

KK
KKA
KG.163/11
Pri
d

**DAYA HAMBAT *LIQUID CHLOROPHYLL* DAUN ALFALFA
(*Medicago sativa*) TERHADAP PERTUMBUHAN
*Streptococcus sanguinis***

SKRIPSI



MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

Oleh:

LISA PRIHASTARI
NIM: 020610010

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA BHMN
SURABAYA
2011**

**DAYA HAMBAT *LIQUID CHLOROPHYLL* DAUN ALFALFA
(*Medicago sativa*) TERHADAP PERTUMBUHAN
*Streptococcus sanguinis***

SKRIPSI

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


Oleh:

LISA PRIHASTARI
NIM: 020610010

Menyetujui

Pembimbing Utama

Pembimbing Serta



(Hj. Diana Nurwati, drg., MS)
NIP : 19480805 197603 2 002



(Sidarningsih, drg., M.Kes)
NIP : 19600409 198601 2 001

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA BHMN
SURABAYA
2011**

PENETAPAN PANITIA PENGUJI SKRIPSI

SKRIPSI ini telah diuji pada tanggal 3 Januari 2011

PANITIA PENGUJI SKRIPSI

- 1. Dr. Retno Indrawati, drg., M.Si (Ketua penguji)**
- 2. Diana Nurwati, drg., MS (Pembimbing utama)**
- 3. Sidarningsih, drg., M.Kes (Pembimbing serta)**
- 4. Dr. Ira Arundina, drg., M.Si**
- 5. Dr. Agung Sosiawan, drg., M.Kes**

UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji hanya bagi Allah SWT, Tuhan semesta alam, yang dengan kehendak-Nya penulis mampu menyelesaikan karya ini yang berjudul “*Daya Hambat Liquid Chlorophyll Daun Alfalfa (Medicago Sativa) terhadap Pertumbuhan Streptococcus Sanguinis*”. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada yang terhormat :

1. Prof. R.M. Coen Pramono D., SU., drg., Sp.BM.(K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan untuk menyusun serta menyelesaikan skripsi ini.
2. Diana Nurwati, drg., MS selaku dosen pembimbing yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan petunjuk, koreksi, saran, semangat, teladan serta selalu mengingatkan saya untuk segera menyelesaikan skripsi ini.
3. Sidarningsih, drg., M.Kes selaku dosen pembimbing kedua skripsi saya yang senantiasa memberikan dorongan dengan penuh kesabaran ditengah kesibukan beliau dan selalu bersedia meluangkan waktunya untuk berkonsultasi dengan saya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik dan lancar.
4. Teruntuk kedua orang tua yang saya cintai di rumah, ayahanda K. Sugiono dan ibunda Titik Darjati yang tak henti-hentinya mengingatkan saya untuk senantiasa berjuang dan bekerja keras menyelesaikan skripsi dan klinik untuk meraih impian wisuda dan gelar dokter gigi yang saya impikan. Serta adik-adik kandung saya yang tercinta, Nina, Tiwik dan Ajeng yang sekarang sedang merentas masa depannya demi kebanggaan kedua orang tua kami.

5. Teman-teman seperjuangan Niluh, Ami, Meli, Inas, Rina, Shintya, Elida, Prima dan Nindy yang selalu setia menemani saya di bangku panjang ruang kuliah, belajar bersama, bercanda dan saling memotivasi untuk terus maju menghadapi kerasnya dunia FKG. Juga untuk Leo, Icing, Adit dan Guntur yang banyak mewarnai kehidupan saya selama di FKG dan bersedia membantu, menerima dan memahami saya ditengah-tengah mereka. Maciko teman kos yang setia menjalani susah-senang bersama dengan saya. Teman-teman kelompok A1 yang heboh dan seluruh rekan mahasiswa angkatan 2006.
6. Adik-adik SKI, BEM dan SCC angkatan 2007, 2008, 2009 dan 2010 : Ria, Rirince, Ranco, Ufo, Azhar, Oki, Geng kaki panjang, Idince, Saiful, Riris-Ririn, Geng Mbok Ra, Saka, Firoh, Cindy, dan Febry yang selalu menyambut saya dengan tawa riang dan semangat sehingga membuat saya terlupa sejenak akan beban kuliah dan klinik. Kakak kelas yang telah membina saya dan menjadi bagian yang indah dalam hidup saya (Mbak Bertha, Mas Danny, Mbak Mutee, Mas Gani, Mbak Esti, Mbak El, dan Mas Agam W) terima kasih atas segala ilmu dan pengalaman yang telah diberikan kepada saya.
7. Pak Heri, ibu Wahyu ITD, Mas Eta dan Mbak Nur yang banyak berkontribusi dalam penelitian saya dan semua pihak yang telah banyak membantu yang saya tidak dapat sebutkan satu per satu. Terima kasih atas bantuan dan semangat yang telah diberikan kepada penulis.

Penulis menerima kritik dan saran yang membangun demi kesempurnaan dan perbaikan. Semoga karya ini memberikan kontribusi yang berarti bagi perkembangan ilmu pengetahuan, masyarakat, bangsa, dan negara.

Surabaya, 3 Januari 2011

Penulis

ABSTRACT

Background. *Recurrent aphthous stomatitis (RAS) is a disease which has not found the method of its prevention yet. One of its etiology is the role of bacteria Streptococcus sanguinis. Chlorophyll is a nature material which can possibly become alternative therapy for RAS patient because its ability to inhibit the growth of Streptococcus sanguinis.* **Purpose.** *to prove the antibacterial effect of liquid chlorophyll Alfalfa (Medicago sativa) to S. sanguinis in RAS patient.* **Methods.** *In this research the inhibition ability test of liquid chlorophyll Alfalfa from each brand product to Streptococcus sanguinis is using antibacterial test with agar difussion method in well. Then measuring the average diameter of inhibition zone in TYC plate agar. Streptococcus sanguinis is gathered by the researcher with swab method of RAS patient, which then being identified with biochemical test using arginine, esculin, lactose, and mannitol. The suited bacteria is cultured in TYC plate agar to do the zone of inhibition test.* **Result.** *All of the inhibition zone type is irradiation zone that in this zone the quantity of bacterial growth is limited than area without influence of liquid chlorophyll Alfalfa. Average diameter of inhibition zone from liquid chlorophyll Alfalfa for PT S is 10,67 mm; PT K is 10,53 mm and PT B is 7,96 mm.* **Conclusion.** *Liquid Chlorophyll Alfalfa has inhibition ability to Streptococcus sanguinis with zone of inhibition diameters vary from 5-10 mm and its bacteriostatic.*

Key words: Streptococcus sanguinis, liquid chlorophyll Alfalfa, zone of inhibition

DAFTAR ISI



Halaman judul.....	i
Halaman prasyarat gelar	ii
Halaman penetapan panitia penguji skripsi	iii
Ucapan terima kasih.....	iv
Abstract.....	vi
Daftar Isi	vii
Daftar Tabel	x
Daftar Gambar	xi
Daftar Lampiran.....	xii

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	5

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Klorofil.....	6
2.1.1 Definisi klorofil.....	6
2.1.2 Struktur klorofil	6
2.1.3 Klorofil dan fotosintesis.....	8
2.1.4 Manfaat klorofil dibidang kesehatan	10
2.2 Daun Alfalfa (<i>Medicago sativa</i>)	14
2.2.1 Klasifikasi dan morfologi	14
2.2.2 Kandungan dan manfaat daun alfalfa	17
2.3 <i>Streptococcus sanguinis</i>	19
2.3.1 Morfologi	19
2.3.2 Klasifikasi	22

2.3.3	<i>Recurrent aphthous stomatitis</i> (RAS) karena bakteri <i>Streptococcus sanguinis</i>	22
2.4	Uji sensitivitas antibakteri.....	24
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS		28
3.1	Kerangka Konseptual.....	28
3.2	Hipotesis penelitian.....	29
BAB 4 METODE PENELITIAN		30
4.1	Jenis Penelitian	30
4.2	Lokasi Penelitian.....	30
4.3	Sampel Penelitian.....	30
4.3.1	Kriteria penderita	31
4.3.2	Kriteria Ulser.....	31
4.3.3	Besar sampel	32
4.4	Variabel Penelitian.....	32
4.5	Definisi operasional	33
4.6	Alat dan bahan	33
4.7	Cara kerja.....	34
4.7.1	Sterilisasi alat dan bahan.....	34
4.7.2	Prosedur pengambilan sampel	35
4.7.3	Prosedur identifikasi bakteri <i>Streptococcus sanguinis</i>	35
4.7.4	Prosedur uji daya hambat klorofil daun alfalfa terhadap bakteri <i>Streptococcus sanguinis</i> dengan metode difusi.....	36
4.8	Alur penelitian	38
4.9	Analisis data.....	39
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA		40
5.1	Hasil penelitian	40
5.1.1	Hasil isolasi dan identifikasi <i>S. sanguinis</i>	40
5.1.2	Data penelitian zona hambat.....	41

5.2 Analisis hasil penelitian.....	42
BAB 6 PEMBAHASAN.....	46
BAB 7 SIMPULAN DAN SARAN.....	49
7.1 Simpulan.....	49
7.2 Saran.....	49
Daftar Pustaka.....	50

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Perbandingan kandungan klorofil pada chorella, spirulina dan daun alfalfa	14
Tabel 2.2 Kandungan gizi per 100 gram Alfalfa	18
Tabel 2.3 Dosis pemakaian suplemen alfalfa	19
Tabel 5.1 Hasil perhitungan zona hambat <i>liquid</i> klorofil daun Alfalfa masing-masing merk terhadap bakteri <i>S. sanguinis</i>	42
Tabel 5.2 Uji normalitas <i>Kolmogorov-Smirnov</i>	44

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur molekul klorofil a dan klorofil b.....	7
Gambar 2.2 Kesamaan struktur molekul klorofil dan haemoglobin.....	8
Gambar 2.3 Organisasi struktur fotosistem tumbuhan	9
Gambar 2.4 Tanaman Alfalfa.	16
Gambar 2.5 Pengecatan gram <i>Streptococcus sanguinis</i>	21
Gambar 2.6 Jenis-jenis ulser RAS	23
Gambar 4.1 Macam-macam produk <i>liquid</i> klorofil daun Alfalfa yang digunakan dalam penelitian.....	31
Gambar 4.2 TYC <i>agar plate</i> yang telah dibagi menjadi 3 kuadran dan diberi sumuran.....	37
Gambar 5.1 Koloni <i>S. sanguinis</i> pada media padat	40
Gambar 5.2 Uji identifikasi <i>S. sanguinis</i> dengan tes biokimia gula-gula.....	41
Gambar 5.3 Hasil uji antibakteri <i>liquid</i> klorofil daun Alfalfa	43

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Lembar Laik Etik.....	57
Lampiran 2. Hasil uji statistik.....	58
Lampiran 3. <i>Informed consent</i>	61
Lampiran 4. Label kemasan <i>liquid</i> klorofil masing-masing merk.....	64

BAB 1
PENDAHULUAN

BAB 1

PENDAHULUAN



1.1 Latar belakang

Mulut merupakan jalan masuk utama dan terpenting yang menghubungkan dunia luar dengan tubuh manusia yang juga menyediakan akses bagi berbagai bakteri aerob dan anerob untuk masuk ke dalamnya. Adapun jenis bakteri yang bisa ditemui di rongga mulut antara lain Streptococci, Staphylococci, Corynebacteria, Neisseria, dan Lactobacillus (Koneman, 2006). Famili Streptococcus merupakan jenis bakteri yang paling banyak ditemukan di rongga mulut manusia dibandingkan bakteri jenis lain (Rudney dan Larson, 1993). Banyaknya mikroorganisme yang hidup tersebut menyebabkan rongga mulut menjadi rentan terkena berbagai gangguan dan penyakit jika kondisi keseimbangannya terganggu. Berbagai masalah kesehatan di dalam rongga mulut adalah karies gigi, *stomatitis*, bau mulut, karang gigi, *gingivitis*, *periodontitis* dan lain-lain (Sbordone, 2003; Najjar, 2008).

Recurrent aphthous stomatitis (RAS) adalah salah satu penyakit di dalam rongga mulut yang sering muncul dan hingga kini belum ditemukan metode preventif dan terapi yang jelas (Crispian et al, 2003). RAS merupakan peradangan pada mukosa rongga mulut berupa ulser yang timbul rekuren secara periodik yang penyebabnya tidak diketahui namun tidak disertai dengan tanda-tanda penyakit lain. Berbagai penelitian telah menyebutkan bahwa salah satu etiologi adalah peran dari bakteri *Streptococcus sanguinis*. Hal ini ditandai dengan adanya antibodi yang spesifik terhadap *Streptococcus sanguinis* pada pemeriksaan

serologis pasien-pasien RAS tetapi tidak disertai dengan adanya antibodi khusus terhadap komponen flora normal rongga mulut lainnya (Jurge, 2006).

Streptococcus sanguinis adalah adalah jenis bakteri gram positif dari famili Streptococcus yang sering ditemukan pada plak gigi yang kemudian berkolonisasi dengan bakteri-bakteri lain termasuk *Streptococcus mutans* dalam karies gigi. Bakteri ini sering juga ditemukan di aliran darah akibat infeksi trauma yang telah menyebar melalui pembuluh darah yang kemudian ikut terbawa menuju jantung (Yamaguchi, 2006).

Sampai saat ini, di bidang kedokteran gigi penanganan kesehatan rongga mulut bagi penderita RAS lebih bersifat kuratif dibandingkan preventif. Pasien hanya diberikan terapi berupa obat-obatan yang disesuaikan dengan tingkat keparahannya seperti orabase, kortikosteroid topikal, tetrasiklin topikal, obat kumur *chlorhexidine*, kortikosteroid sistemik dan obat-obatan imunosupresan yang hanya mampu menghilangkan rasa sakit dan menyembuhkan ulser yang terbentuk namun tidak mampu mencegah timbulnya kembali atau memperpanjang frekuensi munculnya RAS tersebut (Crispian et al, 2003). Kekurangan dari pemberian obat-obatan tersebut adalah selain berasal dari bahan-bahan kimia yang tidak aman bagi tubuh manusia, memaksa kerja hepar, obat-obatan tersebut dapat juga menimbulkan efek samping dan toleransi bagi tubuh. Pasien mengalami ketergantungan pada obat-obatan tersebut dan dikemudian hari dapat menimbulkan efek samping (Greenberg dan Pinto, 2003; Crispian et al, 2003). Oleh sebab itu maka perlu diupayakan suatu obat alternatif baru untuk mengatasi permasalahan tersebut yaitu obat yang tidak saja mampu menyembuhkan namun juga mampu mencegah atau mengurangi frekuensi munculnya RAS dan aman

bagi tubuh manusia. Dengan begitu perawatan kesehatan gigi dan mulut bagi penderita RAS bisa dilakukan dengan lebih optimal.

Saat ini arah perkembangan teknologi farmasi-kesehatan diseluruh dunia memang telah kembali memusatkan perhatiannya pada bahan-bahan yang berasal dari alam. Salah satu bahan yang berasal dari alam yang telah lama diteliti dan terbukti mempunyai kemampuan untuk menyembuhkan luka atau ulser dan meningkatkan sistem kekebalan tubuh adalah klorofil (*chlorophyll*) atau zat hijau daun yang merupakan inti dari daun atau sayuran (Dashwood, 1997). Klorofil mempunyai kemampuan sebagai anti bakteri sehingga mampu menghilangkan bau mulut, mencegah dan menyembuhkan sariawan, dan mencegah karies. Pada penelitian *in vitro*, klorofil dalam bentuk tablet terbukti mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus sanguinis* dan *Actinomyces viscosus* (Gregory, 2007). Penelitian ini menggunakan *Streptococcus sanguinis* yang telah diisolasi dari plak gigi manusia sehat.

Sumber klorofil sangat melimpah di alam, mengingat klorofil terkandung dalam setiap tumbuhan berwarna hijau. Telah diketahui bahwa sumber terbaik klorofil berasal dari daun Alfalfa (*Medicago sativa*), spirulina atau alga biru bersel satu dan *chorella*. Daun Alfalfa diketahui memiliki kandungan klorofil yang paling tinggi dibandingkan tumbuhan hijau jenis lainnya dan kaya akan mineral dan zat-zat penting yang diperlukan oleh tubuh, selain itu pemakaian daun Alfalfa sebagai sumber klorofil lebih meluas di masyarakat dan memiliki banyak varian produk dagang seperti bentuk tablet, *liquid* (cairan), *cream*, kapsul dan lain-lain (Budiyanto dan Limantara, 2008).

Berdasar latar belakang diatas, peneliti mempunyai pemikiran bahwa klorofil mempunyai kemungkinan sebagai terapi alternatif bagi penderita RAS karena kemampuannya menghambat pertumbuhan *Streptococcus sanguinis*. Peneliti ingin melanjutkan penelitian yang telah ada sebelumnya, yaitu oleh Gregory (2007) yang telah menguji daya antibakteri klorofil tablet pada kultur *Streptococcus sanguinis* dari manusia sehat, sedangkan peneliti akan menguji sensitifitas *liquid* (cairan) klorofil dari merk dagang yang berbeda-beda pada kultur *Streptococcus sanguinis* yang diperoleh langsung dari hasil isolasi ulser penderita RAS. Hal ini disebabkan oleh adanya pemikiran bahwa bakteri *Streptococcus sanguinis* yang berasal dari manusia sehat berbeda *strain* dengan bakteri *Streptococcus sanguinis* pada penderita RAS. Diharapkan dengan adanya penelitian ini dapat berperan dan bermanfaat bagi perkembangan dunia kedokteran gigi dimasa yang akan datang.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian *liquid* klorofil daun Alfalfa (*Medicago sativa*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus sanguinis* penderita *recurrent aphthous stomatitis* (RAS)?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Membuktikan efek anti bakteri *liquid* klorofil yang bersumber dari daun Alfalfa (*Medicago sativa*) terhadap pertumbuhan bakteri *S. sanguinis* penderita RAS.

1.3.2 Tujuan Khusus

Mengetahui perbedaan daya hambat *liquid* klorofil daun Alfalfa (*Medicago sativa*) dari berbagai merk terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus sanguinis* penderita RAS.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Memberi informasi tentang klorofil daun Alfalfa sebagai tanaman yang bersifat antibakteri yang efektif, mudah digunakan, murah dan aman.
2. Mengetahui dosis *liquid* klorofil daun Alfalfa untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus sanguinis* penderita RAS
3. Menjadi dasar bagi penelitian selanjutnya untuk mengembangkan pemanfaatan klorofil dibidang kedokteran gigi.

BAB 2
TINJAUAN PUSTAKA

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Klorofil (Chlorophyll)

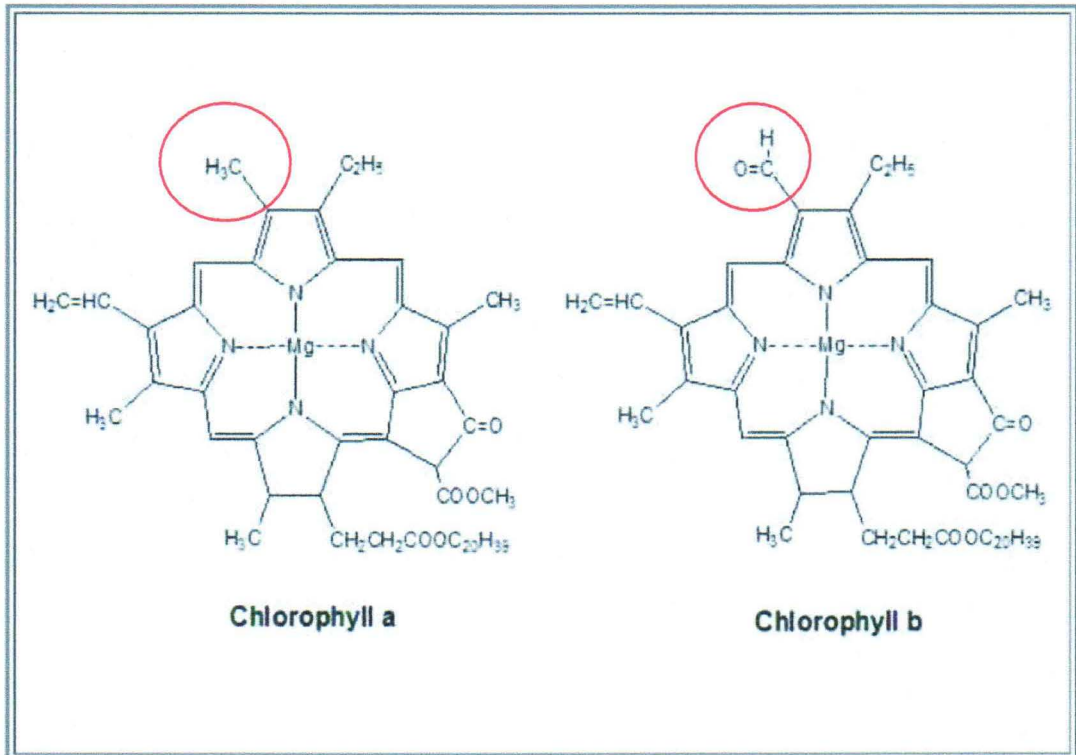
2.1.1 Definisi klorofil

Klorofil adalah pigmen pemberi warna hijau yang terdapat pada kloroplas sel tanaman, alga dan *cyanobacteria* atau bakteri berpigmen. Sebagian besar klorofil terdistribusi di dalam daun, sehingga sering disebut sebagai zat hijau daun. Tidak hanya pada daun, klorofil juga terdapat pada seluruh jaringan tanaman yang berwarna hijau, misalnya pada batang, akar, buah dan biji yang berwarna hijau dalam jumlah yang terbatas. Klorofil dapat menyerap cahaya terutama cahaya merah, biru dan violet yang kemudian dimanfaatkan dalam proses fotosintesis yang penting bagi metabolisme energi dan respirasi tumbuhan hijau. (Speer, 1997)

2.1.2 Struktur klorofil

Struktur dasar klorofil adalah sebuah cincin porfirin yang tersusun atas atom karbon, hidrogen dan nitrogen dengan sebuah logam magnesium pada pusat porfirinnya. Struktur klorofil terdiri dari 2 bagian, yaitu cincin kompleks porfirin dan fitol (rantai panjang hidrokarbon). Klorofil terdiri dari berbagai jenis yang dibedakan menurut rantai samping hidrokarbon yang menyusunnya (rantai panjang fitolnya) yaitu klorofil a, klorofil b, klorofil c dan klorofil d. Klorofil yang terdapat pada sebagian besar tanaman adalah klorofil a dan klorofil b, sedangkan klorofil c dan d ditemukan hanya pada jenis alga dan *cyanobacteria* (bakteri berpigmen). Struktur dari klorofil a telah ditemukan oleh Hans Fischer

pada tahun 1940 dan kemudian di sempurnakan oleh Woodward pada tahun 1990 (Woodward, 1990).

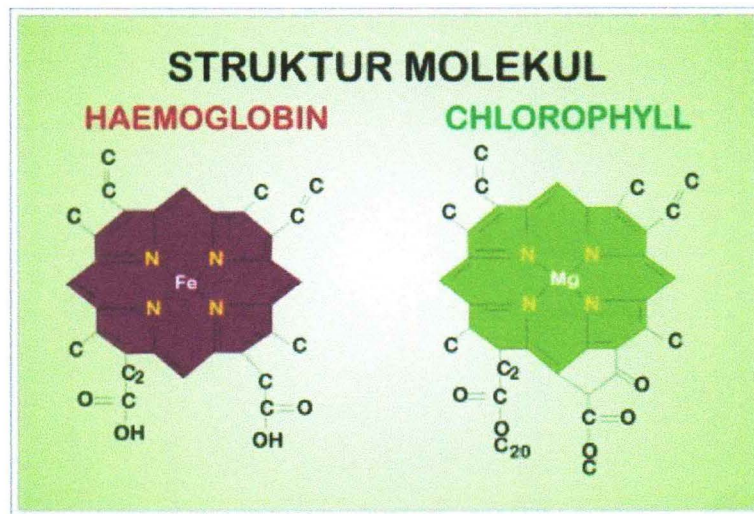


Gambar 2.1: Struktur molekul klorofil a dan klorofil b (Best, 2006).

Perbedaan Klorofil a dan klorofil b terletak pada rantai sampingnya, klorofil a rantai sampingnya adalah -CH₃ sedangkan klorofil b rantai sampingnya adalah -CHO. Klorofil a menyerap spektrum cahaya merah dengan lebih kuat, sedangkan klorofil b menyerap spektrum cahaya violet dengan lebih kuat (Robert, 1995).

Struktur dasar klorofil ini mempunyai kesamaan dengan struktur haemoglobin yang juga memiliki cincin porfirin. Perbedaan antara kedua senyawa tersebut terletak pada pusat logamnya. Pusat logam klorofil adalah magnesium (Mg), sedangkan pusat logam haemin adalah besi (Fe). Struktur klorofil yang hampir sama dengan haemoglobin menyebabkan klorofil mempunyai fungsi yang

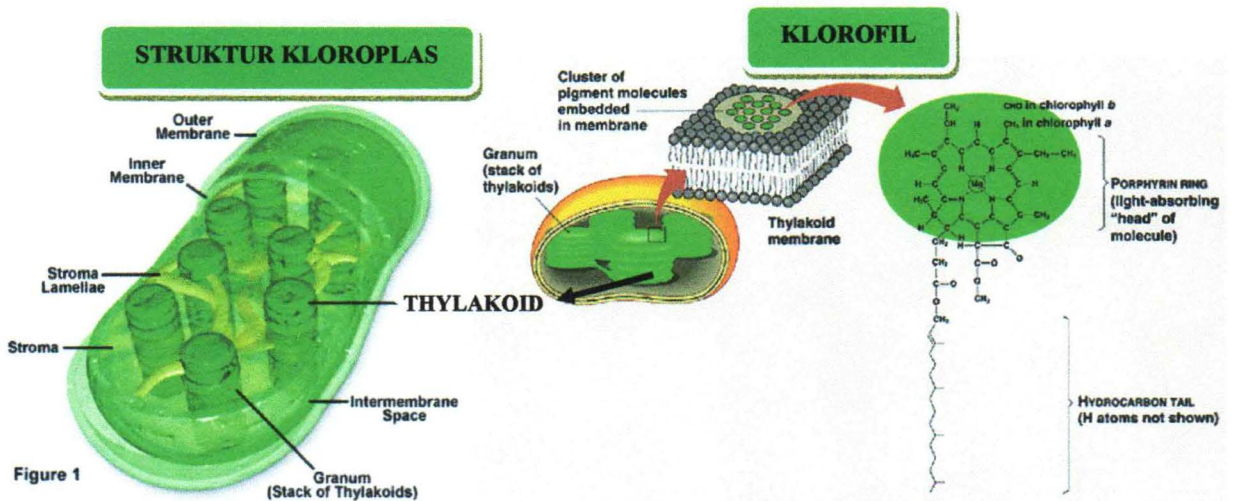
sama dengan haemoglobin yaitu mampu mengikat dan menambah kandungan oksigen dalam darah sehingga klorofil memiliki kemampuan *rejuvenasi* (peremajaan). Karena kemiripan struktur ini juga, maka klorofil adalah satu-satunya molekul di dunia ini yang secara alamiah dapat diterima oleh tubuh secara aman dan menjadi nutrisi vital bagi tubuh manusia (Higdon, 2009).



Gambar 2.2 : Kesamaan struktur molekul klorofil dan haemoglobin. Pusat logam klorofil adalah magnesium (Mg), pusat logam haemin adalah besi (Fe) (Anonim, 2009).

2.1.3 Klorofil dan fotosintesis

Klorofil adalah zat yang sangat vital untuk berlangsungnya proses fotosintesis yang dapat menghasilkan energi bagi organisme berpigmen seperti pada tanaman hijau, alga dan bakteri hijau.



Gambar 2.3 Organisasi struktur fotosistem tumbuhan
(Anonim, 2009)

Fotosintesis berasal dari kata foton yaitu cahaya dan sintesis yang berarti penyusunan. Fotosintesis adalah peristiwa penyusunan zat organik yaitu glukosa dari zat-zat anorganik berupa air dan karbondioksida dengan pertolongan energi cahaya. Reaksi fotosintesis terjadi pada membran fotosintesis tumbuhan atau sering disebut sebagai fotosistem. Pada bakteri, membran tersebut berupa lipatan dari membran sel, sedangkan pada tumbuhan, alga dan protista bersel satu seperti *Euglena* semua reaksi fotosintesis terjadi di dalam organela sel yang disebut dengan kloroplas. Kloroplas mempunyai sistem membran dalam yang terorganisasi menjadi kantong pipih berbentuk cakram yang disebut tilakoid. Tumpukan tilakoid disebut dengan grana. Tiap-tiap tilakoid mempunyai ruang tertutup tempat tersedianya klorofil dan merupakan tempat pembentukan ATP. Disekeliling tilakoid terdapat cairan yang disebut dengan stroma yang mengandung enzim yang berperan dalam reaksi fotosintesis. Didalam kloroplas terkandung beberapa jenis pigmen yaitu klorofil a, klorofil b, dan karetonoid (Syamsuri, 2004).

Proses fotosintesis merupakan rangkaian dari penangkapan energi cahaya, aliran elektron dan penggunaan energi yang dilepaskan oleh elektron untuk menghasilkan zat organik melalui daur Calvin yaitu sebuah siklus penggunaan ATP dan NADPH untuk mengubah CO₂ menjadi gula (glukosa, mlatosa, fruktosa dan amilum) yang semua tahapan tersebut membutuhkan peran utama dari klorofil (Matthews, 1996).

2.1.4 Manfaat klorofil dibidang kesehatan

Selama ini klorofil hanya dikenal sebagai zat hijau daun yang berperan dalam proses fotosintesis tumbuhan padahal perkembangan teknologi telah membuktikan bahwa klorofil memiliki berbagai manfaat terutama di bidang kesehatan (Candra, 2008). Di dunia internasional nama klorofil telah dimanfaatkan sejak lama dan banyak digunakan sebagai suplemen kesehatan dan terapi kanker yang efektif, namun di Indonesia pemanfaatan klorofil masih sangat jarang dilakukan terutama di bidang kedokteran gigi yang berkaitan dengan kesehatan rongga mulut.

Beberapa manfaat klorofil yang telah diteliti adalah klorofil bagi tubuh manusia dapat membantu dalam hal meningkatkan jumlah sel-sel darah, khususnya meningkatkan produksi hemoglobin dalam darah, mengatasi anemia, membersihkan jaringan tubuh, membersihkan hati dan membantu fungsi hati, meningkatkan daya tahan tubuh terhadap senyawa asing (virus, bakteri, parasit), memperkuat sel, melindungi DNA terhadap kerusakan, dapat mencegah kanker dan dimanfaatkan sebagai terapi kanker menggunakan fotodimanika, anti bakteri untuk menghilangkan bau mulut, serta mampu mempercepat proses penyembuhan

luka (Spikes, 1991; Dashwood, 1995; Okai Y et al, 1996; Scheer, 2003; Limantara, 2006). Selama lima puluh tahun dimanfaatkan dibidang kesehatan molekul klorofil terbukti aman terhadap tubuh dan tidak memiliki efek samping yang berat (Egner, 2000).

Meskipun secara alami klorofil dapat langsung dicerna, tetapi riset terkini tentang klorofil, menyatakan bahwa klorofil murni yang terkena proses pengolahan (dimasak) akan rusak fungsi utamanya. Klorofil yang terolah tersebut akan sulit diserap oleh tubuh manusia, bahkan sebagian besar akan terbuang dalam sistem pembuangan (Candra, 2008). Saat ini juga telah berhasil diteliti bahwa pengekstrakan klorofil dapat dilakukan sebelum terjadi penurunan mutu dan fungsi utamanya. Pengekstrakan tersebut dilakukan dengan cara menambahkan atom magnesium di dalam molekul bersama atom tembaga dan atom-atom natrium, sehingga molekul klorofil bisa larut dalam air dan menjadi stabil. Penambahan atom-atom baru tersebut menghasilkan struktur kimia baru yang disebut klorofilin (*Chlorophyllin*) (Dashwood, 1997; Sudakin, 2003). *Chlorophyllin* ini telah diperdagangkan dengan berbagai merk dagang baik dalam bentuk tablet, kapsul, maupun cairan.

Cara kerja klorofil atau *Chlorophyllin* adalah dengan mengikat molekul-molekul berbahaya di dalam tubuh dengan membentuk kompleks ikatan yang kuat yang kemudian ikut terbuang keluar tubuh. Klorofil mampu mengikat parasit, bakteri, dan virus yang ada dalam tubuh manusia serta membersihkan jaringan-jaringan tubuh sisa limbah metabolisme di *gastrointestinal tract* (Tachino, 1994; Breinholt, 1995; Dashwood, 1996; Egner, 2003). Ekor molekul klorofil yang bersifat hidrofobik dapat masuk ke dalam sela-sela sel atau jaringan dan

mengangkat senyawa hidrokarbon dari dinding sel serta mengeluarkan senyawa beracun tersebut. Hidrokarbon yang dimaksud adalah pestisida, obat-obatan yang tertimbun dalam tubuh, pewarna makanan, bahkan bakteri, parasit, dan virus. Klorofil bertindak menguatkan sel-sel, melepaskan zat racun dari hati dan aliran darah, melindungi tubuh dari senyawa-senyawa karsinogen serta secara *in vitro* mampu menetralsisir oksidan-oksidan yang berasal dari bahan kimia dan radiasi yang dapat membahayakan tubuh (Kamat, 2000; Kumar, 2001, 2004; Park, 2003). Klorofil dapat menghambat enzim sitokrom P450 yang dapat merangsang bahan-bahan prokarsinogenik menjadi karsinogenik serta meningkatkan aktivitas enzim *phase II biotransformation* yang berfungsi mengeliminasi toksin berbahaya di dalam tubuh (Tachino, 1994; Yun, 1995; Dingley, 2003).

Penelitian lain pada tahun 1940-an dan 1950-an membuktikan bahwa klorofilin dalam bentuk topikal mempunyai kemampuan untuk mengurangi bau busuk *fecal odor* dari luka akibat *ileostomies* dan *colostomies* artinya, klorofil dapat digunakan sebagai *internal deodorant* yang aman bagi tubuh (Haipeng et al, 1999). Klorofil juga telah dibuktikan pada tahun 1947 oleh Bowers mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri anaerobik, mengurangi peradangan (*inflammation*), mampu menyembuhkan luka hewan coba, menyembuhkan vaskular ulser dan ulser yang parah (*decubitus ulcers*) dengan efektif. Hal ini karena kemampuan klorofil yang dapat memperbaiki sel-sel yang rusak atau regenerasi sel, membantu meningkatkan proliferasi sel-sel baru, dan meningkatkan akses dari makrofag ke daerah luka (Yassin, 1996; David, 2005). Klorofil juga terbukti mampu menghambat pertumbuhan beberapa bakteri di dalam rongga mulut seperti *Streptococcus salivarius*, *Staphylococcus aureus*,

Lactobacillus fermenti, *Streptococcus sanguinis* dan *Actinomyces viscosus* (Gregory, 2007). Pada penelitian oleh Gregory tahun 2007 ditemukan bahwa pada konsentrasi 10 μ g/ml (0,01 mg/ml atau 0,01%) ekstrak *dilusion* mampu menghambat secara signifikan pertumbuhan *Streptococcus sanguinis* dan *Actinomyces viscosus*. Hal ini dikarenakan klorofil mempunyai kemampuan untuk mengatur oksidasi-reduksi pada lingkungan hidup bakteri-bakteri tersebut dengan cincin porfirin yang kemudian mungkin dapat menginduksi terganggunya sintesis dari membran dan dinding sel bakteri pada tingkat mesosomal dan meningkatkan kadar oksigen dilingkungan sekitarnya (Banfi et al, 2006).

Pada penelitian terbaru klorofil juga diketahui berpotensi sebagai *photosensitizer* (obat pemicu yang aktif oleh rangsangan cahaya) untuk terapi tumor dan kanker. Terapi ini disebut terapi fotodinamika (*photodynamic therapy*) dan telah diterapkan di banyak negara seperti di Jepang, Jerman, dan Amerika Serikat. Teknik ini telah dipakai untuk menangani kanker seperti kanker otak, paru-paru dan mulut. Terapi fotodinamika menjadi alternatif yang lebih aman daripada kemoterapi yang sering memberikan efek samping seperti kerontokan rambut dan rusaknya kulit. Tidak seperti kemoterapi yang membutuhkan selang waktu antar pemberiannya, terapi fotodinamika dapat dilakukan dengan frekuensi yang lebih sering dalam kurun waktu tertentu (Egner et al, 2003; Limantara, 2006).

Sumber klorofil yang paling nyata adalah sayuran hijau. Akan tetapi, lebih baik dikonsumsi dalam keadaan mentah, karena klorofil mudah sekali rusak oleh pengolahan (Candra, 2008). Klorofil banyak tersedia dalam bentuk ekstrak, cairan maupun tablet. Sumber klorofil terbaik yang berasal dari alam terdapat pada

chlorella, spirulina dan daun Alfalfa, namun yang saat ini sedang banyak dikembangkan dan banyak ditemui di Indonesia adalah klorofil yang bersumber dari daun Alfalfa.

Tabel 2.1 Perbandingan Kandungan klorofil pada chlorella, spirulina dan daun Alfalfa (Dennis, 2004)

	Spirulina	Chlorella	Other sources
Protein	68%	55%	Brewer's Yeast 45%
Vitamin A	250,000 IU	55,000 IU	Carrots 28,000 IU
Iron	58 mg	133 mg	Beef Liver 6.5 mg
Chlorophyll	0.7-1.1%	2-3%	Alfalfa 0.2%; Cereal Grass 0.2- 0.54%

2.2 Daun Alfalfa (*Medicago sativa*)

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Taksonomi dari Alfalfa berdasarkan penelitian pada tahun 1984 adalah sebagai berikut (Chevallier, 1996) :

Kingdom: *Plantae*

Division : *Magnoliophyta*

Class : *Magnoliopsida*

Order : *Fabales*

Family : *Fabaceae*

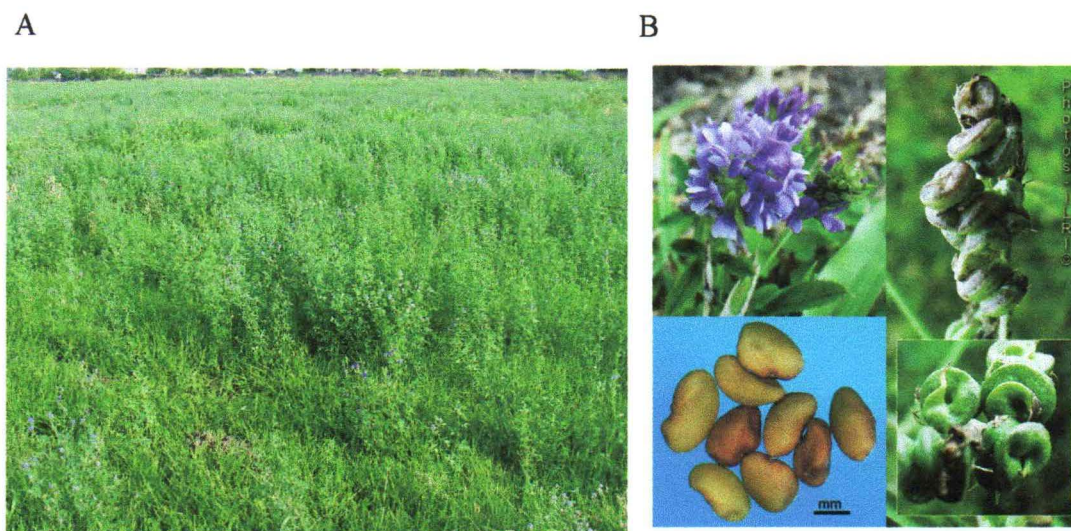
Subfamily: *Faboideae*

Tribe : *Trifolieae*

Genus : *Medicago*

Species : *M. sativa* L.

Alfalfa (*Medicago sativa*) adalah jenis tanaman berbunga di dalam keluarga kacang polong *Fabaceae* yang telah sejak lama dipergunakan sebagai tanaman obat oleh bangsa Cina. Alfalfa adalah sejenis kacang polong yang tetap hijau pada musim dingin yang usia hidupnya 3-12 tahun, tergantung pada iklim dan variasi karena tanaman ini dapat hidup pada berbagai kondisi iklim. Tingginya bisa mencapai satu meter dan memiliki akar yang sangat panjang hingga mencapai 4,5 meter. Akarnya yang sangat panjang membuat Alfalfa mampu bertahan hidup, sekalipun terjadi kekeringan. Alfalfa mempunyai ciri yang sangat berlainan dengan tumbuhan pada umumnya. Ia menghasilkan keadaan yang beracun bagi tumbuhan disekitarnya, oleh karena itu tumbuhan ini tidak dikembangkan dengan tumbuhan lainnya. Keadaan ini yang menjadi dasar tumbuhan alfalfa ini dikembangbiakkan bila musim panen tanaman utama sudah diselesaikan (Royer dan Dickinson, 1999).



Gambar 2.4 : Tanaman Alfalfa (A) Ladang Alfalfa yang akan dipanen sebelum berbunga (B) Gambar bunga, buah dan biji Alfalfa (Anonim, 2009)

Alfalfa berasal dari Negara Iran meskipun begitu Alfalfa telah tersebar dan dikembangkan hampir di seluruh belahan dunia seperti di Eropa, Australia, Amerika Selatan, Afrika Selatan, Cina, dan Timur Tengah. Di Indonesia, tanaman ini mulai dibudidayakan, paling banyak di daerah Jawa Tengah. Pada awalnya, tanaman ini hanya digunakan sebagai makanan hewan ternak berprotein tinggi disebabkan kemampuannya yang sama seperti pada jenis tanaman kacang-kacangan lainnya yaitu pada akar Alfalfa terdapat bakteri *Rhizobium* yang mampu memfiksasi (mengikat) nitrogen (Clements, 1992; Dakora et al, 1993). Banyaknya studi dan penelitian tentang kandungan dan manfaat Alfalfa yang membuat tanaman ini kemudian banyak dikonsumsi oleh manusia sebagai tanaman obat atau suplemen kesehatan (Brinker 2001).

2.2.2 Kandungan dan manfaat daun Alfalfa

Kandungan dan manfaat Alfalfa sangat banyak, seluruh bagian tanaman Alfalfa mengandung komponen yang bersifat fungsional bagi tubuh, seperti: saponin, sterol, flavonoid, kumarin, alkaloid, vitamin, asam amino, gula, protein, mineral, dan komponen gizi lainnya (Bisby et al, 1994; Oleszek, 1996, 2000). Alfalfa juga mengandung serat (*dietary fiber*) dalam jumlah cukup banyak dan dapat berfungsi sebagai antikolesterol (Colodny et al, 2001). Alfalfa dikenal sebagai salah satu tumbuhan dengan kandungan gizi sangat tinggi. Kandungan kalsium, klorofil, karoten, dan vitamin K yang cukup tinggi, menjadikan Alfalfa sebagai salah satu suplemen yang sering dikonsumsi manusia. Kandungan klorofil Alfalfa empat kali lebih tinggi daripada sayuran biasa, dan termasuk sumber klorofil terbanyak ketiga setelah *Chlorella* dan spirulina (Dennis, 2004).

Kandungan saponin pada akar Alfalfa dapat menghambat peningkatan kolesterol dalam darah hewan percobaan yang diberi pakan tinggi kolesterol (sebesar 25 persen) namun, saponin juga memiliki efek negatif, yaitu bersifat hemolitik dan dapat mengganggu metabolisme vitamin E (Oleszek 2000; Colodny et al, 2001). Kandungan lain seperti flavonoid telah terbukti sebagai bahan anti bakteri (Cushnie et al, 2005; Pepeliniak et al, 2005; Hu J et al, 2006). Alfalfa dapat juga digunakan untuk pengobatan arthritis, masalah ginjal dan luka bakar (Foster et al, 1990; Barnes J et al, 2002)

Keunggulan lain Alfalfa adalah memiliki kandungan vitamin dan mineral cukup lengkap. Vitamin yang terkandung dalam Alfalfa adalah: vitamin A, thiamin (vitamin B1), riboflavin (vitamin B2), niasin (vitamin B3), vitamin B5, vitamin B6, vitamin C, vitamin K, dan asam folat serta mineral unggulan, yakni

kalsium, besi, magnesium, fosfor, tembaga, dan seng. Jumlah vitamin dan mineral tersebut dapat dilihat pada **tabel 2.2**

Tabel 2.2 Kandungan gizi per 100 gram Alfalfa (Anonim, 2009)

Zat Gizi	Kadar
Energi	23 kkal
Karbohidrat total	2,1 g
Serat pangan	2,9 g
Lemak total	0,7 g
Protein	4,0 g
Vitamin A	155 IU
Vitamin C	8,2 mg
Vitamin K	30,5 mg
Asam folat	36 mkg

Sebenarnya hampir seluruh tumbuhan hijau mengandung vitamin K, namun, kandungan vitamin K dalam 100 gram Alfalfa cukup tinggi, yang dapat memenuhi 38 persen dari total kebutuhan tubuh dalam sehari. Vitamin K sangat penting untuk pembentukan protein dan penggumpalan darah pada saat terjadi luka. Vitamin K juga dapat berfungsi sebagai zat antihemolitik, khususnya saat terjadi perdarahan, seperti pada orang-orang yang sedang melakukan terapi antibiotik dan bagi penderita diare kronis.

Alfalfa pada umumnya tidak menyebabkan efek samping pada sebagian besar orang, tetapi konsumsi yang berlebihan justru dapat menyebabkan kelelahan dan pada beberapa orang bisa muncul reaksi diare dan dermatitis. Alfalfa tidak dianjurkan untuk dikonsumsi selama masa kehamilan dan menyusui karena dapat berpengaruh pada janin. Penderita lupus juga tidak dianjurkan untuk mengkonsumsi Alfalfa karena mengandung asam amino beracun *L-canavanine* yang diduga dapat mengakibatkan *lupus-like syndrome* (WebMD, 2009). Dosis yang aman dan dianjurkan dapat dilihat pada **tabel 2.3**.

Tabel. 2.3 Dosis pemakaian suplemen Alfalfa (Anonim, 2009)

Adults (Aged 18 or Older)	Children (Younger than 18)
Tablets: A dose of two tablets (one gram each) of Cholestaid (esterin processed Alfalfa) taken by mouth three times daily for up to two months, then one tablet three times daily, has been recommended by the manufacturer.	There are not enough scientific data to recommend Alfalfa supplements for use in children, and Alfalfa is not recommended because of potential side effects.
Dried herb: A dose of five to 10 grams of dried herb taken by mouth three times daily has been used	
Liquid extract: A dose of five to 10 milliliters (one to two teaspoonfuls) of a 1:1 solution in 25 percent alcohol taken by mouth three times daily has been used.	
Seeds: For treating high cholesterol, a dose of 40 grams of heated seeds prepared three times daily and taken by mouth with food has been used.	

2.3 *Streptococcus sanguinis*

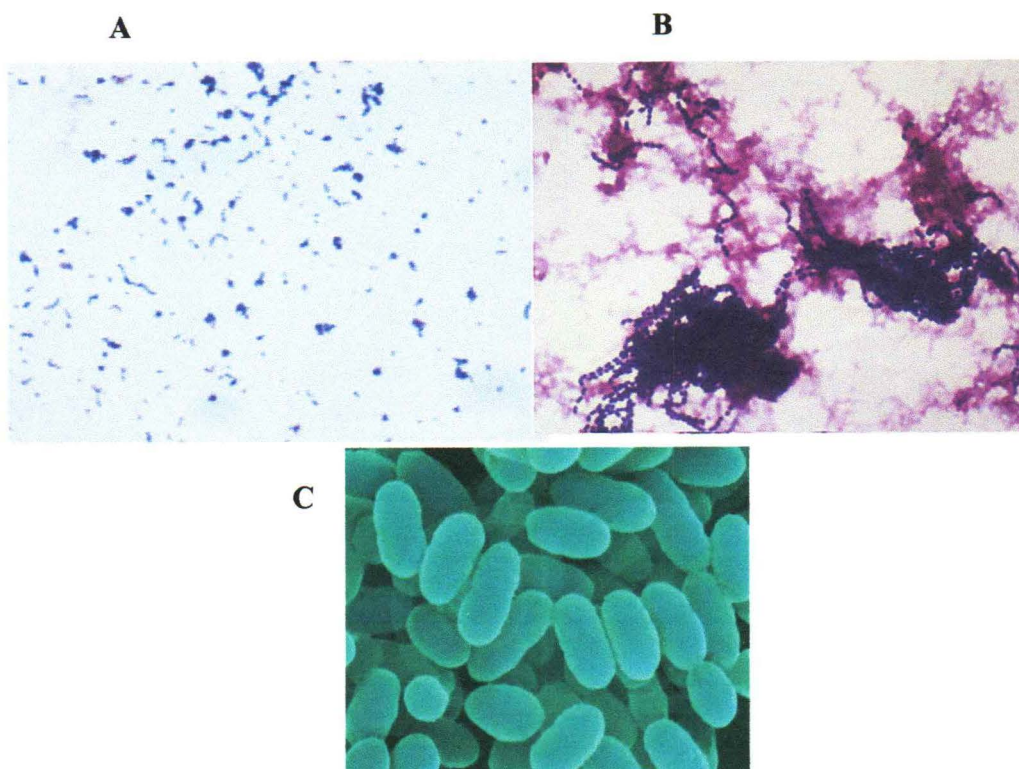
2.3.1 Morfologi

Streptococcus sanguinis sebelumnya disebut dengan *Streptococcus sanguis*, tetapi kemudian mengalami perubahan nama untuk disesuaikan dengan grammer bahasa latin (Truper dan Clari, 1997; Kilian, 2001). *Streptococcus sanguinis* merupakan bakteri gram positif, bersifat nonmotil (tidak bergerak), dan jenis bakteri anaerob fakultatif. Memiliki bentuk kokus yang tunggal berbentuk bulat atau bulat telur dan tersusun dalam bentuk rantai. Bakteri ini tumbuh secara optimal pada suhu sekitar 18⁰-40⁰ Celsius. *Streptococcus sanguinis* biasanya ditemukan pada rongga mulut manusia yang sehat dan menjadi bakteri yang patogen jika ikut mengalir lewat aliran darah menuju jantung sehingga menyebabkan terjadinya endokarditis (Yamaguchi et al, 2006).

Bakteri ini dapat dijumpai dalam rongga mulut setelah gigi-geligi erupsi, dan merupakan bakteri pertama yang menempel pada gigi dan membentuk plak gigi. *S. sanguinis* lebih banyak terkonsentrasi pada permukaan terluar dari plak gigi dibandingkan daerah-daerah lainya (Kreth et al, 2005). *S. Sanguinis* berbeda dengan *S.mutans* yang bersifat kariogenik, *S. sanguinis* merupakan bakteri yang patogen oportunistik di rongga mulut dan bersifat *low cariogenicity*. Diameter selnya 0,8 – 1,2 mikrometer, tidak memiliki kapsul dan selalu ditemukan berpasangan membentuk suatu rantai pendek. Dinding selnya terdiri dari berbagai bahan yaitu protein, peptidoglikan, polisakarida, asam teikoid, glukon serta enzim glucosyltransferase (Bisla, 2000 ; Tanzer, 2001 ; Bullen, 2002).

Koloni bakteri pada *blood agar* berwarna putih keabu-abuan atau hijau, sementara koloni bakteri pada media yang mengandung sukrosa menghasilkan suatu polimer keras yang mengikat sangat kuat pada agar namun beberapa strain (*soft Sanguinis*) tidak menghasilkan polimer. *S. sanguinis* berbeda dengan mikroba oral lain, karena bakteri ini mampu menghidrolisis *arginine* dan *eskulin*, memproduksi *IgAI protease*, namun tidak mampu menghidrolisis *acetoine* (Slot, 1991).

Streptococcus sanguinis mempunyai adesin berupa sortase A (SrtA) yang membantu perlekatannya secara hidropobik pada permukaan gigi, sel epitel rongga mulut dan merupakan faktor virulensinya (Yamaguchi et al, 2006). Berbeda dengan *S. mutans* yang sangat sensitif terhadap oksigen, *S. sanguinis* lebih tahan terhadap kondisi aerob, sehingga perkembangannya dan metabolisme terhadap glukosa pada kondisi aerob sedikit lebih cepat dibandingkan *S. mutans* (Marsh dan Martin, 1999).



Gambar 2.5 Pengecatan gram *Streptococcus sanguinis* (A) pembesaran 100X (B) Pembesaran 4000X (C) *S. Sanguinis* dilihat dengan mikroskop fluoresen (Anonim, 2009)

Streptococcus sanguinis adalah bakteri yang bersifat asidogenik yaitu menghasilkan asam dan asidodurik yaitu mampu tinggal pada lingkungan asam, serta menghasilkan suatu polisakarida yang lengket disebut dextran (Widya, 2008). Oleh karena kemampuan ini, *Streptococcus sanguinis* bisa menyebabkan perlekatan dan menarik bakteri lain menuju ke email gigi, sehingga menyebabkan perlekatan baru dan pertumbuhan bakteri asidodurik yang lainnya. *S. sanguinis* cenderung hidup pada lapisan luar dari plak sedangkan *S. mutans* lebih mudah hidup pada lapisan dalam dari plak yang lebih bersifat anaerobik, karenanya *S. mutans* lebih mudah menghasilkan asam yang kemudian dapat melarutkan email gigi dibandingkan *S. sanguinis* (Page, 2000).

2.3.2 Klasifikasi

Klasifikasi *Streptococcus sanguinis* adalah :

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

2.3.3 *Recurrent aphthous stomatitis* (RAS) karena bakteri *Streptococcus sanguinis*

Recurrent aphthous stomatitis (RAS) merupakan suatu penyakit yang ditandai dengan ulser yang rekuren dan timbul secara periodik dan terbatas pada mukosa mulut dari pasien-pasien yang tidak memiliki tanda-tanda dari penyakit lainnya. Banyak para ahli dan penyidik di bidang penyakit mulut yang tidak lagi menganggap RAS sebagai suatu penyakit tunggal akan tetapi lebih cenderung menganggapnya sebagai beberapa keadaan patologik dengan manifestasi klinis yang serupa. Gangguan imunologik, defisiensi nutrisi, dan kelainan hormonal semuanya sudah pernah diungkapkan dalam kasus-kasus RAS (Crispian et al, 2003).

RAS dikelompokkan menjadi tiga kategori bergantung pada presentasi klinis dari lesinya, yaitu ulser minor, ulser mayor, dan herpetiform ulser. Ulser minor memiliki diameter yang besarnya kurang dari satu sentimeter dan dapat

sembuh tanpa disertai pembentukan jaringan parut. Ulser mayor memiliki diameter lebih dari satu sentimeter dan akan membentuk jaringan parut pada penyembuhannya. Ulser herpetiform merupakan suatu kumpulan ulser yang rekuren dari ulser-ulser kecil yang timbul diseluruh mukosa mulut (Porter dan Scully, 2005). Lesi dari RAS terbatas pada mukosa mulut dan dimulai dengan gejala prodormal berupa rasa terbakar setiap waktu mulai dari 2-48 jam sebelum munculnya ulser (Feder, 2000).



Gambar 2.6 Jenis-jenis ulser RAS (A) Minor aphthous ulceration (B) Mayor aphthous ulceration (Crispian et al, 2003).

Penyebab dari RAS masih belum diketahui secara pasti, namun mayoritas ilmuwan menganggap RAS sebagai suatu abnormalitas dari respon imun. Beberapa mengkategorikan dengan penyakit autoimun, yang lainnya menganggap keadaan tersebut sebagai suatu reaksi imunologik yang abnormal penderita RAS terhadap antigen dari bakteri mulut, khususnya *Streptococcus sanguinis* dengan strain 2A yang berbeda dengan *Streptococcus sanguinis* orang normal (Lehner et al, 1999).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa adanya kecenderungan yang lebih besar untuk terjadi reaksi hipersensitivitas tipe lambat terhadap

Streptococcus sanguinis 2A diantara pasien-pasien RAS (Greenberg and Pinto, 2003). Bukti-bukti in vitro juga telah ditambahkan bahwa terjadi hipersensitivitas seluler terhadap *S. sanguinis* 2A pada pasien RAS dengan menggunakan tes migrasi leukosit. Penelitian lain menunjukkan bahwa pasien RAS memiliki antibodi terhadap *S. sanguinis* akan tetapi tidak terhadap *Neisseria*, komponen normal lainnya dari flora rongga mulut. Hasil-hasil ini mendukung konsep bahwa reaksi imun terhadap *S. sanguinis* 2A merupakan suatu reaksi imun yang spesifik dan bukan suatu reaksi umum terhadap flora mulut (Jurge et al, 2006).

Obat-obatan yang diberikan untuk terapi RAS bergantung pada tingkat keparahan penyakitnya. Dalam kasus yang ringan, dapat menggunakan orabase seperti *alocclair*, sedangkan untuk kasus yang lebih berat, penggunaan preparat kortikosteroid topikal sangat membantu dalam mengurangi waktu penyembuhan dari lesinya, serta dapat juga dengan menggunakan terapi tetrasiklin topikal. Pemberian oba-obatan kortikosteroid ini masih mempunyai resiko terjadinya alergi dan oral kandidiasis karenanya harus selalu dipertimbangkan dengan keadaan umum penderita (Prikuls, 2000).

2.4 Uji sensitivitas antibakteri

Antibakteri merupakan bahan atau senyawa yang khusus digunakan untuk kelompok bakteri. Antibakteri dapat dibedakan berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu antibakteri yang menghambat pertumbuhan dinding sel, antibakteri yang mengakibatkan perubahan permeabilitas membran sel atau menghambat pengangkutan aktif melalui membran sel, antibakteri yang menghambat sintesis protein, dan antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat sel. Aktivitas antibakteri dibagi menjadi 2 macam yaitu aktivitas bakteriostatik (menghambat

pertumbuhan tetapi tidak membunuh patogen) dan aktivitas bakterisidal (dapat membunuh patogen dalam kisaran luas) (Brooks et al, 2005).

Uji sensitifitas antibakteri dapat dilakukan dengan beberapa cara, yaitu :

A. Metode Dilusi

Metode ini menggunakan antibakteri dengan kadar yang menurun secara bertahap, baik dengan media cair atau agar. Kemudian media diinokulasi bakteri uji dan dieramkan. Antibakteri dilarutkan dengan kadar yang dapat menghambat atau mematikan bakteri pada tahap akhir. Uji kepekaan cara dilusi agar memakan waktu dan penggunaannya dibatasi pada keadaan tertentu saja. Uji kepekaan cara dilusi cair menggunakan tabung reaksi ataupun *microdilution plate*. Keuntungan uji mikrodilusi cair adalah bahwa uji ini memberi hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah antibakteri yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri (Jawetz et al, 2005).

B. Metode Difusi

Pada metode difusi ini ada beberapa cara yang dapat digunakan, yaitu:

1. Cara Kirby Bauer

Beberapa koloni kuman dari pertumbuhan 24 jam diambil, disuspensikan ke dalam 0,5 ml BHI cair, diinkubasi 5-8 jam pada 37°C, suspensi ditambah akuades steril hingga kekeruhan tertentu sesuai dengan standar konsentrasi bakteri 10^8 CFU per ml. Kapas lidi steril dicelupkan ke dalam suspensi bakteri lalu ditekan-tekan pada dinding tabung kapasnya tidak terlalu basah, kemudian dioleskan pada permukaan media agar hingga rata. Kertas samir (*disk*) yang

mengandung antibakteri diletakkan di atasnya, diinkubasi pada 37°C selama 18-24 jam (Hermawan dkk, 2007). Hasilnya dibaca, terdapat 2 zona yaitu :

- a. Zona radikal yaitu suatu daerah di sekitar disk dimana sama sekali tidak terjadi pertumbuhan bakteri. Potensial antibakteri diukur dengan menggunakan diameter dari zona radikal.
- b. Zona irradikal yaitu suatu daerah di sekitar disk dimana pertumbuhan bakteri dihambat oleh bakteri, tetapi tidak dimatikan ditandai dengan masih adana sedikit pertumbuhan disekitar zona hambat (Pelczar, 2005).

2. Cara Sumuran

Beberapa koloni kuman dari pertumbuhan 24 jam pada agar diambil, disuspensikan ke dalam 0,5 ml BHI cair, diinkubasi 5-8 jam 37°C. Suspensi ditambah akuades steril hingga kekeruhan tertentu sesuai dengan strandar konsentrasi bakteri 10⁸ CFU per ml. Kapas lidi steril dicelupkan ke dalam suspensi bakteri lalu ditekan-tekan pada dinding tabung kapasnya tidak terlalu basah, kemudian dioleskan pada permukaan media agar hingga rata. Media agar dibuat sumuran ditetaskan larutan antibakteri, diinkubasi pada 37°C selama 18-24 jam. Hasilnya dibaca seperti cara Kirby Bauer (Kusmayati dan Agustini, 2007).

3. Cara *Pour Plate*

Beberapa koloni kuman dari pertumbuhan 24 jam pada agar diambil, disuspensikan ke dalam 0,5 ml BHI cair, diinkubasikan 5-8

jam 37°C. Suspensi ditambah akuades steril hingga kekeruhan tertentu sesuai dengan standar konsentrasi bakteri 10⁸ CFU per ml. Suspensi bakteri diambil satu mata ose dan dimasukkan ke dalam 4 ml agar base 1,5% yang mempunyai suhu 50°C. Setelah suspensi kuman tersebut homogen, dituang pada media agar Mueller Hinton, ditunggu sampai agar tersebut membeku dan disk diletakkan di atas media dan dieramkan selama 15-20 jam dengan temperatur 37°C. Hasil dibaca sesuai standar masing-masing antibakteri (Kusmayati dan Agustini, 2007)

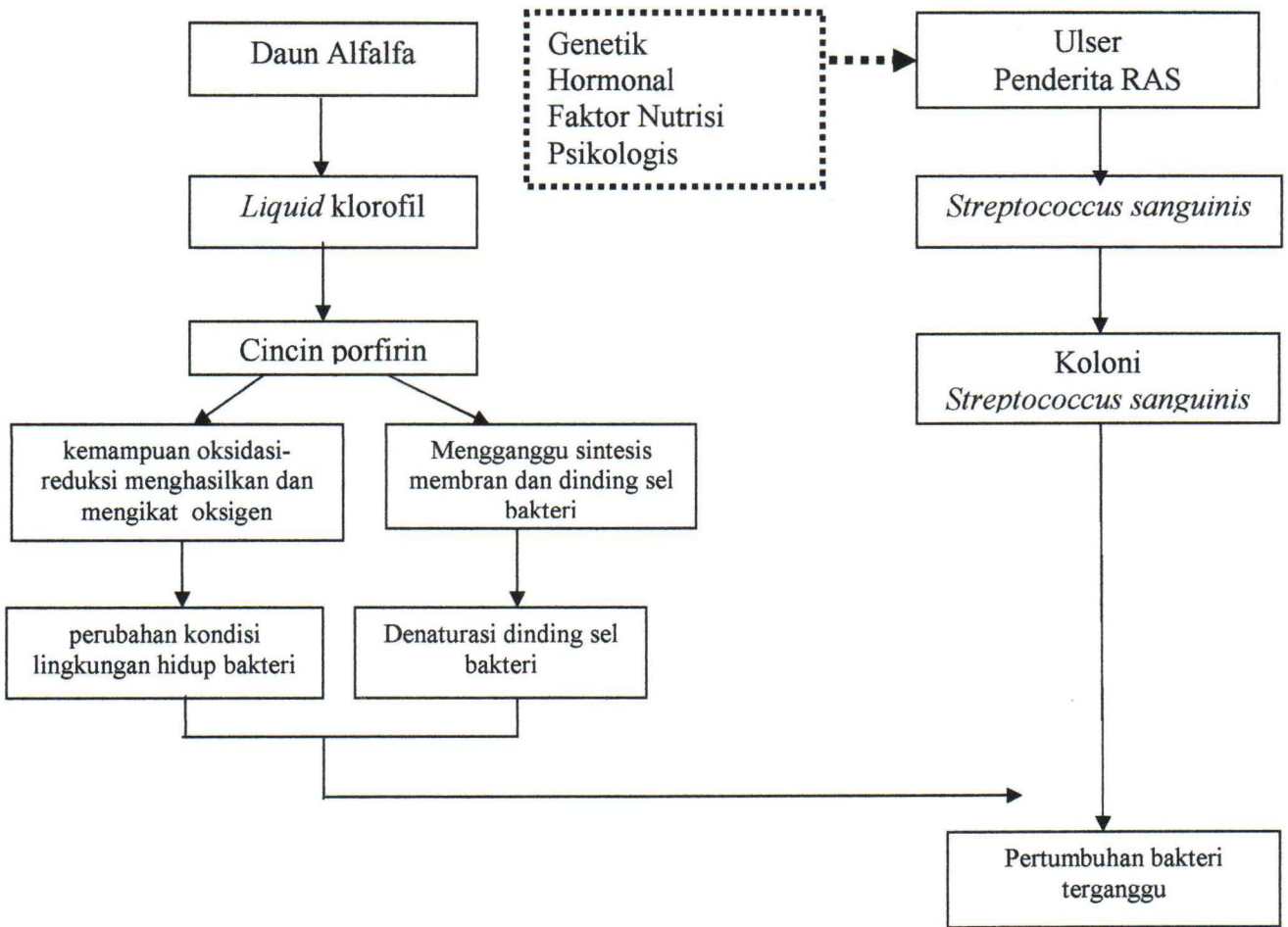
BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual



Keterangan Gambar:

- : Adalah variabel yang diteliti
- - - - - : Adalah variabel yang tidak diteliti

Pada penderita RAS yang salah satu faktor etiologinya disebabkan oleh aktivitas bakteri *Streptococcus sanguinis* yang bersifat anaerob fakultatif, maka obat yang memiliki kemampuan anti bakteri terhadap pertumbuhan *Streptococcus sanguinis* dapat membantu proses penyembuhan ulser pada penderita RAS(Crispian, et al, 2003)

Liquid klorofil yang berasal dari daun Alfalfa mengandung cincin porfirin yang dapat menginduksi terganggunya sintesis membran dan dinding dari sel bakteri pada tingkat mesosomal dan juga memiliki kemampuan dalam melakukan oksidasi dan reduksi untuk menghasilkan dan mengikat oksigen sehingga kadar oksigen dilingkungan sekitarnya dapat meningkat. Terganggunya proses sintesis menyebabkan terjadinya denaturasi pada dinding dan membran sel bakteri sehingga kemudian bakteri dapat mengalami lisis atau kematian. Kemampuan cincin porfirin dalam meningkatkan kadar oksigen dapat merubah lingkungan hidup bakteri-bakteri yang bersifat anaerob sehingga pertumbuhan dan perkembangan mereka dapat terhambat dan tidak optimum, termasuk bakteri *Streptococcus sanguinis* yang bersifat anaerob fakultatif (Banfi et al, 2006). Berdasarkan uraian diatas, pemberian *liquid* klorofil terhadap koloni bakteri *Streptococcus sanguinis* yang diisolasi dari penderita RAS memiliki kemungkinan untuk menghambat pertumbuhan bakteri tersebut.

3.2 Hipotesis penelitian

Liquid klorofil daun Alfalfa (*Medicago sativa*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus sanguinis* pada penderita *Recurrent aphthous stomatitis*.

BAB 4
METODE PENELITIAN

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis penelitian

Jenis penelitian yang dipergunakan adalah penelitian eksperimental laboratoris.

4.2 Lokasi Penelitian

Pengambilan spesimen pada penderita RAS, pengidentifikasian bakteri serta pengamatan mikro dilakukan di *Institute of Tropical Disease (ITD)* Universitas Airlangga.

4.3 Sampel penelitian

Penelitian ini menggunakan sediaan *liquid chlorophyll* daun Alfalfa PT S, PT B dan PT K dengan kandungan : Klorofilin dan air. Pada *liquid* klorofil PT S, dalam satu sendok teh (5 ml) *liquid* klorofil mengandung 15 mg klorofilin sedangkan pada PT B dan PT K tiap 15 ml mengandung 150 mg klorofilin.



Gambar 4.1 Macam-macam produk *liquid* klorofil daun Alfalfa yang digunakan dalam penelitian

4.3.1 Kriteria Penderita

Penderita yang akan dilakukan swab harus memenuhi persyaratan sebagai berikut (Crispian et al, 2003):

1. Penderita pria atau wanita
2. Berusia 18-30 tahun
3. Terdapat lesi RAS pada Ronga mulut berdasarkan anamesa dan pemeriksaan klinis yaitu mengalami ulserasi minimal 3 kali atau lebih pertahun secara periodik
4. Setuju dan bersedia menandatangani *inform consent*
5. Penderita tidak mempunyai penyakit sistemik dengan manifestasi ulser

4.3.2 Kriteria Ulser

Ulser yang akan di swab harus memenuhi kriteria (Crispian et al, 2003) :

1. Ulser memiliki diameter ≥ 3 mm
2. Terasa sakit

3. Ulser masih berusia kurang dari 4 hari
4. Ulser belum pernah diobati

4.3.3 Besar Sampel atau jumlah replikasi

Adapun besar sampel atau jumlah replikasi penelitian ditentukan dengan rumus (Madiono,1995) :

$$N = \frac{(Z\alpha)^2 \times \sigma^2}{d^2}$$

$$N = \frac{(1,96)^2 \times (2,6029)^2}{(3/4 \times 2,6029)^2}$$

$$N = 7,8295=8$$

Keterangan :

- N : nilai besar sampel = jumlah replikasi penelitian
 Z α : Harga standar normal pada $\alpha = 0,05 \rightarrow Z\alpha = 1,96$
 σ : Varian populasi
 d : Penyimpangan yang ditolerir = 0,75sd

4.4 Variabel penelitian

- Variabel bebas : Konsentrasi *liquid* klorofil daun Alfalfa dengan konsentrasi sesuai dengan aturan pabrik masing-masing merk yaitu PT S, PT K, dan PT B.
- Variabel tergantung : Pertumbuhan bakteri *Streptococcus sanguinis*.
- Variabel terkendali : Media, alat, bahan, konsentrasi inokulum bakteri, metode inokulasi, waktu, atsmofir, lamanya inkubasi, dan konsentrasi bakteri (*liquid* klorofil).

4.5 Definisi operasional

1. Daya anti bakteri adalah kemampuan liquid klorofil daun Alfalfa dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus sanguinis* di dalam media *mitis salivarius agar* yang diisolasi dari ulser penderita RAS.
2. Klorofil daun Alfalfa adalah kemasan suplemen klorofil yang berbentuk cair (*liquid*) yang bersumber dari Alfalfa dari PT S, PT K dan PT B.
3. Zona Hambat (*Zone of Inhibition*) adalah zona hambat dari *liquid* klorofil daun Alfalfa terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus sanguinis* dari penderita RAS dalam media BHIB setelah diinkubasi selama 24 jam dan tumbuh koloni dalam media subkultur *Trypton Yeast Cystein* (TYC) yang diukur menggunakan jangka sorong dalam milimeter (mm). Koloni *Streptococcus sanguinis* yang tumbuh pada media TYC berupa kumpulan bakteri *Streptococcus sanguinis* yang berbentuk bulat, oval, pinpoint atau irregular yang memiliki ukuran (diameter) yang berbeda-beda.

4.6 Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain:

1. *Cotton Bud* atau *Cotton pellet* steril
2. Tabung reaksi steril dan rak
3. Mikropipet steril (50 μ l)= 0,05 ml
4. petridish steril dengan diameter 9 cm
5. Jangka sorong
6. *spreader*
7. CO₂ inkubator

8. Alat pemeriksaan rongga mulut (kaca mulut, sode dan pinset)
9. Sumuran logam
10. Oese
11. Vortex
12. Spiritus brander

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

1. Sedian *liquid* klorofil daun Alfalfa PT S, PT K dan PT B
2. *Betadine solution* dan *Aquades* steril
3. Kenalog
4. *Media Brain Heart infusion Broth* (BHIB)
5. *Trypton Yeast Cystein* (TYC) (suatu media khusus untuk pertumbuhan *Streptococcus*)
6. Laktosa
7. *Arginin*
8. *Mannitol*
9. *Esculin*

4.7 Cara kerja

4.7.1 Sterilisasi alat dan bahan

Semua alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian disterilkan dalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit.

4.7.2 Prosedur Pengambilan sampel

Sampel diambil dari seorang penderita RAS yang mempunyai ulser di rongga mulutnya, baik penderita maupun ulser harus sesuai dengan kriteria sampel. Penderita diminta untuk berkumur aquades terlebih dahulu, kemudian permukaan ulser di swab dengan menggunakan *cotton bud* steril. Hasil hapusan segera dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 6 ml BHIB yang kemudian akan dibagi masing-masing 1 ml untuk 6 tabung reaksi. Setelah melakukan swab, lesi diulasi dengan *betadine solution* kemudian diberi pasta kenalog *cream* dengan *cotton bud* steril. Zat ini berfungsi untuk mengurangi rasa sakit dan mempercepat proses kesembuhan.

4.7.3 Prosedur identifikasi bakteri *Streptococcus sanguinis*

1. Setelah pengambilan sampel, sampel yang telah dimasukkan ke dalam 5ml BHIB, divibrasi selama 1 menit kemudian diinkubasi dalam CO₂ Inkubator (CO₂ 10% dan H₂ 90%) selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah itu, dikultur pada TYC *agar* dan diinkubasi kembali dalam CO₂ Inkubator (24 jam, 37°C).
2. Koloni bakteri yang sesuai dengan bentuk morfologi *Streptococcus sanguinis* diambil dan dilakukan pemeriksaan mikroskopis serta pengecatan Gram. Gambaran koloni bakteri tersebut yaitu ukuran koloni dengan diameter 1-5 mm, bulat teratur atau oval teratur permukaan koloni berbutir kasar, licin, berwarna putih, menyerupai bunga kasar dengan pusat menyerupai kapas dan daya lekat koloni melekat sekali pada media.
3. Setelah itu diambil lagi beberapa koloni yang memiliki bentukan yang sama untuk dilakukan spesifikasi spesies dengan tes biokimia. Koloni

ditanam pada tabung 2 ml arginin, selain itu juga dilakukan pada media *manitol*, laktosa dan *esculin*, diinkubasikan kembali ke inkubator gas CO₂ 10% dan H₂ 90% (2x 24 jam, 37°C). Pada arginin menunjukkan perubahan yang semula berwarna merah marun jernih dengan indikator warna BCP (*Brom Cresol Purple*) karena adanya proses fermentasi berubah menjadi ungu, pada gula eskulin yang semula berwarna coklat dengan indikator warna perisidrat jika terfermentasi berubah menjadi hitam, sedangkan pada gula laktosa yang semula berwarna hijau, karena proses fermentasi berubah menjadi hijau kekuningan. Pada gula manitol dengan indikator warna BTB (*Brom Timol Biru*) jika terfermentasi berubah menjadi kuning, jika tidak warnanya tetap biru (Slot, 1999).

4. Setelah diidentifikasi dengan menggunakan tes biokimia, kekeruhan suspensi suspek *Streptococcus sanguinis* disamakan dengan standar Mc Farland I (3×10^8 CFU/ml) yaitu dengan mata telanjang dilakukan dengan memegang tabung reaksi bersebelahan dan memandangnya pada latar belakang putih bergaris hitam. Jika kekeruhan suspensi bakteri masih belum sama, suspensi bakteri dapat diencerkan atau diberi tambahan bakteri (Forbes et al, 2002).

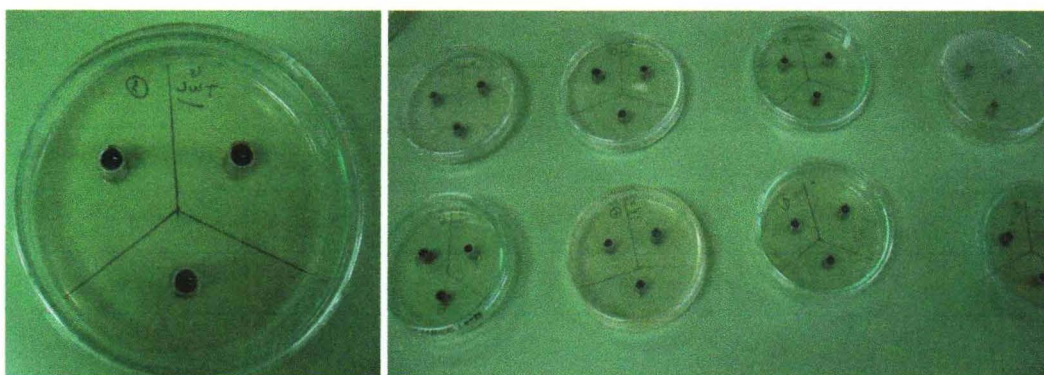
4.7.4 Prosedur uji daya hambat klorofil daun Alfalfa terhadap bakteri *Streptococcus sanguinis* dengan metode difusi

Adapun langkah-langkah metode difusi dalam penelitian ini :

1. Ambil 8 plate TYC yang steril, masing-masing dibuat 3 kuadran yaitu kuadran A untuk klorofil PT S, kuadran B untuk klorofil PT K, dan

kuadran C untuk klorofil PT B. Kemudian masing-masing plate agar diberi nomor 1-8.

2. Ambil plate nomer 1 kemudian tanami dengan 0,1 ml suspensi bakteri standar (Mc Farland 1) kemudian ratakan dengan spreader.
3. Ambil 3 buah sumuran dengan diameter kurang lebih 0,5 cm, kemudian masukkan satu-satu ke tiga kuadran yang berbeda.
4. Dengan mikropipet, isi ketiga sumuran dengan liquid klorofil masing-masing 0,5ml. Sumuran kuadran A diisi dengan klorofil PT S, sumuran kuadran B diisi dengan klorofil PT K, dan sumuran kuadran C diisi dengan klorofil PT B.

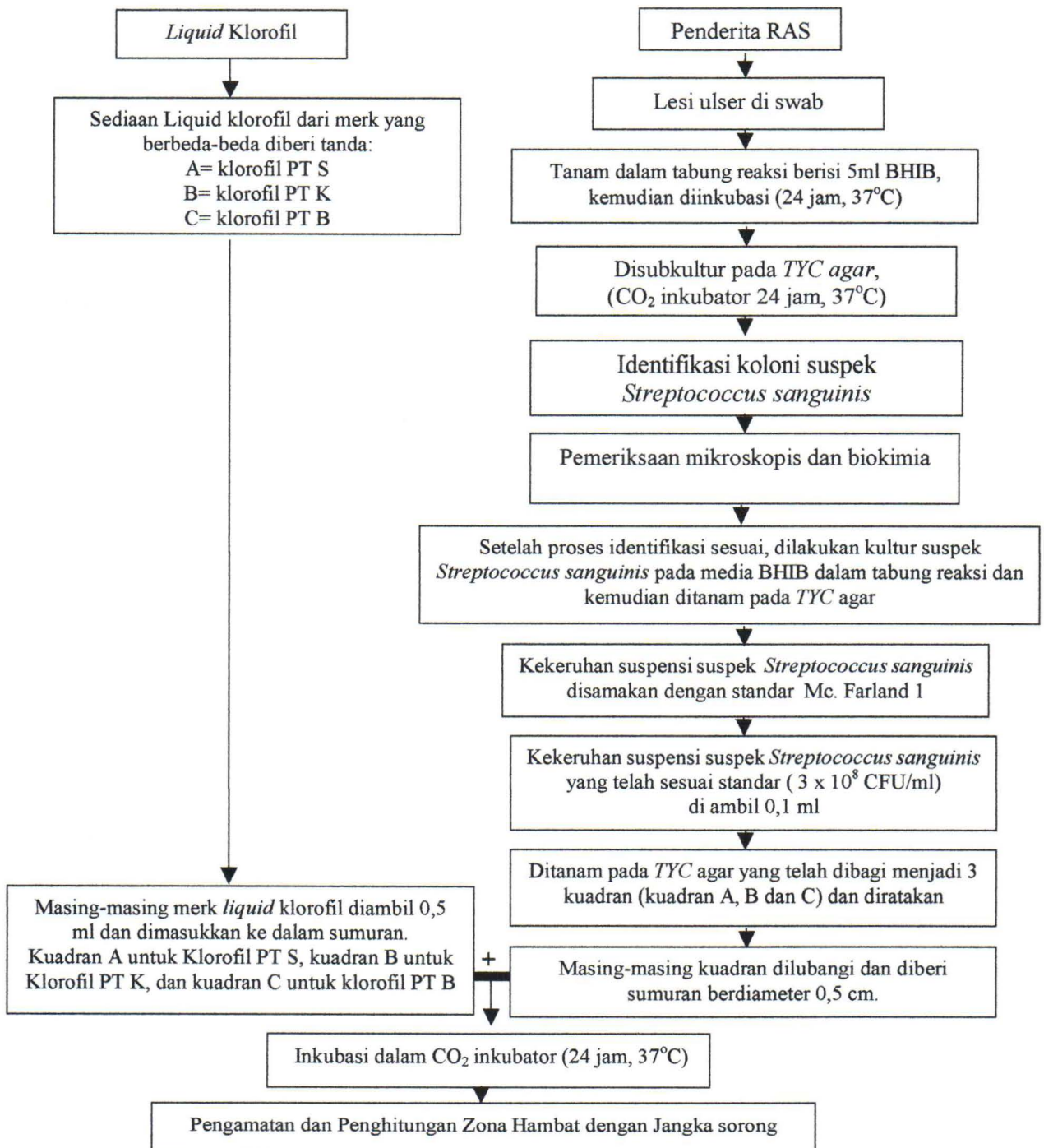


Gambar 4.2 TYC agar plate yang telah dibagi menjadi tiga kuadran dan diberi sumuran

5. Ulangi prosedur kerja no 2-4 pada tujuh TYC plate agar lainnya.
6. Kemudian Inkubasi semua plate ke dalam CO₂ inkubator selama 24 jam
7. Setelah diinkubasi amati dan hitung zona hambat tumbuh dengan menggunakan jangka sorong

4.7 Alur Penelitian

Alur penelitian yang telah dijabarkan diatas diatas dapat digambarkan pada bagan berikut :



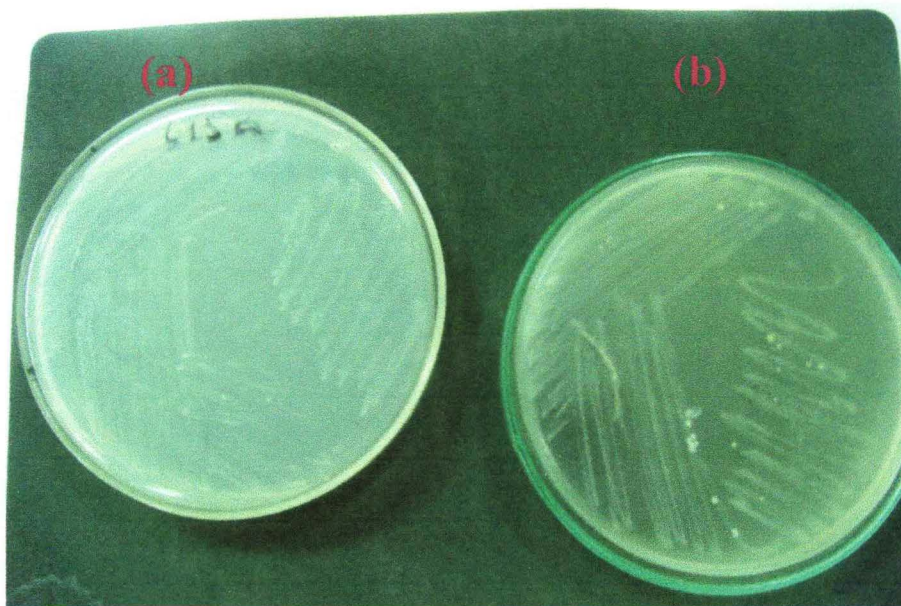
4.9 Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan menghitung terlebih dahulu diameter zona hambat pada masing-masing TYC *plate* agar kemudian dianalisis menggunakan *one-sample T Test* untuk mengetahui apakah *liquid* klorofil daun Alfalfa mempunyai kemampuan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *S. sanguinis* berdasarkan kriteria antibakteri yang ditentukan oleh Davis dan Stout (1971). Kemudian untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan daya hambat pada masing-masing merk *liquid* klorofil daun Alfalfa dilakukan analisa menggunakan uji *one-way Anova*.

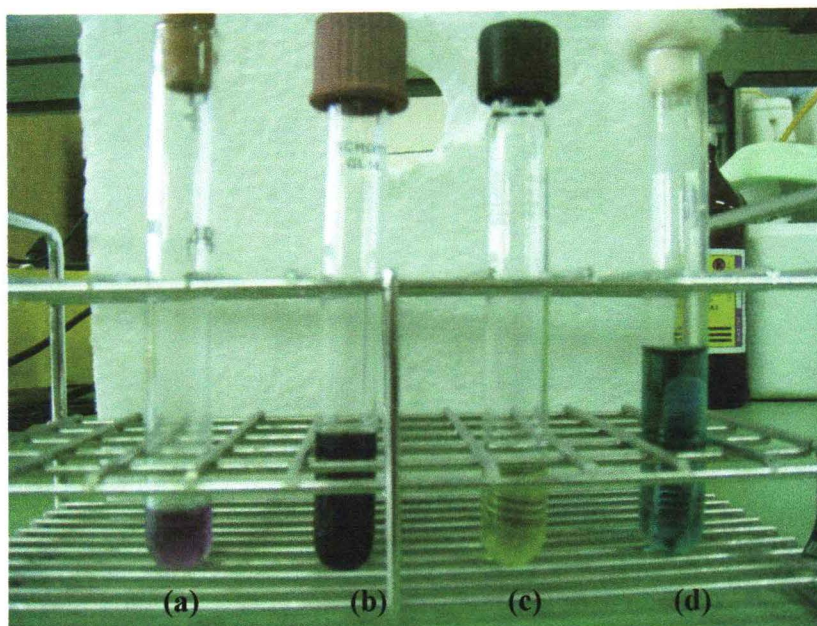
BAB 5
HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

BAB 5**HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA****5.1 Hasil penelitian****5.1.1 Hasil isolasi dan identifikasi *S.sanguinis***

Hasil isolasi dan identifikasi bakteri menggunakan pemeriksaan mikroskopis yaitu didapatkan berupa bentukan bakteri *coccus* berderet seperti rantai, dan pemeriksaan koloni bakteri pada media *Trypton Yeast Cystein* (TYC) agar serta hasil uji biokimia menggunakan gula-gula didapatkan suspek bakteri *Streptococcus sanguinis* (Kriswandini, 2004). Pada penelitian ini suspek bakteri *S. sanguinis* yang tumbuh juga di subkultur pada media *Luria-Bertani* (LB) agar yaitu salah satu jenis media kaya atau media penyubur bakteri untuk melihat perbedaan bentukan koloni yang tumbuh.



Gambar 5.1 koloni *S. sanguinis* pada media padat (a) *Luria-Bertani* Agar dan (b) *Trypton Yeast Cystein* (TYC)



Gambar 5.2 uji identifikasi bakteri *S. sanguinis* dengan tes biokimia gula-gula (a) arginin, (b) eskulin, (c) laktosa dan (d) manitol. Perubahan warna pada tabung a, b, dan c menunjukkan terbentuknya asam.

Keterangan :

- Pada arginin (a) menunjukkan perubahan warna dari merah marun jernih dengan indikator BCP berubah menjadi ungu
- Pada eskulin (b) menunjukkan perubahan warna dari coklat menjadi hitam
- Pada laktosa (c) menunjukkan perubahan warna dari hijau menjadi hijau kekuningan

5.1.2 Data penelitian zona hambat

Berdasarkan hasil penelitian dengan menggunakan metode difusi sumuran yang telah diinkubasi selama 24 jam 37°C pada CO_2 Inkubator (CO_2 10% dan H_2 90%) dan telah direplikasi sebanyak delapan kali, maka didapatkan zona hambat *liquid* klorofil daun Alfalfa masing-masing merk yaitu PT S, PT K, dan PT B terhadap suspek bakteri *S. sanguinis* yang dapat dilihat pada tabel 5.1.

Tabel 5.1 Hasil perhitungan diameter zona hambat *liquid* klorofil daun Alfalfa masing-masing merk terhadap bakteri *S. sanguinis*.

No Replikasi	Diameter zona hambat (mm)		
	Klorofil PT S (A)	Klorofil PT K (B)	Klorofil PT B (C)
1	11,02 (ZI)	12,01 (ZI)	7,35 (ZI)
2	10,15 (ZI)	10,00 (ZI)	8,15 (ZI)
3	9,10 (ZI)	9,35 (ZI)	8,35 (ZI)
4	11,04 (ZI)	-	-
5	12,00 (ZI)	10,15 (ZI)	8,00 (ZI)
6	11,02 (ZI)	11,15 (ZI)	-
7	10,35 (ZI)	-	-
8	-	-	-
Rata-rata 1	9,34 (ZI)	6,58 (ZI)	3,98 (ZI)
Rata-rata 2	10,67 (ZI)	10,53 (ZI)	7,96 (ZI)

Keterangan :

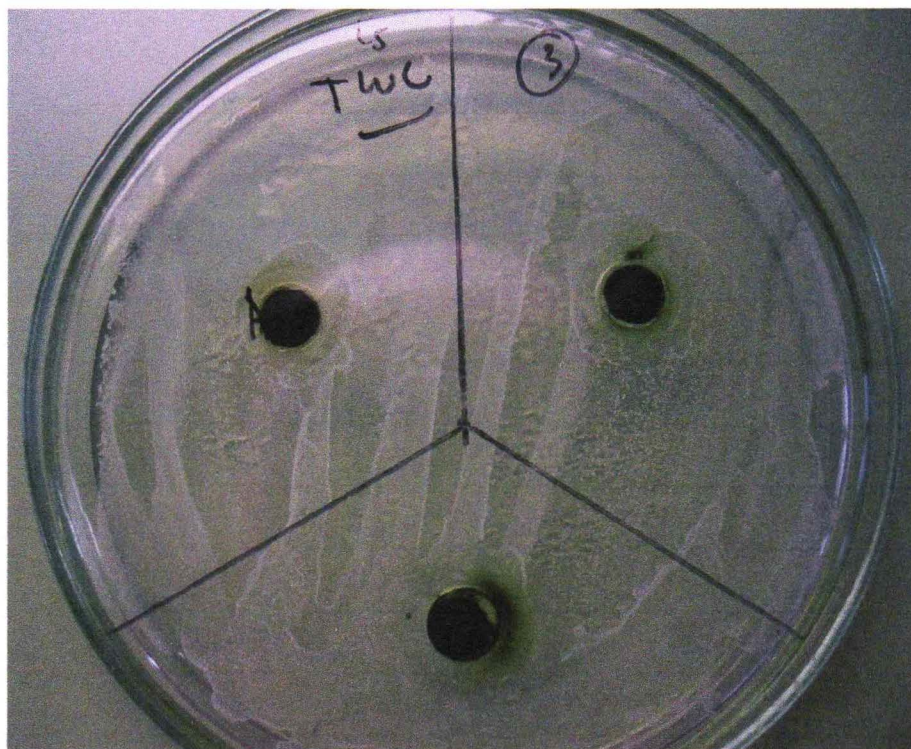
- : Tidak ada zona hambat yang jelas dan spesifik
- ZI : Zona Iradikal untuk antibakteri yang bersifat bakteriostatik
- Rata-rata 1 : yaitu hasil penjumlahan seluruh zona hambat pada masing-masing sampel dibagi seluruh plate agar (8)
- Rata-rata 2 : yaitu hasil penjumlahan seluruh zona hambat pada masing-masing sampel dibagi jumlah plate agar yang menunjukkan zona hambat yang jelas

Pada tabel 5.1 dapat dilihat bahwa klorofil PT S dari 8 replikasi penelitian, ada 7 plate yang zona hambatnya terlihat dengan jelas dan dapat dihitung diameternya. Pada klorofil PT K, dari 8 replikasi penelitian, ada 5 plate yang zona hambatnya terlihat dengan jelas dan dapat dihitung diameternya, sedangkan pada klorofil PT B dari 8 replikasi penelitian, hanya 4 plate yang zona hambatnya terlihat dengan jelas dan dapat dihitung zona hambatnya.

5.2 Analisis hasil penelitian

Pada tabel 5.1 dapat dilihat bahwa semua zona hambat yang terbentuk adalah zona hambat iradikal yaitu pada zona ini terlihat pertumbuhan yang kurang subur dibanding dengan daerah di luar pengaruh *liquid* klorofil daun Alfalfa. Zona

iradikal ini juga menunjukkan bahwa *liquid* klorofil daun Alfalfa mempunyai sifat sebagai antibakteri yang bakteriostatik terhadap *S. sanguinis* yaitu antibakteri yang hanya bersifat menghambat pertumbuhan *S. sanguinis* tetapi tidak membunuh bakteri tersebut. Berdasarkan kriteria Davis dan Stout (1971) kekuatan daya antibakteri dibagi menjadi, daerah hambatan 20 mm atau lebih termasuk sangat kuat, daerah hambatan 10-20 mm kategori kuat, daerah hambatan 5-10 mm kategori sedang, dan daerah hambatan 5 mm atau kurang termasuk kategori lemah. Menurut kriteria ini, maka daya hambat *liquid* klorofil Alfalfa termasuk kategori antibakteri golongan sedang karena rata-rata zona hambatannya berkisar antara 5-10 mm.



Gambar 5.3 Hasil uji antibakteri *liquid* klorofil daun Alfalfa berupa bentukan zona hambat disekitar sumuran tiga merk *liquid* klorofil yang berbeda.

Berdasarkan kriteria Davis dan Stout (1971) dapat disimpulkan bahwa suatu antibakteri disebut memiliki kemampuan daya hambat yang baik apabila zona hambatnya ≥ 5 mm. Dari data zona hambat pada tabel 5.1 dapat dilakukan analisa menggunakan uji *one-sample T Test* untuk mengetahui apakah *liquid* klorofil daun Alfalfa mempunyai kemampuan daya hambat yang baik terhadap pertumbuhan bakteri *S. sanguinis*.

Hasil uji *one-sample T Test* pada penelitian ini didapatkan *P-value* (untuk 2-tailed) sebesar 0.00 yang lebih kecil dari $\alpha = 0.05$ yang menunjukkan bahwa H_0 ditolak atau hipotesa penelitian diterima, yaitu bahwa *liquid* klorofil daun Alfalfa mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan *S. sanguinis*.

Dari data pada tabel 5.1 dan grafik pada gambar 5. 4 juga dapat dilihat bahwa kemampuan daya hambat masing-masing merk *liquid* klorofil berbeda-beda. Data ini dianalisa menggunakan uji *one way ANOVA* untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan daya hambat yang signifikan pada masing-masing merk *liquid* klorofil dan juga dilakukan uji normalitas data dengan uji *Kolmogorov-Smirnov*.

Tabel 5.2 Uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov*

Zona Hambat <i>Liquid</i> klorofil	N	Standar Deviasi	<i>Kolmogorov-Smirnov</i>	Signifikansi
PT S (A)	7	0.91182	0.586	0.882
PT K (B)	5	1.04791	0.542	0.931
PT B (C)	4	0.43277	0.569	0.902

Zona hambat PT S memiliki standar deviasi sebesar 0.91182, PT K memiliki standar deviasi 1.04791 sedangkan PT B mempunyai standar deviasi sebesar 0.43277. Zona hambat *liquid* klorofil PT S memiliki signifikansi (*P-value*)

sebesar 0.882, zona hambat PT K memiliki signifikansi (*P-value*) sebesar 0.931, dan zona hambat PT B memiliki signifikansi (*P-value*) sebesar 0.902. Berdasarkan data tersebut didapatkan bahwa ketiga *P-value* lebih besar dari $\alpha = 0.05$ sehingga data tersebut mempunyai distribusi normal.

Analisa data selanjutnya menggunakan uji beda one way ANOVA yaitu untuk mengetahui ada-tidaknya perbedaan signifikansi kemampuan daya hambat antara masing-masing merk *liquid* klorofil terhadap pertumbuhan *S. sanguinis*. Berdasarkan hasil uji *levene* menunjukkan nilai F test sebesar 2.924 dan *P-value* $0.076 > 0.05$ (α) artinya tidak ada perbedaan variance zona hambat berdasarkan merk *liquid* klorofil atau ketiga sampel merk *liquid* klorofil berasal dari populasi yang memiliki ragam yang sama.

Hasil analisa uji ANOVA menunjukkan nilai F test sebesar 5.663 dan *P-value* $0.011 < 0.05$ (α) artinya ketiga merk *liquid* klorofil daun Alfalfa yaitu *liquid* klorofil PT S, PT K dan PT B mempunyai kemampuan daya hambat dengan kemampuan yang berbeda terhadap pertumbuhan *S. sanguinis*.

BAB 6
PEMBAHASAN

BAB 6

PEMBAHASAN

Recurrent aphthous stomatitis (RAS) merupakan salah satu penyakit di dalam rongga mulut yang paling sering ditemukan, yaitu berupa ulser kambuhan yang timbul secara periodik yang penyebabnya hingga sekarang belum diketahui secara pasti. Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mengetahui etiologi dan faktor pencetus RAS, dan salah satunya diperkirakan karena adanya peran dari bakteri *Streptococcus sanguinis* di dalam rongga mulut. Hal ini ditandai dengan ditemukannya antibodi yang spesifik terhadap bakteri ini pada pemeriksaan serologis pasien-pasien RAS (Jurge, 2006).

Berdasarkan data penelitian pada tabel 5.1, diperoleh hasil bahwa *liquid* klorofil daun Alfalfa dari masing-masing merk yaitu PT S, PT K dan PT B mempunyai zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *S. sanguinis*. Kemampuan daya hambat *liquid* klorofil daun Alfalfa termasuk dalam kategori sedang berdasarkan kriteria Davis dan Stout (1971) karena rata-rata zona hambatnya berkisar antara 5-10 mm. Selain itu, zona hambat yang terbentuk merupakan zona hambat iradikal yaitu zona hambat yang menunjukkan bahwa *liquid* klorofil daun Alfalfa mempunyai sifat sebagai antibakteri yang bakteriostatik terhadap *S. sanguinis* yaitu antibakteri yang hanya bersifat menghambat pertumbuhan *S. sanguinis* saja tetapi tidak membunuh bakteri tersebut (bakterisid).

Hal ini dimungkinkan karena mekanisme kerja klorofil yang mengandung cincin porfirin yang dapat menginduksi terganggunya sintesis membran dan dinding dari sel bakteri pada tingkat mesosomal dan juga memiliki kemampuan

yang kuat dalam melakukan oksidasi dan reduksi untuk menghasilkan dan mengikat oksigen sehingga kadar oksigen dilingkungan sekitarnya dapat meningkat. Berdasarkan mekanisme tersebut artinya mekanisme kerja penghambatan bakteri oleh klorofil bersifat tidak langsung yaitu cincin porfirin klorofil tidak bersifat inhibitor kuat terhadap sintesa membran dan dinding sel bakteri dan tidak bersifat langsung merusak membran atau dinding sel bakteri melainkan hanya mampu menginduksi terganggunya sintesis pada tingkatan mesosomal bakteri. Mesosom adalah organel pada bakteri jenis prokariotik berupa lipatan ke dalam suatu membran sel yang berperan dalam proses sintesa membran atau dinding sel bakteri. Oleh karena itu, meskipun konsentrasi liquid klorofil Alfalfa dinaikkan sekalipun liquid klorofil tersebut tidak dapat bersifat membunuh atau bakterisid karena hambatan pada membran atau dinding sel merupakan hambatan yang bersifat reversibel saja dibandingkan dengan sifat antibakteri yang mampu merusak struktur DNA bakteri sehingga bersifat ireversibel karena merusak seluruh sistem regulasi tubuh bakteri (Stojiljkovic, 2001).

Cincin porfirin klorofil juga hanya mampu meningkatkan kadar oksigen yang berarti merubah lingkungan hidup bakteri-bakteri yang bersifat anaerob sehingga pertumbuhan dan perkembangan bakteri-bakteri tersebut dapat terganggu dan mati (Banfi et al, 2006). *S. sanguinis* merupakan jenis bakteri anaerob fakultatif yaitu jenis bakteri yang kondisi pertumbuhannya dapat optimum pada keadaan anaerob, meskipun begitu jenis bakteri ini juga tetap dapat bertahan hidup dalam keadaan aerob atau keadaan kaya oksigen. Oleh karena itu liquid klorofil daun Alfalfa bersifat hanya dapat menghambat pertumbuhan optimal bakteri tersebut pada kondisi anaerob. Berdasarkan mekanisme kerja ini

sifat antibakteri liquid klorofil Alfalfa bersifat bakteriostatik terhadap *S. sanguinis*.

Kemampuan bakteriostatik ini sebenarnya memberikan nilai positif pada penggunaan *liquid* klorofil daun Alfalfa secara rutin, karena dengan begitu tidak semua *S. sanguinis* harus dimatikan pertumbuhannya, karena bakteri tersebut merupakan salah satu flora normal di dalam rongga mulut dan merupakan salah satu kompetitor bagi *S. mutans* (Kreth et al, 2005).

Pada tabel 5.1 juga terlihat bahwa pada beberapa percobaan *liquid* klorofil daun Alfalfa tidak terbentuk zona hambat, misalnya pada replikasi ke- 4, 6, 7 dan 8 serta tiap merk *liquid* klorofil menunjukkan diameter rata-rata zona hambat yang berbeda-beda. Hal ini dimungkinkan karena perbedaan kecepatan difusi senyawa *liquid* klorofil daun Alfalfa pada media agar serta perbedaan jenis, konsentrasi, cara pengolahan *liquid* klorofil daun Alfalfa pada masing-masing merk yang juga memberikan pengaruh terhadap diameter zona hambat pada lama waktu tertentu.

Penulis berpendapat bahwa *liquid* klorofil daun Alfalfa dapat digunakan sebagai salah satu alternatif pengobatan preventif bagi penderita RAS karena kemampuannya untuk menghambat pertumbuhan *S. sanguinis*.

BAB 7
SIMPULAN DAN SARAN

BAB 7

SIMPULAN DAN SARAN

1.1 Simpulan

Liquid klorofil daun Alfalfa dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus sanguinis* dengan kekuatan sedang dan bersifat bakteriostatik.

1.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang kemampuan cincin porfirin dan bahan-bahan aktif lainnya yang terkandung dalam *Liquid* klorofil daun Alfalfa yang dapat berperan dalam meningkatkan kesehatan terutama dibidang kedokteran gigi.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pemakaian *Liquid* klorofil daun Alfalfa terhadap penyembuhan ulser pada penderita RAS.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Banfi S et al. 2006. *Antibacterial activity of tetraaryl-porphyrin photosensitizers: An in vitro study on Gram negative and Gram positive bacteria*. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 85.
- Barnes J, Anderson LA, Phillipson JD. 2002. *A guide for health-care professionals*. In *Herbal Medicines* Edited by: Barnes J, Anderson LA, Phillipson JD. London: Pharmaceutical Press.
- Bisby FA, Buckingham T & Harborne JB. 1994. *Phytochemical Dictionary of the Leguminosae*, vols 1 and 2. Chapman & Hall, London, UK.
- Best ben. 2006. *Phytochemicals as Nutraceuticals*. Accessed on 9 October 2009. Available at <http://www.benbest.com/nutrceut/phytochemicals.html>
- Bisla S. 2000. *Dental Caries. A student Project*. Accessed on 9 October 2009. Available at <http://www.Dental-Caries.htm>
- Breinholt V et al. 1995. *Dietary chlorophyllin is a potent inhibitor of aflatoxin B1 hepatocarcinogenesis in rainbow trout*. *Cancer Research* ; 55(1)
- Breinholt V, et al. 1995. *Mechanisms of chlorophyllin anticarcinogenesis against aflatoxin B1: Complex formation with the carcinogen*. *Chem Res Toxicol. PubMed* 8(4).
- Brinker F. 2001. *Herb contraindications and drug interactions*. In *Eclectic Medical Publications* Edited by: Stodart N. Oregon: Sandy.
- Brooks, G. F., J. S. Butel dan S. A. Morse. 2005. *Medical Microbiology*. Mc Graw Hill, New York.
- Budiyanto, A. W. and Limantara, L. 2008. *Klorofil sebagai Suplemen Alternatif bagi Penderita Talasemia*. *Bios*. 2(2)
- Bullen, Ken. 2002. *Lucerne Management Handbook, Ed 4th*. Brisbane : Department of Primary Industries.
- Candra, Rio et al. 2008. *Potensi Fotooksidoproteksi kurkumin terhadap klorofil a dan b*. *BSS* 300 (2).
- Chevallier, Andrew. 1996. *Encyclopedia of Medicinal Plants*. London: Dorling Kindersley.

- Clements, R.J. 1992. *Medicago sativa L.* In: 't Mannetje, L. and Jones, R.M. (eds) Plant Resources of South-East Asia No. 4. Forages (Pudoc Scientific Publishers, Wageningen, the Netherlands).
- Colodny LR, Montgomery A, and Houston M. 2001. *The role of esterified alfalfa saponins in reducing cholesterol.* J Am Nutraceuti Asc 3.
- Crispian scully et al. 2003. *The Diagnosis and management of recurrent aphthous stomatitis a consensus approach.* Journal American Dental Association, February Vol 134.
- Cushnie T. P. et al. 2005. *Antimicrobial activity of flavonoids,* Int J Antimicrob Agents, 26(5).
- Dakora Felix D et al. 1993. *Alfalfa (Medicago sativa L.) Root Exudates Contain Isoflavonoids in the Presence of Rhizobium meliloti.* Plant Physiol. 101.
- Dashwood R, Guo D. 1995. *Protective properties of chlorophylls against the covalent binding of heterocyclic amines to DNA in vitro and in vivo.* Paper presented at the Princess Takamatsu Symposium. 23.
- Dashwood RH. 1997. *The importance of using pure chemicals in (anti) mutagenicity studies: chlorophyllin as a case in point.* Mutat Res, PubMed 381(2).
- David W. 2005. *Chlorophyllin- A Heliaer? A Hypothesis for its activity.* www.woundsresearch.com. accessed on 18 Desember 2009
- Davis, W.W. dan T.R. Stout. 1971. Disc Plate Methods of Microbiological Antibiotic Assay. *Microbiology* 22.
- Dennis W. 2004. *Gimme the Green: Cereal Grasses & Micro-Algae.* Accessed on 20 Desember 2009. Available at www.Willmountain.com .
- Dingley KH, et al. 2003. *Effect of dietary constituents with chemopreventive potential on adduct formation of a low dose of the heterocyclic amines PhIP and IQ and phase II hepatic enzymes.* Nutr Cancer.;46(2).
- Egner PA, et al. 2000. *Identification and characterization of chlorin e(4) ethyl ester in sera of individuals participating in the chlorophyllin chemoprevention trial.* Chem Res Toxicol.; 13(9).
- Egner PA, Munoz A, Kensler TW. 2003. *Chemoprevention with chlorophyllin in individuals exposed to dietary aflatoxin.* Mutat Res.
- Feder HM Jr. 2000. *Periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, adenitis: a clinical review of a new syndrome.* Curr Opin Pediatr 12.

- Forbes BA, Sahm Df, and Weissfeld AS. 2002. *Laboratory Methods For Detection of Antibacterial Resistance*. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. 11th Ed. St. Louis, Mosby Inc.
- Foster S, Duke JA. 1990. *Eastern and Central North America*. In *A Field Guide to Medicinal Plants and Herbs* Edited by: Peterson RT. New York: Houghton Mifflin.
- Greenberg Martin S. and Pinto A. 2003. *Etiology and Management of Recurrent Aphthous Stomatitis*. Current Science Inc. Philadelphia.
- Gregory R. 2007. *Research Studies - Indiana University Microbiological Testing*. www.lasenti.com. Accessed on 18 Desember 2009
- Haipeng T, Yu Huashan Wang Aiqun. 1999. *Synthesis of chromium sodium chlorophyllin and its preliminary clinical applications*. School of Pharmacy, West China University of Medical Sciences Chengdu 610041; West China J Pharm Sci.(02).
- Higdon J. 2009. *Chlorophyll and Chlorophyllin*. Linus Pauling Institute on Oregon State University. accessed on 18 Desember 2009
<http://lpi.oregonstate.edu/infocenter/phytochemicals/chlorophylls/>
- Hermawan, A., Hana, W., dan Wiwiek, T. 2007. *Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (Piper betle L.) Terhadap Pertumbuhan Staphylococcus aureus dan Escherichia coli dengan Metode Difusi Disk*. Universitas Airlangga
- Hughes J, Latner L. 1936. *Chlorophyll and hemoglobin regeneration after hemorrhage*. J of Phy. 86.
- Hu J. et al., 2006. *The effects of natural flavonoids on lipoxygenase-mediated oxidation of compounds with a benzene ring structure-a new possible mechanism of flavonoid anti-chemical carcinogenesis and other toxicities*, Int J Toxicol, 25(4).
- Jawetz. E., J. Melnick, L. Adelberg, E.A. 2005. *Microbiologi Untuk Profesi Kesehatan*. Terjemahan Huriati dan Hartanto. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Jurge S et al. 2006. *Mucosal disease series number VI Recurrent Aphthous Stomatitis*. Oral Disease, 12.
- Kamat JP, Bloor KK, Devasagayam TP. 2000. *Chlorophyllin as an effective antioxidant against membrane damage in vitro and ex vivo*. Biochim Biophys Acta.;1487.
- Kilian M. 2001. *Recommended conservation of the names Streptococcus sanguis, Streptococcus rattus, Streptococcus cricetus, and seven other names included*

in the Approved Lists of Bacterial Names. Request for an Opinion. Inter J of Sys and Evol Microbio, 51.

- Koneman, Elmer W. 2005. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*.
- Kreth J. et al. 2005. *Competition and Coexistence between Streptococcus mutans and Streptococcus sanguinis in the Dental Biofilm*. *Journal Of Bacteriology*, Nov.
- Kriswandini, Indah L. 2004. *Penentuan adhesin dan reseptor Streptococcus mutans yang berperan dalam patogenesis karies gigi*. Disertasi. Universitas Airlangga.
- Kumar SS, et al. 2001. *Scavenging of reactive oxygen species by chlorophyllin: an ESR study*. *Free Radic Res.*;35(5).
- Kumar SS, Shankar B, Sainis KB. 2004. *Effect of chlorophyllin against oxidative stress in splenic lymphocytes in vitro and in vivo*. *Biochim Biophys Acta*. 1672(2).
- Kusmayati dan Agustini, N. W. R. 2007. *Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga (Porphyridium cruentum)*. *Biodiversitas*. 8(1).
- Lehner T, et al. 1991. *Association between the 65-kilodalton heat shock protein, Streptococcus sanguis, and the corresponding antibodies in Behcet's syndrome*. *Infect Immun* 59.
- Limantara, L. et al. 2006. *Photostability of Bacteriochlorophyll a and Derivatives: Potential Sensitizers for Photodynamic Tumor Therapy*. *Photochemistry and Photobiologi*. 82.
- Madiono, Bambang, dkk. 1995. *Dasar-dasar Metodologi Penelitian Klinis*. Binarupa Aksara, Jakarta.
- Marsh PD and Martin MV. 1999. *Oral microbiology (4th edition) Butterworth - Heineman, London*.
- Matthews CK, van Holde KE. 1996. *Biochemistry. 2nd ed*. Menlo Park: The Benjamin/Cummings Publishing Company.
- Najjar, T. 2008. *Bacterial mouth infections*. Accessed on May 2008. Available at www.emedicine.medscape.com
- Okai Y et al. 1996. *Suppressive effects of chlorophyllin on mutagen-induced umu C gene expression in Salmonella typhimurium (TA 1535/pSK 1002) and*

tumor promoter dependent ornithine decarboxylase induction in BALB/c 3T3 fibroblast cells. Mutation Research. August 370(1).

- Oleszek W. 1996. *Alfalfa saponins: Structure, biological activity and chemotaxonomy. Saponins Used in Food and Agriculture* (ed. by GR Waller & K Yamasaki). Plenum Publishing, New York, NY, USA.
- Oleszek W. 2000. *Alfalfa saponins: chemistry and application. Phytochemicals as Bioactive Agents* (ed. by WR Bidlack, ST Omaye, MS Meskin & DK Topham), Technomic Publishing Co., Basel, Switzerland.
- Page W. Caufield. 2000. *Natural History of Streptococcus sanguinis in the Oral Cavity of Infants: Evidence for a Discrete Window of Infectivity.* Am Soc for Micro, Vol 68, No.7.
- Park KK, et al. 2003. *Inhibitory effects of chlorophyllin, hemin and tetrakis(4-benzoic acid)porphyrin on oxidative DNA damage and mouse skin inflammation induced by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate as a possible anti-tumor promoting mechanism.* Mutat Res. PubMed, 542(1-2)..
- Pelczar, M J & E. C. S. Chan. 2005. *Dasar-dasar Mikrobiologi I-II.* UI-press Jakarta
- Pepeliniak S. et al., 2005. *Antimicrobial activity of flavonoids from Pelargonium radula (Cav.) L'Hérit., Acta Pharm, 55(4).*
- Prikuls VF 2000. *Photophoresis of oxolin ointment in combined therapy of patients with chronic relapsing aphthous stomatitis.* Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult 6.
- Porter SR, and Scully C. 2005. *Aphthous ulcers: (recurrent)* Clin Evid 13.
- Robert K. Murray. 1995. *Biokimia Harper.* Ed.22. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Royer, F., and R. Dickinson. 1999. *Weeds of the Northern U.S. and Canada.* The University of Alberta press.
- Rudney, J.D. and C.J. Larson. 1993. *Species identification of oral viridians Streptococci by Restriction Fragment Polymorphism of rRNA genes.* J. Clin. Microbial. 31.
- Sbordone, L., and C. Bortolaia. 2003. *Oral microbial biofilms and plaquerelated diseases: microbial communities and their role in the shift from oral health to disease.* Clin. Oral Investig. 7.
- Scheer, H. (2003), *The pigments,* In *Light-Harvesting Antenas in Photosynthesis.* edited by B. Green and W. Parson. Kluwer, Dordrecht, The Netherlands.

- Slot J. 1991. *Contemporary Oral Microbiology and Immunology*. Mosby Year Book. London.
- Spikes, J.D. & J.C. Bommer (1991), *Chlorophyll and Related Pigment as Photosensitizers in Biology and Medicine*. In *Chlorophylls* (Edited by H. Scheer). Boca Raton, FL: CRC Press.
- Speer, Brian R. (1997). "*Photosynthetic Pigments*" in *UCMP Glossary (online)*. University of California, Berkeley Museum of Paleontology. Verified availability March 12, 2007.
- Stojiljkovic, Igor et al. 2001. *Antimicrobial properties of porphyrins*. Department of Microbiology and Immunology, Emory School of Medicine. Vol. 10, No. 2.
- Sudakin DL. 2003. *Dietary aflatoxin exposure and chemoprevention of cancer: a clinical review*. J Toxicol Clin Toxicol.;41(2).
- Syamsuri, Istamar. 2004. *Biologi 3A untuk SMA kelas XII semester 1*. Jakarta : Erlangga.
- Tachino N, Guo et al. 1994. *Mechanisms of the in vitro antimutagenic action of chlorophyllin against benzo[a]pyrene: studies of enzyme inhibition, molecular complex formation and degradation of the ultimate carcinogen*. Mutat Res PubMed; 308(2).
- Tanzer JM, Jill Livingston, Angela M.T. 2001. *The Microbiology of Primary Dental Caries in Humans*. Journal of Dental Education. October; 65 (10).
- Truper, H., and L. D. Clari. 1997. *Taxonomic note: necessary corrections of specific epithets formed as substantives (nouns) "in apposition."* Int. J. Syst. Bacteriol. 47.
- Yamaguchi M et al. 2006. *Role of Streptococcus sanguinis sortase A in bacterial colonization*. Science Direct Microbe and infection 8.
- Yassin, A.E.B. 1996. *Optimization of the biological availability of certain medicament.*: Ph.D. dissertation. Al-Azhar University.
- Yun CH, Jeong HG, Jhoun JW, Guengerich FP. 1995. *Non-specific inhibition of cytochrome P450 activities by chlorophyllin in human and rat liver microsomes*. Carcinogenesis.16(6).
- Widya A.N. 2008. *Streptococcus mutans Si Plak Ada Dimana-mana*. Jurnal Fakultas Farmasi USD Yogyakarta.

Woodward RB, et al. (1990). "*The total synthesis of chlorophyll a*". Tetrahedron 46 (22).

<http://www.buddycom.com> Accessed on 20 Desember 2009

<http://www.delange.org> Accessed on 20 Desember 2009

<http://www.jpkc.njau.edu.cn.com> Accessed on 20 Desember 2009

<http://liquidchlorophyll-synergy.blogspot.com>. Accessed on 20 Desember 2009

<http://www.micro.magnet.fsu.edu.com> Accessed on 20 Desember 2009

<http://www.nice2ad.com> Accessed on 20 Desember 2009

<http://www.nutritiondata.com> Accessed on 20 Desember 2009

<http://www.tropicalforages.info.com> Accessed on 20 Desember 2009

<http://www.webmd.com> Accessed on 20 Desember 2009

LAMPIRAN

LAMPIRAN**Lampiran 1 : Halaman Laik Etik**

**KOMISI KELAIKAN ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KKEPK)
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS AIRLANGGA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
("ETHICAL CLEARANCE")**

Nomor : 134/KKEPK.FKG/XII/2010

Komisi Kelaikan Etik Penelitian Kesehatan (KKEPK) Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, telah mengkaji secara seksama rancangan penelitian yang diusulkan, maka dengan ini menyatakan bahwa penelitian berjudul :

**" DAYA HAMBAT LIQUID CHLOROPHYLL DAUN ALFALFA (Medicago Sativa)
TERHADAP PERTUMBUHAN *Streptococcus Sanguinis* "**

Peneliti Utama : **Lisa Prihastari.**
Unit / Lembaga/ Tempat Penelitian : - ITD (Institute Tropical Disease) Unair.

DINYATAKAN LAIK ETIK

Surabaya, 31 Desember 2010

Ketua,
Prof. Dr. JISTIATI, drg, SU



Lampiran 2 : Hasil Uji statistik**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
hambat PT S	7	10.6686	.91182	9.10	12.00
hambat PT K	5	10.5320	1.04791	9.35	12.01
hambat PT B	4	7.9625	.43277	7.35	8.35

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		hambat PT S	hambat PT K	hambat PT B
N		7	5	4
Normal Parameters ^a	Mean	10.6686	10.5320	7.9625
	Std. Deviation	.91182	1.04791	.43277
Most Extreme Differences	Absolute	.221	.242	.285
	Positive	.199	.242	.185
	Negative	-.221	-.130	-.285
Kolmogorov-Smirnov Z		.586	.542	.569
Asymp. Sig. (2-tailed)		.882	.931	.902
a. Test distribution is Normal.				

Test of Homogeneity of Variances

zona hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.924	2	21	.076

ANOVA

zona hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	239.478	2	119.739	5.663	.011
Within Groups	443.997	21	21.143		
Total	683.474	23			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: zona hambat

	(I) jenis klorofil	(J) jenis klorofil	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	klorofil S	klorofil K	2.88375	2.29906	.436	-2.9112	8.6787
		klorofil B	7.66000*	2.29906	.009	1.8651	13.4549
	klorofil K	klorofil S	-2.88375	2.29906	.436	-8.6787	2.9112
		klorofil B	4.77625	2.29906	.119	-1.0187	10.5712
	klorofil B	klorofil S	-7.66000*	2.29906	.009	-13.4549	-1.8651
		klorofil K	-4.77625	2.29906	.119	-10.5712	1.0187
Scheffe	klorofil S	klorofil K	2.88375	2.29906	.468	-3.1701	8.9376
		klorofil B	7.66000*	2.29906	.012	1.6062	13.7138
	klorofil K	klorofil S	-2.88375	2.29906	.468	-8.9376	3.1701
		klorofil B	4.77625	2.29906	.140	-1.2776	10.8301
	klorofil B	klorofil S	-7.66000*	2.29906	.012	-13.7138	-1.6062
		klorofil K	-4.77625	2.29906	.140	-10.8301	1.2776
Bonferroni	klorofil S	klorofil K	2.88375	2.29906	.671	-3.0969	8.8644
		klorofil B	7.66000*	2.29906	.009	1.6793	13.6407
	klorofil K	klorofil S	-2.88375	2.29906	.671	-8.8644	3.0969
		klorofil B	4.77625	2.29906	.151	-1.2044	10.7569
	klorofil B	klorofil S	-7.66000*	2.29906	.009	-13.6407	-1.6793
		klorofil K	-4.77625	2.29906	.151	-10.7569	1.2044

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

zona hambat

jenis klorofil	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	
Tukey HSD ^a	klorofil B	8	2.0375	
	klorofil K	8	6.8138	6.8138
	klorofil S	8		9.6975
	Sig.		.119	.436
Scheffe ^a	klorofil B	8	2.0375	
	klorofil K	8	6.8138	6.8138
	klorofil S	8		9.6975
	Sig.		.140	.468

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8,000.

One-Sample Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
hambat	24	6.6329	4.92994	1.00632

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
zona hambat	16	9.9494	1.43878	.35970

One-Sample Test

	Test Value = 5					
	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
					Lower	Upper
zona hambat	13.760	15	.000	4.94938	4.1827	5.7160

Lampiran 3 : Informed consent*INFORMED CONSENT*

PENJELASAN DAN INFORMASI PENELITIAN

Penelitian ini berjudul :

“DAYA HAMBAT LIQUID CHLOROPHYLL DAUN ALFALFA (*Medicago sativa*) TERHADAP PERTUMBUHAN *Streptococcus sanguinis*”

Recurrent aphthous stomatitis (RAS) atau biasa disebut dengan sariawan yang mudah kambuh secara periodik yang ditandai dengan adanya ulserasi yang terbatas jelas pada mukosa rongga mulut, serta bukan merupakan manifestasi suatu infeksi atau penyakit yang lain. RAS merupakan salah satu kondisi inflamasi (keradangan) pada mukosa rongga mulut yang paling sering dijumpai, nyeri, dan sangat mengganggu pada saat makan, menelan dan berbicara.

RAS adalah salah satu contoh penyakit di dalam rongga mulut yang hingga kini belum diketahui etiologinya dengan pasti dan belum ditemukan metode preventif dan terapi yang jelas. Berbagai penelitian telah menyebutkan bahwa salah satu etiologi dari RAS selain karena faktor-faktor predisposisi seperti gangguan imunologik, hormonal, dan defisiensi nutrisi dapat juga disebabkan oleh peran dari bakteri *Streptococcus sanguinis*.

Klorofil adalah bahan alam yang mempunyai kemampuan sebagai anti bakteri sehingga mampu menghilangkan bau mulut, mencegah dan menyembuhkan sariawan, dan mencegah karies. Salah satu sumber klorofil terbaik dari alam berasal dari daun Alfalfa (*Medicago sativa*), sehingga diharapkan klorofil daun alfalfa dapat mencegah atau mengurangi frekuensi munculnya RAS dan membantu proses penyembuhannya.

Tujuan Penelitian ini adalah untuk membuktikan efek anti bakteri *liquid* klorofil yang bersumber dari daun alfalfa (*Medicago sativa*) terhadap pertumbuhan bakteri *S. sanguinis* di rongga mulut.

Manfaat dari penelitian ini adalah Manfaat dari penelitian ini adalah dapat memberikan informasi mengenai pengaruh *liquid* klorofil terhadap bakteri *S. sanguinis* di rongga mulut sehingga diharapkan dapat mencegah keadaan patologis yang timbul dan sebagai bahan masukan untuk penelitian lain yang berhubungan dengan penggunaan *liquid* klorofil di bidang kesehatan gigi dan mulut.

Pada penelitian ini, peneliti akan melakukan prosedur penelitian sebagai berikut :

1. Pasien diminta untuk berkumur terlebih dahulu

2. Setelah itu sariawan diusap dengan kapas lidi steril oleh peneliti, seorang mahasiswa S1 FKG Unair. Tindakan ini dilakukan di ITD (*Institute Tropical Disease*) kampus C Unair dan biasanya terasa sedikit perih.
3. Setelah itu peneliti akan mengulas sariawan dengan *betadine solution*, dikeringkan dan kemudian diberi pasta yang mengandung ekstrak *sanguine* dan *polidocanol* dengan *cotton bud* steril
4. Semua biaya akan ditanggung oleh peneliti

Demikian penjelasan ini, atas perhatiann dan kerjasamanya kami mengucapkan terima kasih. Jika anda setuju, mohon menandatangani pernyataan persetujuan berikut. Apabila ada perihal yang kurang jelas dan perlu ditanyakan mohon menghubungi peneliti : Lisa Prihastari (020610010)

Surabaya,.....2010

Subyek Penelitian

Hormat kami(peneliti)

(.....)

(Lisa Prihastari)

Saksi

(.....)

PERNYATAAN PERSETUJUAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama :
Umur :
Jenis Kelamin :
Alamat :
Pekerjaan :

Dengan ini saya menyatakan sesungguhnya telah memberikan PERSETUJUAN secara sukarela untuk berpartisipasi sebagai subjek dalam penelitian "DAYA HAMBAT LIQUID CHLOROPHYLL DAUN ALFALFA (Medicago sativa) TERHADAP PERTUMBUHAN Streptococcus sanguinis". Dan saya tahu bahwa saya berhak untuk mengundurkan diri dari penelitian setiap waktu tanpa mempengaruhi perawatan medik saya selanjutnya.

Prosedur yang akan dilakukan telah dijelaskan secara tertulis dan lisan oleh peneliti. Prosedur tidak menimbulkan resiko dan saya telah mengerti seluruhnya.

Surabaya,2010

Peneliti

Yang Memberikan persetujuan

(Lisa Prihastari)

(.....)

Saksi

(.....)

Lampiran 4 : *Informed consent*



Supplement Facts	营养成分
Serving Size: 1 Teaspoon (5 ml)	providing
每一茶匙 (5 毫升)	含有
Chlorophyllins (sodium copper chlorophyllin-derived from alfalfa)	15 mg
叶绿酸 (叶绿酸铜-萃取自紫花苜蓿)	15 毫克

每日两次。12岁以下儿童 取半茶匙 (2.5 毫升)，加入半杯 (120 毫升) 水中使用，每日两次。

开封后，请旋紧瓶片并保存于冰箱内。请存放于儿童无法取得之处。

Supplement Facts	营养成分
Serving Size: 1 Teaspoon (5 ml)	providing
每一茶匙 (5 毫升)	含有
Chlorophyllins (sodium copper chlorophyllin-derived from alfalfa)	15 mg
叶绿酸 (叶绿酸铜-萃取自紫花苜蓿)	15 毫克

Other Ingredients: Purified water, Methylparaben, Spearmint oil (*Mentha spicata and cardaria*) and Propylparaben.

其它成份：纯净水，对羟基甲氧苯醇，薄荷精油，对羟基甲氧苯醇。

Komposisi:

Tiap 15 ml mengandung Alfalfa (Medicago Sativa) 150 mg
R.O. Ozone Water.

Khasiat & Kegunaan:

Membantu mengurangi lemak darah.

**Komposisi:**

Tiap 15 ml mengandung Alfalfa (Medicago Sativa) 150 mg
R.O. Ozone Water.

Khasiat & Kegunaan:

Membantu mengurangi lemak darah.

ALFALFA

CENTRATED
DRINK



GMO FREE
ISO 9001 Certified
POM TI. 084 626 941

Imported & Distributed by:
PT. BAE ORBIT SENUSANTARA
Jakarta, Indonesia

SYNERGY ALFALFA ENHANCES
OVERALL IMMUNITY FOR
BETTER ENERGY AND
VITALITY.

500 ml