Variabel bebas

Konsentrasi ekstrak biji kakao

4.5.2 Variabel tergantung

Jumlah koloni *Candida albicans* pada lempeng akrilik *heat cured*

4.5.3 Variabel terkendali

Bentuk dan Ukuran sampel

Cara kerja pembuatan lempeng akrilik *heat cured* dan ekstrak biji kakao sediaan pekat

Lama perendaman lempeng akrilik *heat cured*

Cara kerja selama penelitian

4.6 Definisi Operasional Variabel

1. Ekstrak biji kakao adalah bahan sediaan yang diperoleh dari buah kakao usia 5,5 bulan hasil perkebunan kakao di Banjarmasin, Kalimantan Selatan sejumlah 200 gram dengan cara mengekstraksi zat aktif dari biji kakao dengan menggunakan pelarut etanol.
2. Jumlah koloni *Candida albicans* adalah koloni *Candida albicans* yang tumbuh pada media padat *Sabouraud's dextrose agar*, hasil dari perontokkan *Candida albicans* yang melekat pada lempeng resin akrilik setelah direndam dalam ekstrak biji kakao. Jumlah koloni *Candida albicans* dihitung dengan satuan *colony forming unit* (CFU) (Putman 2006, p 99)
3. Resin akrilik adalah lempeng resin akrilik jenis *heat cured* ukuran (10x10x1) mm^3yang tidak dipulas (ADA, 1974).

4.7 Lokasi dan Waktu Penelitian

a. Laboratorium Bahan Alam Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya untuk pembuatan ekstrak biji kakao.
b. Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga untuk melakukan penelitian dan penyediaan *Candida albicans* serta menghitung jumlah koloni *Candida albicans*.
c. Departemen Material Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga untuk pembuatan lempeng resin akrilik jenis *heat cured*

4.8 Alat dan Bahan Penelitian

4.8.1 Bahan Penelitian

1. Resin akrilik *heat cured* (Dentsply QC-20)
2. Gips keras
3. Gips Lunak
4. Vaselin
5. Biji kakao
6. Etanol
7. Alkohol 70%

4.8.2 Alat Penelitian

1. Pot porselen
2. Master model (10x10x1) mm^3
3. Mangkuk karet
4. Spatula gips
5. Kuvet besar
6. Kertas selofan
7. Pisau malam dan pisau model
8. Press hidrolik
9. Cutter

10. Saliva
11. Suspensi *Candida albicans*
12. *Sabouraud's broth*.
13. *Sabouraud's dextrose* agar
14. Larutan *Phosphat Buffer Saline* (PBS)
15. Air
16. Inkubator
17. Tabung reaksi
18. Gelas ukur
19. Petri dish
20. Centrifuge
21. Spreader
22. Spiritus brander
23. Syringe
24. Autoclave
25. Vibrator

4.9 Cara Kerja

4.9.1 Pembuatan Ekstrak Biji Kakao

1. Biji kakao dikeringkan dengan cara ditata sejajar di atas loyang kemudian diangin-anginkan di dalam ruangan (tidak dipanaskan dengan sinar matahari langsung, hal ini bertujuan agar zat-zat kimia biji kakao tidak rusak oleh karena terpapar sinar matahari) selama ± 24 jam. Setelah kering biji kakao ditumbuk

kasar, diangin-anginkan lagi sampai kering selama ± 48 jam, kemudian dihaluskan dengan *blender* hingga menjadi serbuk (*mesh* 30), tidak menggumpal dan kadar kelembaban atau *moisture content* kurang dari 10%.

2. Serbuk biji kakao ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik sebanyak 200 gram.
3. Dilakukan maserasi dengan pelarut etanol 80% sebanyak 300 ml selama 24 jam (terlindung dari cahaya) kemudian disaring menggunakan kertas saring. Hal ini dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan sehingga diperoleh filtrat sejumlah 850 ml.
4. Filtrat dipekatkan dengan mesin *rotary evapouration* selama 2 jam untuk memisahkan solven dengan ekstrak biji kakao, kemudian dipindahkan ke *waterbath* selama 4x24 jam untuk menguapkan sisa solven (etanol 80%) yang masih tertinggal dalam ekstrak hingga diperoleh ekstrak yang pekat (Departemen Kesehatan RI 1995, p 7).

Gambar 4.1 Bubuk Biji Kakao

Gambar 4.2 Kertas Saring, corong gelas dan ekstrak biji kakao

Gambar 4.3 Maserasi Kinetik

Gambar 4.4 *Rotary Evapouration*

4.9.2 Persiapan suspensi *Candida albicans*

4.9.2.1 Identifikasi *Candida albicans*

a. *Candida albicans* yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari sediaan yang ada di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.

b. Sediaan serum darah disiapkan sebanyak 0,5 ml dimasukkan ke tabung reaksi.

c. Mengambil 1 koloni *Candida albicans* dari *petridish* ditanam pada serum darah selama 2 jam pada suhu 37°, kemudian dilihat dengan mikroskop ada tidaknya

*germ tub*es. Pada subkultur dalam serum manusia, *Candida albicans* membentuk filamen kecil yang disebut *germ tubes*.

4.9.2.2 Pembuatan Suspensi *Candida albicans*

a. *Candida albicans* sebanyak 1 ose dimasukan ke dalam media *Sabouroud's broth* 5 ml diinkubasi selama 48 jam, pada suhu 37°C.
b. Mengambil 1 ose dari suspensi dimasukan ke dalam media *Saboroud's broth* 5 ml dinkubasi selama 48 jam, pada suhu 37°C.
c. Setelah diinkubasi, disesuaikan dengan standart Mc Farland 0,5 yang identik dengan 150.000.000 suspensi *Candida albicans* yang terdapat pada tabung reaksi. Suspensi ini yang dipakai untuk dikontakkan pada resin akrilik ukuran (10x10x1) mm.

4.9.3 Penentuan Konsentrasi Ekstrak Biji Kakao Dengan Cara Penipisan Seri

1. Siapkan 7 tabung reaksi steril, tandai dengan nomor. Isi tabung no1 hingga no7 dengan media Sabouroud's broth steril sebanyak 5 ml.
2. Beri bahan ekstrak sebanyak 10 ml pada tabung pertama sehingga didapatkan konsentrasi 100% (tabung 1)
3. Ambil 5 ml dari tabung reaksi pertama kemudian masukkan ke dalam tabung reaksi kedua yang sudah diisi dengan 5 ml media Sabouroud's broth sehingga didapatkan konsentrasi 50% (tabung 2)
4. Ambil 5 ml dari tabung reaksi kedua kemudian masukkan ke dalam tabung reaksi ketiga yang sudah diisi dengan 5 ml media Sabouroud's broth sehingga

didapatkan konsentrasi 25% (tabung 3)

5. Ambil 5 ml dari tabung reaksi ketiga kemudian masukkan ke dalam tabung reaksi keempat yang sudah diisi dengan 5 ml media Sabouroud's broth sehingga didapatkan konsentrasi 12.5% (tabung 4)
6. Ambil 5 ml dari tabung reaksi keempat kemudian masukkan ke dalam tabung reaksi kelima yang sudah diisi dengan 5 ml media Sabouroud's broth sehingga didapatkan konsentrasi 6.25% (tabung 5)
7. 5 ml dari tabung kelima dibuang
8. Tabung keenam dan ketujuh hanya berisi media
9. Setelah penipisan seri selesai, masukkan 0,1 inokulum *Candida albicans* standart (Mc Farlan 0,5) pada tabung pertama sampai dengan keenam. Tabung keenam merupakan kontrol positif, sedangkan tabung ketujuh merupakan control negatif.
10. Diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.
11. Setelah diinkubasi, dilihat tabung mana mulai ada pertumbuhan koloni *Candida albicans,* kemudian ditanam ulang pada media padat *Sabouraud's dextrose agar,* dilakukan *spreading,* diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C.

Hasil dari penelitian pendahuluan yang dilakukan ini, didapatkan hasil pada konsentrasi 25% tabung rekasi terlihat mulai jernih, sedangkan pada media Sabouroud's agar, ada sedikit pertumbuhan *Candida albicans*. Kemudian pada konsentrasi 50% tabung reaksi terlihat jernih, dan pada media Sabouroud's agar tidak

ada pertumbuhan *Candida albicans.* Maka konsentrasi ekstrak biji kakao yang dipakai dalam penelitian ini adalah 12,5%, 25%, 50%.

4.9.4 Pembuatan lempeng resin akrilik jenis *heat cured*:

1. Kuvet besar diulas vaselin. Adonan gipsum keras (rasio air : bubuk = 15ml : 50 gram) ditempatkan di dalam bowl, diaduk menggunakan spatula, letakan di atas vibrator sambil diaduk. Setelah selesai dimasukkan ke dalam kuvet (Anusavice 2003, 722).
2. Master model kuningan dengan ukuran (10x10x1) mm^3(Devi 2003, p 38)' ditanam di tengah kuvet secata horizontal hingga separuh bagian dan dibiarkan hingga mengeras (*setting*).
3. Setelah gips mengeras, permukaan gips diulas vaselin dan kuvet bagian atas dipasang, diisi dengan adonan gips keras di atas vibrator, tutup kuvet dipasang. Setelah *setting*, kuvet dibuka dan master model dapat dikeluarkan.
4. Resin akrilik disiapkan dengan rasio bubuk dan cairan 4.8 gram : 2 ml (sesuai petunjuk pabrik), diaduk dalam pot porselen pada suhu ruang.
5. Setelah mencapai *dough stage*, adonan resin akrilik dimasukkan ke dalam *mould* yang telah diulas dengan *cold mould seal* terlebih dahulu. Setelah itu kuvet ditutup dengan kertas selofan, kuvet atas ditutup. Kuvet ditekan dengan press hidrolik secara perlahan. Kuvet dibuka, kelebihan resin akrilik dipotong, ditutup kembali dan dipress dengan tekanan 22 kg/cm^2Hh (Anusavice 2003, p 722).

6. Kuvet direbus dengan air mendidih selama 30 menit, dibiarkan hingga air mencapai suhu kamar.
7. Sampel lempeng resin akrilik setelah mencapai suhu kamar, kuvet dibuka dan akrilik dikeluarkan.
8. Lempeng akrilik, dibersihkan tanpa dilakukan pemulasan.

Gambar 4.5 Sampel Lempeng Akrilik *Heat Cured*

4.9.5 Cara Pembuatan Saliva Steril

Saliva yang digunakan adalah *whole saliva* (saliva manusia). Uji kelayakan etik dilakukan sebelum penelitian. Sebelum pengambilan saliva, subjek diinstruksikan untuk makan pagi dan gosok gigi, kemudian tidak makan dan minum selama 2 jam (Devi 2003, p 44).

Pengambilan saliva dilakukan di laboratorium mikrobiologi FKG UNAIR dengan cara :

1. Pengumpulan saliva dari satu orang sebanyak 15 ml dengan cara mengunyah kapas untuk merangsang keluarnya saliva, kemudian saliva ditampung dalam tabung reaksi.

2. Saliva dipusingkan selama 15-20 menit pada *centrifuge* dengan kecepatan 1000 rpm pada suhu 4^{o}C untuk mendapatkan supernatan (cairan bening yang berada pada bagian atas permukaan saliva).
3. Setelah supernatan berada di lapisan atas, penyaringan dilakukan dengan menggunakan filter (Evans et al 1977 cit Marchello 2010, p 24)

4.9.6 Konsentrasi Ekstrak Biji Kakao Sebagai Bahan Perendam

Pembuatan konsentrasi ekstrak biji kakao dengan kosentrasi 50%, 25%, 12,5%.

a. Konsentrasi 50% : Ekstrak biji kakao dengan konsentrasi 100% sejumlah 10 ml ditambahkan 10 ml akuades steril kemudian dicampur sampai memperoleh konsentrasi ekstrak biji kakao 50%.
b. Konsentrasi 25% : Konsentrasi ekstrak biji kakao 50% diambil 10 ml ditambahkan 10 ml akuades steril kemudian dicampur sampai memperoleh konsentrasi ekstrak biji kakao 25%.
c. Konsentrasi 12,5% : Konsentrasi ekstrak biji kakao 25% diambil 10 ml ditambahkan 10 ml akuades steril kemudian dicampur sampai memperoleh konsentrasi ekstrak biji kakao 12,5%.

4.9.7 Penghitungan Jumlah Koloni *Candida albicans*

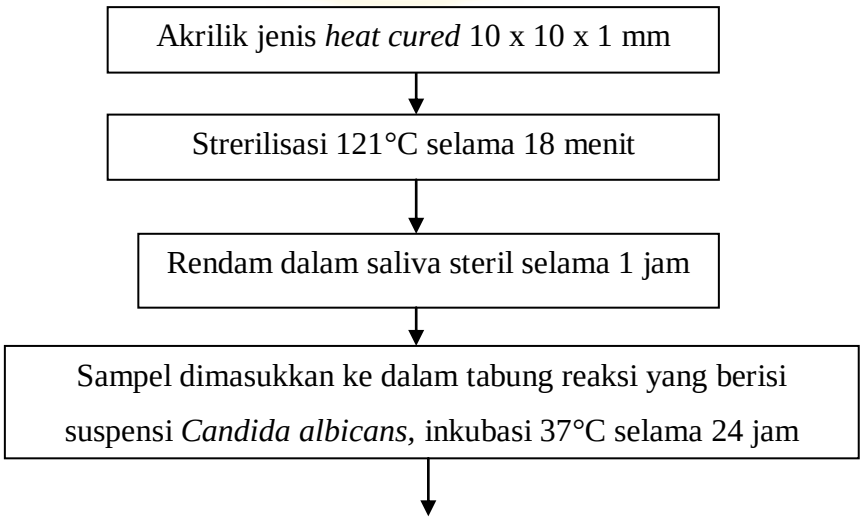
1. Supernatan saliva kemudian dimasukan ke dalam tabung reaksi steril untuk pembentukan pelikel pada resin akrilik *heat cured*.
2. Lempeng akrilik (sampel) disterilkan menggunakan autoclave 121^{o}C selama 18 menit.

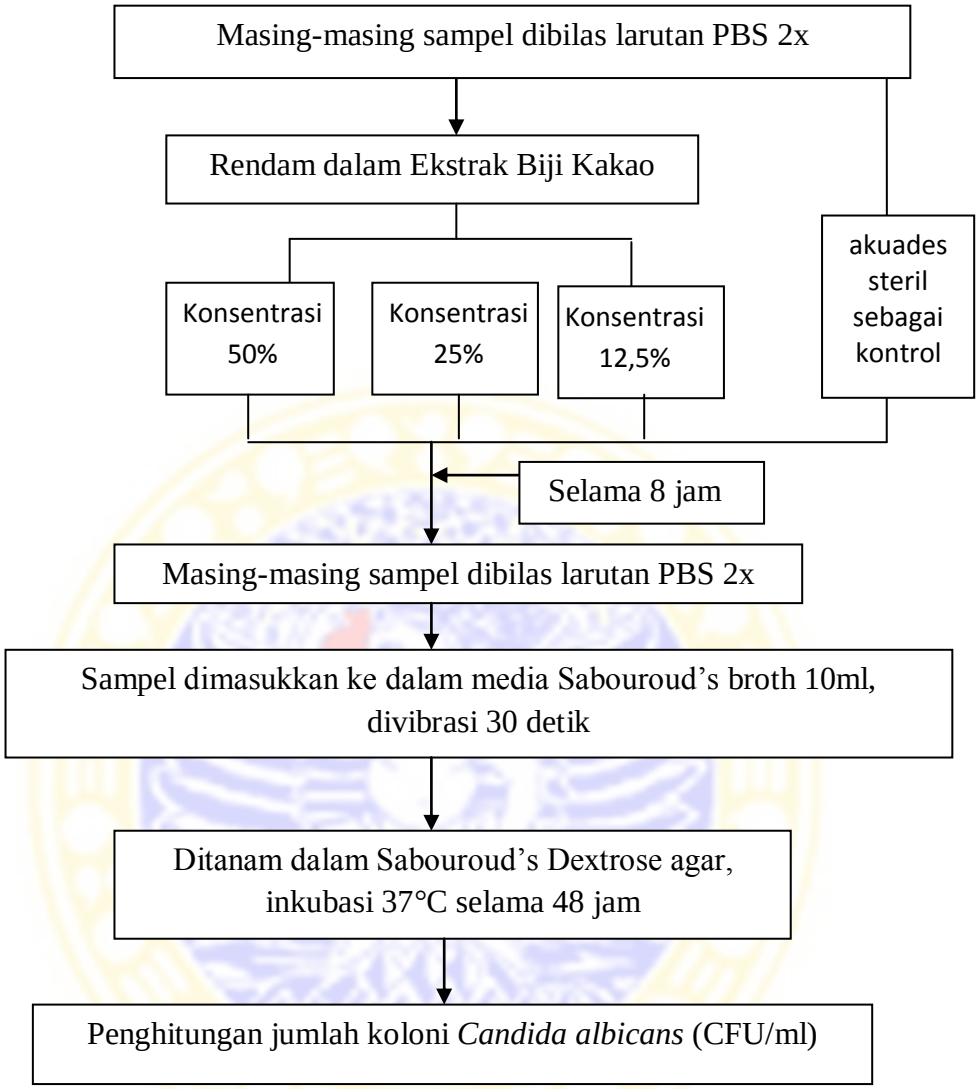
3. Sampel kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi saliva selama 1 jam untuk pembentukan pelikel. Sampel diambil dan dibilas menggunakan larutan PBS (Phosphat Buffer Saline) sebanyak 2 kali (Evans, 1977).
4. Setiap sampel kemudian dimasukan ke dalam tabung reaksi yang berisi suspense media *Candida albicans* selama 24 jam pada suhu ruangan 37^{o}C. Tiap sampel dimasukkan ke dalam satu tabung reaksi.
5. Kemudian dibilas dengan larutan PBS sebanyak 2 kali. Setiap sampel direndam ke dalam ekstrak biji kakao dengan masing-masing konsentrasi 50%, 25%, 12,5% selama 8 jam hingga seluruh bagian lempeng resin akrilik terendam.
6. 7 sampel terakhir dimasukan ke dalam akuadest steril selama 8 jam sebagai kelompok kontrol.
7. Sampel dibilas dengan PBS sebanyak 2 kali.
8. Dimasukan kedalam media Sobouroud's broth 10 ml, dan divibrasi selama 30 detik dengan vortex agar *Candida albicans* dapat lepas ke dalam media Sobouroud's broth.
9. Ambil 0,1 ml dengan menggunakan *syringe tuberculin* dan dipindahkan ke dalam Sobouroud's Dextrose agar. *Spreading* dilakukan dan diinkubasi selama 48 jam dengan suhu 37^{o}C.
10. Koloni *Candida albicans* dihitung dengan satuan *colony forming unit* (Burns, 1987, p. 271).

4.10 Pengolahan dan Analisis Data

Hasil pengukuran ditabulasi menurut kelompok masing – masing, kemudian dilakukan pengujian statistik dengan menggunakan *one-way Anova* untuk kelompok perlakuan dan kontrol. Bila ada perbedaan dilanjutkan dengan uji *LSD* (*Least Signicant Difference*).

4.11 Alur Penelitian



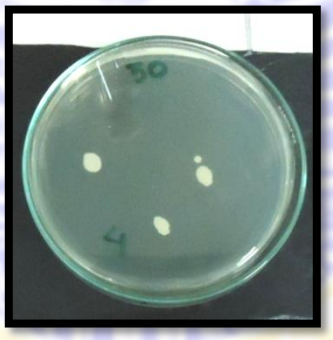

Masing-masing sampel dibilas larutan PBS 2x
Rendam dalam Ekstrak Biji Kakao
Konsentrasi 50%
Konsentrasi 25%
Konsentrasi 12,5%
akuades steril sebagai kontrol
Selama 8 jam
Masing-masing sampel dibilas larutan PBS 2x
Sampel dimasukkan ke dalam media Sabouroud's broth 10ml, divibrasi 30 detik
Ditanam dalam Sabouroud's Dextrose agar, inkubasi 37°C selama 48 jam
Penghitungan jumlah koloni *Candida albicans* (CFU/ml)

BAB 5

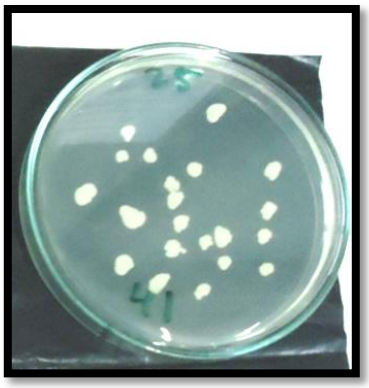
HASIL PENELITIAN

5.1 Hasil Penelitian

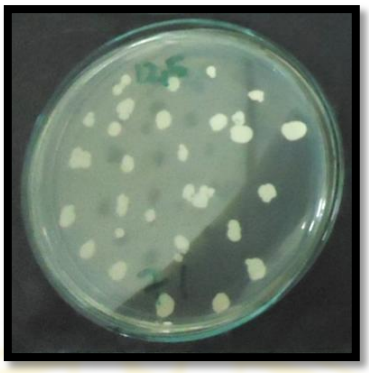
Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, jumlah koloni *Candida albicans* dihitung dari hasil perontokan *Candida albicans* yang menempel pada lempeng resin akrilik setelah direndam dalam ekstrak biji kakao konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, dan sebagai kontrol digunakan aquades steril, kemudian ditanam pada media *Saboroud's Dextrose Agar*. Jumlah koloni *Candida albicans* yang tumbuh pada media *Saboroud's Dextrose Agar* dihitung dengan satuan CFU/ml, dapat dilihat pada lampiran1.



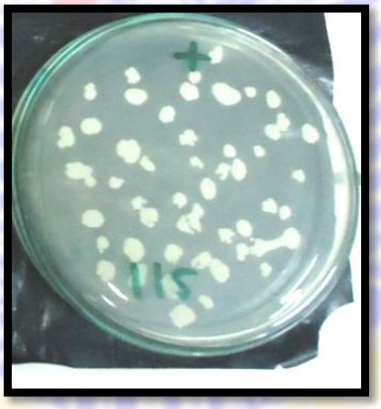
Gambar 5.1. Koloni *Candida albicans* yang tumbuh pada media *Sabouraud's dextrose agar,* hasil perendaman lempeng akrilik dalam ekstrak biji kakao 50%



Gambar 5.2. Koloni *Candida albicans* yang tumbuh pada media *Sabouraud's dextrose agar,* hasil perendaman lempeng akrilik dalam ekstrak biji kakao 25%



Gambar 5.3. Koloni *Candida albicans* yang tumbuh pada media *Sabouraud's dextrose agar,* hasil perendaman lempeng akrilik dalam ekstrak biji kakao 12,5%



Gambar 5.4. Koloni *Candida albicans* yang tumbuh pada media *Sabouraud's dextrose agar,* hasil perendaman lempeng akrilik dalam akuades steril (kontrol)

Tabel 5.1 Rerata, dan Standart Deviasi jumlah koloni *Candida albicans*

Konsentrasi Ekstrak Biji Kakao	Koloni dalam media *Saboroud's Dextrose Agar*			
	N	Rerata (CFU/ml)	SD	PN
Kontrol positif	7	111,5714	8,5996	0,837
Konsentrasi 50%	7	4,8571	2,1157	0,967
Konsentrasi 25%	7	30,4286	7,4801	0,928

Konsentrasi 12.5%	7	61,7143	9,5867	0,792

Keterangan
N : Jumlah Sampel
SD : Standart Deviasi (Simpang Baku)
PN : Probilitas normalitas menggunakan *Kolomogrov-Smirnov Test*

Tabel 5.2 memperlihatkan penurunan jumlah koloni *Candida albicans* ketika konsentrasi ekstrak biji kakao ditingkatkan. Syarat uji *one-way Anova* adalah data berdistribusi normal dan homogen. Dilakukan uji normalitas menggunakan *Kolomogrov-Smirnov Test* dan hasilnya nilai semua kelompok di atas 0,05 (p>0,05) yang berartti seluruh data berdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas menggunakan uji Levene dan diperoleh nilai signifikasi 0,145 (p>0,05) yang berarti data homogen. Setelah diketahui seluruh data berdistribusi normal dan homogen, dilanjutkan dengan uji *one-way Anova* yang dapat dilihat pada tabel 5.3.

Tabel 5.2 Hasil Uji o*ne way Anova*

Sumber Variasi	Jumlah Kuadrat	Derajat Bebas	Nilai rerata kuadrat	F Hitung	Probabilitas
Antar Kelompok	68284,405	5	13656,881	280,073	0,000
Dalam Kelompok	1755,429	36	48,762		
Total	70039,833	41			

Hasil dari uji *one-way Anova* diperoleh tingkat signifiksasi 0,000 (p < 0,05) yang berarti ada perbedaan bermakna jumlah koloni *Candida albicans* antar kelompok konsentrasi ekstrak biji kakao 12,5%, 25%, 50% dan kontrol. Untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda bermakna dilanjutkan denganl uji *Least Significant Difference* (LSD) yang dapat dilihat pada tabel 5.4.

Tabel 5.3 Hasil uji LSD

Ekstrak Biji Kakao	Konsentrasi 50%	Konsentrasi 25%	Konsentrasi 12,5%	Kontrol
Konsentrasi 50%	-	0,000*	0,000*	0,000*
Konsentrasi 25%		-	0.000*	0,000*
Konsentrasi 12,5%			-	0,000*
Kontrol				-

Keterangan :

* = ada perbedaan bermakna

Hasil *LSD* memperlihatkan adanya perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) pada semua kelompok konsentrasi, yang berarti semakin tinggi konsentrasi ekstrak biji kakao akan menurunkan jumlah koloni *Candida albicans.*

BAB 6

PEMBAHASAN

Candida albicans merupakan salah satu penyebab *denture stomatitis* pada pengguna gigi tiruan, sehingga perlu dilakukan pembersihan gigi tiruan. Pembersihan gigi tiruan dapat dilakukan dengan cara mekanik atau kimia. Pembersihan dengan cara kimiawi lebih mudah dilakukan, yaitu merendam gigi tiruan ke dalam larutan pembersih. Pada penelitian ini bahan kimiawi yang digunakan sebagai larutan pembersih diganti dengan bahan alami, yaitu ekstrak biji kakao. Pengolahan biji kakao menjadi ekstrak ditujukan agar kandungannya lebih murni, tidak mudah ditumbuhi organisme dan tidak mudah rusak (Richard 1998, p 346).

Penelitian pendahuluan dilakukan dengan cara penipisan seri sehingga mendapatkan ekstrak biji kakao konsentrasi 100% hingga 6,25%, kemudian ditambahkan suspensi *Candida albicans* pada setiap tabung reaksi dan dilihat kekeruhannya. Hasilnya pada tabung konsentrasi ekstrak biji kakao 25% terlihat agak jernih, konsentrasi 50% jernih, sedangkan konsentrasi 12,5% masih keruh. Untuk memastikan pertumbuhan *Candida albicans*, cairan dari tabung reaksi ditanam (*streaking*) pada media padat *Sabouroud's dextrose agar*. Hasil pada media padat, tidak tampak pertumbuhan *Candida albicans* pada konsentrasi 50%, tampak sedikit pertumbuhan pada konsentrasi 25% dan tampak banyak pertumbuhan *Candida albicans* pada konsentrasi 12,5%. Untuk mengetahui efek ekstrak biji kakao sebagai bahan pembersih gigi tiruan, maka ekstrak biji kakao konsentrasi 50%, 25%, 12,5%

dikontakkan pada lempeng resin akrilik *heat cured* yang ditumbuhi *Candida albicans*.

Perendaman lempeng resin akrilik *heat cured* ke dalam ekstrak biji kakao dilakukan selama 8 jam, karena pemakai gigi tiruan pada umumnya melepas gigi tiruannya pada malam hari saat beristirahat atau tidur yaitu selama 6-8 jam. Saat tidur malam inilah merupakan waktu yang paling efektif untuk merendam gigi tiruan dalam larutan disinfektan (Jorgensen, 1979, p 619-22 cit Devi 2003, p 129). Hasil penelitian efektivitas ekstrak biji kakao terhadap jumlah koloni *Candida albicans* pada lempeng resin akrilik menunjukkan perendaman lempeng akrilik *heat cured* dalam ekstrak biji kakao konsentrasi yang semakin tinggi 12,5%, 25%, 50%, menyebabkan semakin menurunnya jumlah koloni *Candida albicans.* Penurunan jumlah koloni *Candida albicans* ini akibat semakin tinggi konsentrasi ekstrak biji kakao, semakin banyak kandungan polifenol didalam larutan. Okoro (2010, p 2990) menyebutkan bahwa polifenol mempunyai aktivitas mikrobisida (senyawa dengan kegunaan mengurangi infeksi mikroba, seperti virus, bakteri, atau fungi) terhadap sejumlah besar bakteri patogenik dan spesies fungi.

Mekanisme toksisitas polifenol terhadap fungi berkaitan dengan penghambatan enzim hidrolitik antara lain protease dan karbonhidrolase. Enzim tersebut disekresi oleh fungi yang dapat merusak dan penetrasi jaringan mukosa (Lamont 2006, p 337). Selain itu polifenol turut melakukan interaksi lain dengan cara menurunkan aktivitas perlekatan mikroba yang diperlukan untuk kolonisasi *host* dan mengganggu fungsi transportasi protein pada membran sel.

Hasil uji laboratoris di Balai Penelitian dan Konsultasi Industri Surabaya menyatakan bahwa ekstrak biji kakao mengandung polifenol 11,58%, flavonoid 4,08%, dan tanin 10,92%. Kandungan flavonoid merupakan senyawa fenol yang berfungsi sebagai antioksidan, anti bakteri dan antifungi dengan cara denaturasi protein (Jawetz, 2007, p.627). Denaturasi protein adalah proses penghambatan dan pembunuhan dengan cara mengadakan koagulasi dan presipitasi protein sel mikroba sehingga akan menganggu metabolisme pada mikroba. Gangguan metabolisme tersebut kemudian akan menyebabkan kematian sel fungi. Selain dengan cara denaturasi protein, flavonoid juga dapat membunuh fungi dengan cara menurunkan tegangan permukaan sel fungi. Penurunan tegangan sel fungi ini akan mengakibatkan meningkatnya permeabilitas sel membran sehingga dapat mengakibatkan kerusakan sel fungi. Ekstrak biji kakao juga mengandung tanin yang diketahui dapat digunakan sebagai suatu bahan antifungi untuk menghambat pertumbuhan *Candia albicans* (Harborne *et al* 1999, p 572).

Peningkatan kadar polifenol, flavonoid dan tanin akan mengakibatkan daya antimikroba ekstrak tersebut terhadap *Candida albicans* juga meningkat. Lempeng resin akrilik *heat cured* memiliki sifat menyerap air (Annusavice 2003, p 742), sehingga pada saat dilakukan perendaman ekstrak biji kakao akan diserap begitu pula dengan flavonoid, dan tanin yang kemudian akan menetap dalam akrilik. Senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak biji kakao ini memiliki sifat antifungi sehingga dapat menyebabkan penurunan jumlah koloni *Candida albicans* pada lempeng akrilik *heat cured* (Shella 2010, p 44).

BAB 7

SIMPULAN DAN SARAN

7.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian eksperimental laboratoris dapat disimpulkan bahwa ekstrak biji kakao mampu menurunkan jumlah koloni *Candida albicans* pada gigi tiruan akrilik.

7.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melihat efektifitas daya hambat ekstrak biji kakao sebagai bahan larutan pembersih gigi tiruan. Bahan larutan pembersih gigi tiruan ini diharapkan tidak toksik, mudah dibersihkan tanpa meninggalakan bahan iritan, dan tidak merusak atau menimbulkan noda (plak) pada resik akrilik *heat cured*, logam, anasir gigi.

DAFTAR PUSTAKA

American Dental Assosiation (ADA). 1974. *Guide to Dental Material and device.* 7th ed. p 217-18

Annisa R 2002. *Pengaruh Penumpukan Plak Pada Pemakaian Gigi Tiruan Lepasan Akrilik Serta Usaha Pencegahan dan Penanggulangannya*. Skripsi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Sumatera. p 12

Anusavice, KJ 2003. *Philip's Science of Dental Maerials.* 11ed . Missouri. Saunders . p 722-36

Balai Penelitian dan Konsultasi Industri Laboratorium Penelitian dan Konsultasi Industri Surabaya

Burns, DR, Burns DA, Dipietro GJ & Gregory RL 1987. *Response of Processed Resilient Denture Liners to Candida Albicans.* J. F.Prost Dent 57 (4) : 507-511

Calderone, RA 2002.*Candida and Candidiasis.* ASM Press:Wahington DC. p 3-6

Cenci, TP & Crielaard, W 2008. *Development of Candida Associated Denture Stomatitis.* New Insight. Journal Applied Oral Science 16 (2) : p 86-94

Craig, RG, Powers, JM & Wataha, JC 2004. *Dental Materials Properties and Manipulation,* 8th ed, Mosby Company, p. 270-284

Combe, E.C 2002. *Notes on Dental Materials.* 4thed. Endinburgh : Churchill Livingstone. p 191-9

Darco E, Jenca A, Svicky E, Pilipcine E, Tkacikova L. 2001. *Candida Associated denture stomatitis.* Folia Microbiol 46(5).443-446

Departemen Kesehatan Republik Indonesia 1995, *Farmakope Indonesia Edisi IV*, Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta, pp. 7, 126-127

Devi AP 2010. *Konsentrasi Ekstrak Biji Kakao sebagai Material Alam dalam Menghambat Pertumbuhan Streptoccocus Mutans.* Skripsi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya. p 1-15

Devi R. 2003. *Efektivitas lama perendaman resin akrilik dalam ekstrak daun Coleus Amboinicus, Lour terhadap keberadaan Candida Albicans*. Majalah Kedokteran Gigi . Dent J. Vol 36.p 129-133

Evans, RT, Baker PJ, Coburn RA & Gemco RJ 1977. *Comparisson of Antiplaque Agents Using an In Vitro Assay Reflecting Oral Conditions.* J. Dent Rest 56: 559

Ghozali, I 2006, *Aplikasi Analisis Multivariate dengan Program SPSS Cetakan IV*, Badan Penerbit Universitas Diponegoro, Semarang

Gumru B, Kadir T, Can BU.2006. *Distribution and Phospolipase Activity of Candida Albicans species in different denture stomatitis types.* Mycopathologia. p 221

Harborne JB. 2006. *Metode Fitokimia*. Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Ed 2. ITB Bandung. p 47-102

Jardin, NJ 1999, *Phytochemical and phenolics. In: Knight L, editor. Chocolate and cocoa: health and nutrition*, Blackwell Science, Oxfors, p 119

Jorgensen, BE. 1979. *Materials and Methods of Clening Denture*, J. Prosthet. Dent 42: 619-22

Jawetz E, Melnick JL & Adellberg EA.2007. *Medical Microbiology*.23th ed.MC Graw Hill : NewYork, p 627-43

Lamont RJ, Burne RA, Lantz MS, Leblanc DJ. 2006. Oral *Microcyology and Immunology*. ASM Press : Washington DC, p 333-348

Marchello M. 2011. Pertumbuhan Candida Albicans Pada Resin Akrilik *Heat Cured* Setelah Perendaman Dalam Infusa Bawang Putih. Skripsi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya, p 24

McCabe JF, Walls AW. 2008. *Applied Dental Materials.* 9th ed. Blackwell Publishing LTD. p 110-23

MCNEIL.2006. *Chocolate in Mesoamerica: A Cultural History of Cacao*. Gainesville: University of Florida Press, p 218

Naoumi E, Snoussi M, Hentati H, Castillo L, Valentin E, Bakhrouf A, Sentradeu R, 2009. *Adhessive Properties and Hydropolic Enzyms of Oral Candida Albicans Strains*. Mycopathologia 169 : 269-278

Neelson, LD & Cox, MM 2009 . *Lehninger Principles of Biochemistry*.4th ed. New York : WH Freeman and Company, Inc . p 397

Nevzatoglu, EU, Ozcan M, Ozkan YK & Kadir T. 2007.*Adherence of Candida Albicans to Denture Base Acrilycs and Silicone- based resilent liner Materials with different Surface Finished.* Clinical Oral Investigation.11: 231-236

Nikawa, HT 1998. Efficacy of commercial denture cleansers.Dent J. p. 77-82

Okoro IO, Ossagie A, Asibor EO. 2010. *Antioxidant and Antimicrobial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Nigeria*, African Journal of Biotechnology. Vol 9, p 2899-2993

Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia

Puspita BA. 2004. Validasi Metode Analisis Senyawa Polifenol Dalam Buah Jambu Delima, Jambu Manis dan Jambu Bangkok dengan metode Folin Ciocalteau Secara Spektofotometiri UV-VIS. Skripsi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya, p 6

Richard, JP. 1998. *Methods in Biotechnology.* Natural Products Isolation. Totowa: New Jersey. p. 343-57

Romani L . 2000. *Innate and adaptive immunity in Candida albicans infections and saprophytism.* Journal of Leukocyte Biology 68 : 175-179

Smart, J & Simmon, NW (ed.) 1995, *Cacao, Theobroma Cacao (Sterculiaceae), Evolution of crop plant*, Longman: London, p 472

Shella M. 2010. Efektifitas Infusa Jeruk Nipis Dalam Menghambat Pertumbuhan *Candida Albicans* pada Resin Akrilik, Skripsi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya, p 44

West, JA 1992. *A brief history and botany of cacao*, University of Arizona, Tucson, pp. 105-121