

- PLANT EXTRACTS

- ADEN: Perpustakaan Universitas Airlangga

- PIPER BETLE

**Uji Sitotoksisitas Ekstrak *Piper betle linn*  
Sebagai Alternatif Bahan Irigasi Saluran Akar  
Menggunakan Esei MTT  
(Experimental Laboratoris)**

RG 76/07

**SKRIPSI**

Qua

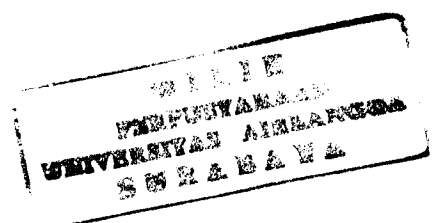
11



Oleh :

**STEPHEN ADIGUNA QUADINATA**  
**020313218**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2007**



## LEMBAR PENGESAHAN

# Uji Sitotoksisitas Ekstrak *Piper betle linn* Sebagai Alternatif Bahan Irigasi Saluran Akar Menggunakan Esei MTT (Eksperimental Laboratoris)

## SKRIPSI

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

Oleh :

**STEPHEN ADIGUNA QUADINATA**  
020313218

Mengetahui / Menyetujui,

Pembimbing II



**Pratiwi Soesilawati, drg., M.Kes**  
NIP. 132 148 534

Pembimbing I



**Christian Khoswanto, drg., M.Kes.**  
NIP. 132 229 717

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2007**

## KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa sebab hanya atas karunia yang dilimpahkanNya saya dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul *Uji Sitotoksisitas Ekstrak Piper betle linn Sebagai Alternatif Bahan Irigasi Saluran Akar Menggunakan Esei MIT*.

Pelaksanaan penelitian ini tidak lepas dari dukungan dan peran serta semua pihak. Untuk itu dengan segala ketulusan hati, saya mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, Prof. Dr. Roeslan Effendy, drg., MS., SpKG yang telah memberi ijin dalam pelaksanaan penelitian skripsi ini.
2. Markus Budi Rahardjo, drg., M.Kes selaku kepala Laboratorium Biologi Oral yang telah memberi kesempatan kepada saya untuk menempuh skripsi dalam bidang Biologi Oral.
3. Christian Khoswanto, drg, M.Kes selaku pembimbing pertama yang telah meluangkan waktunya dalam membimbing skripsi saya.
4. Pratiwi Soesilawati, drg, M.Kes selaku pembimbing kedua yang menuntun saya dalam penyelesaian skripsi saya.
5. Endhang Pudjiastuti, drh., selaku kepala Laboratorium di Pusat Veterinaria Farma yang telah menerima saya untuk melakukan penelitian.
6. Ernawati Yulia, drh., dan Indah Mukti Rahayu yang telah membantu penelitian saya sehingga dapat diperoleh hasil penelitian yang baik.

7. Drs. Herra Studiawan, MS. selaku kepala Laboratorium Ilmu Bahan Alam, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga dan bapak Iwan selaku staf Laboratorium Ilmu Bahan Alam, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga yang telah membantu penelitian saya.
8. Tim penguji proposal dan skripsi yaitu Ester Arijani, drg., MS., Rini Devijanti R., drg., M.Kes., dan Anis Irmawati, drg., M.Kes. yang telah memberikan berbagai masukan yang berarti demi kesempurnaan skripsi ini.
9. Papa dan mama beserta seluruh keluarga yang saya sayangi, adik saya, Michael, sepupu saya, Alvin yang selalu mendukung dan memberikan dorongan untuk keberhasilan pendidikan saya.
10. Orang terdekat saya, Margaretha H. yang selalu menemani saya tiap waktu tanpa mengenal lelah dan selalu memberikan dorongan semangat, dan berbagai masukan.
11. Rekan-rekan saya, Diana, Natalya, Shierly yang selalu mendukung dan berada di samping saya dalam pelaksanaan penelitian skripsi ini.

Semua pihak yang ikut membantu dalam penyusunan skripsi ini, baik secara langsung maupun tidak langsung yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu saya sampaikan terima kasih, semoga Tuhan membalas segala budi baik yang telah saudara berikan selama ini. Amin.

Surabaya, Juli 2007

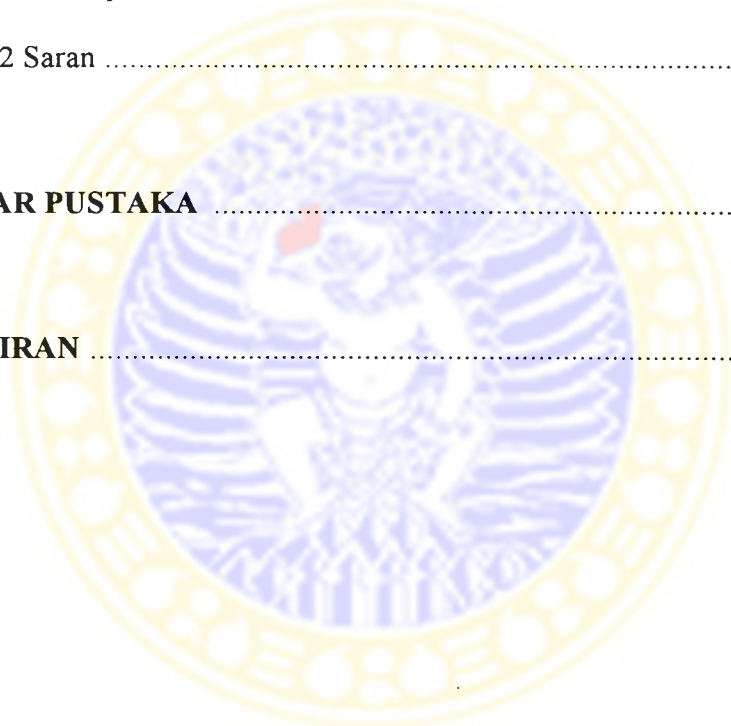
Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	ii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	iv
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	vii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	viii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	ix
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	5
1.4 Manfaat Penelitian .....	5
1.4.1 Manfaat teoritis .....	5
1.4.2 Manfaat praktis .....	5
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	6
2.1 Anatomi Gigi dan Jaringan Periapikal .....	6
2.2 Perawatan Saluran Akar .....	7
2.3 Larutan Irigasi yang Ideal .....	9
2.4 <i>Piper betle linn</i> (Sirih) .....	10
2.4.1 Tinjauan Botani .....	10
2.4.2 Ciri Fisik .....	13

2.4.3 Kandungan Kimia .....	14
2.4.4 Efek Farmakologis .....	15
2.5 Uji Sitotoksitas .....	16
2.5.1 Esei MTT .....	17
2.6 Sel .....	17
2.6.1 Nukleus.....	19
2.6.2 Sitoplasma .....	19
2.6.3 Mitokondria .....	19
2.7 Fibroblas .....	21
<b>BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL .....</b>	<b>24</b>
<b>BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN .....</b>	<b>26</b>
4.1 Jenis Penelitian .....	26
4.2 Tempat Penelitian .....	26
4.3 Obyek Sampel dan Jumlah Sampel Penelitian .....	26
4.4 Variabel Penelitian .....	27
4.5 Definisi Operasional .....	27
4.6 Alat dan Bahan .....	29
4.7 Prosedur Penelitian .....	30
4.7.1 Sterilisasi .....	30
4.7.2 Persiapan Ekstrak Daun <i>Piper betle linn</i> .....	30
4.7.3 Cara Kerja .....	32
4.8. Alur Penelitian .....	35
4.8.1 Ekstrak Daun <i>Piper betle linn</i> .....	36
4.8.2 Alur Kerja .....	37

4.9 Pengolahan Data dan Analisis Data.....	38
<b>BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA.....</b>	<b>39</b>
<b>BAB 6 PEMBAHASAN .....</b>	<b>44</b>
<b>BAB 7 PENUTUP .....</b>	<b>47</b>
7.1 Kesimpulan .....	47
7.2 Saran .....	47
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>48</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>51</b>



## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Foto-foto dokumentasi penelitian .....	51
Lampiran 2. Hasil uji perhitungan statistik .....	53





## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 5.1 Distribusi rata-rata dan standar deviasi sel hidup yang terbaca dengan spektrofotometer .....	39
Tabel 5.2 <i>ANOVA</i> .....	40
Tabel 5.3 Distribusi tingkat perbedaan persentase kematian sel fibroblas kelompok kontrol dan perlakuan.....	42



## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Gambar anatomi gigi.....	7
Gambar 2.2 Daun Sirih.....	12
Gambar 2.3 Panampang sel dibawah mikroskop cahaya beserta organel-organelnya .....	18
Gambar 2.4 Penampang Mitokondria .....	20
Gambar 2.5 Sel fibroblas .....	21
Gambar 5.1 Grafik % sel hidup setelah perlakuan.....	40
Gambar 5.2 Keadaan normal sel fibroblas sebelum dilakukan perlakuan perbesaran 100x) .....	43
Gambar 5.3 Keadaan sel fibroblas setelah diberi ekstrak <i>Piper Betle Linn</i> selama 1 menit (perbesaran 100x) .....	43

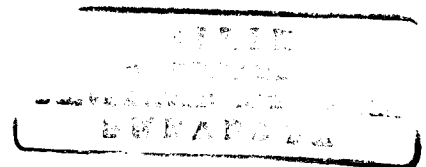
## BAB I PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

*Piper betle linn* atau lebih dikenal sebagai tanaman sirih merupakan tanaman yang banyak dijumpai di Indonesia (Haldin Pacific Semesta, 2004). Tanaman *Piper betle linn* yang termasuk ke dalam famili *piperaceae* ini memiliki banyak manfaat. Tanaman *Piper betle linn* dapat digunakan untuk mengobati penyakit seperti: sakit mata, eksim, bau mulut, kulit gatal, menghilangkan jerawat; menghilangkan perdarahan gusi, mimisan, bronkhitis, batuk, sariawan, luka, menghilangkan keputihan, sakit jantung, sifilis, alergi/biduren, diare, dan sakit gigi (Ipteknet, 2002). Banyaknya manfaat yang terdapat pada tanaman *Piper betle linn* ini, maka tanaman *Piper betle linn* dipercaya memiliki peran yang cukup berarti dalam perawatan gigi dan mulut.

Perawatan saluran akar merupakan salah satu bentuk perawatan yang ditujukan untuk mempertahankan gigi selama mungkin di dalam mulut bila gigi telah mengalami infeksi. Perawatan saluran akar meliputi beberapa tahap, diantaranya adalah: pembersihan dinding dan ruang saluran akar dari jaringan nekrotik serta bakteri, kemudian dilanjutkan dengan tahap sterilisasi saluran akar (Walton & Torabinejad, 1998).

Setelah pembersihan saluran akar secara mekanis selesai dilakukan, sangat penting melakukan irigasi untuk membersihkan saluran akar dari debris, baik debris organik maupun debris dari pembersihan gigi secara mekanis. Secara teori,



instrumen melepaskan material dan mengikis dentin dari dinding saluran akar dengan diberikannya irigasi, seluruh kotoran kemudian mengalir ke luar bersama larutan irigasi (Walton & Trobinejad, 1994). Apabila terdapat kotoran, terutama mikroba di dalam saluran akar tidak dibersihkan, dan gigi langsung mendapatkan perawatan (diisi gutap saluran akar), mikroba yang tersisa dalam saluran akar tersebut masih dapat melakukan penyebaran di dalam saluran akar, hingga terjadi infeksi yang lebih parah atau infeksi periapikal gigi pada infeksi yang sebelumnya dialami oleh gigi tersebut yaitu pulpitis *irreversible*.

Menurut penelitian Nugrohowati (2005) rebusan daun sirih 25% dapat digunakan sebagai alternatif larutan irigasi saluran akar dilihat dari sisi kebersihannya. Menurut penelitian tersebut, irigasi saluran akar dengan menggunakan rebusan daun sirih 25% dan NaOCL 2,5% tidak memiliki perbedaan yang berarti dalam hal pembersihan debris.

Menurut hasil penelitian Indah (1990), air daun sirih konsentrasi 25% mampu menghambat akumulasi plak, dan dari hasil uji *in vitro* mampu membunuh bakteri *Streptococcus sanguis*.

Menurut hasil penelitian Harsono (2006), rebusan daun sirih sebagai larutan irigasi saluran akar gigi mempunyai sifat toksik yang cukup rendah terhadap sel fibroblas pada konsentrasi rebusan daun sirih 10% dan akan menjadi sangat toksik pada rebusan daun sirih dengan konsentrasi 20%.

Larutan rebusan daun *Piper betle linn* merupakan salah satu larutan irigasi yang ingin dikembangkan sebagai larutan irigasi alternatif. Dengan kenyataan

yang dihasilkan dari penelitian sebelumnya, maka rebusan daun *Piper betle linn* diperkirakan dapat dipakai sebagai bahan alternatif larutan irigasi saluran akar gigi.

Bertolak dari hal tersebut, berdasarkan penelitian Rakhmawati (2005), didapatkan bahwa pembuatan dengan cara ekstraksi memiliki efek yang lebih baik dibandingkan menggunakan infusa, dan melalui skrining fitokimia yang dilakukan terhadap hasil ekstrak didapatkan kandungan zat-zat lebih dominan dibandingkan dengan menggunakan infusa. Maka, peneliti ingin memaksimalkan efek kandungan dari daun *Piper betle linn* yang memiliki berperan utama sebagai inti bahan larutan irigasi saluran akar gigi. Dipilihlah cara pembuatan sediaan dengan metode ekstraksi.

Uji sitotoksisitas dilakukan untuk mengetahui efek suatu bahan secara langsung terhadap jaringan dalam kultur sel (Siregar & Hadijono, 2000). Beberapa metode untuk menilai sitotoksisitas suatu bahan diantaranya adalah esei MTT, agar overlay, filter molekul, pembebasan isotop kromium, dan metode pewarnaan eksklusi dengan *tryptan blue*.

Esei MTT didasarkan pada kemampuan sel hidup untuk mereduksi garam MTT. Prinsip esei ini adalah pemecahan cincin tetrazolium MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-di-phenyl-tetrazolium bromide) oleh adanya dehidrogenase pada mitokondria yang aktif, menghasilkan produk formazan ungu yang tidak larut. Keunggulan uji ini sensitif, cepat, semi otomatis, dan tidak menggunakan radioisotop (Siregar & Hadijono, 2000). Penggunaan sel hidup

yang dimaksud adalah melalui kultur sel fibroblas yakni kultur sel BHK-21 yang berasal dari fibroblas ginjal hamster, oleh karena sel fibroblas merupakan sel penting dan komponen terbesar dari pulpa, ligamen periodontal dan gingiva (Soenartyo & Rianti, 2003).

Daun *Piper betle linn* merupakan salah satu tanaman obat yang banyak terdapat di alam Indonesia. Peran serta manfaat *Piper betle linn* sangat banyak bagi kesehatan, maka tanaman *Piper betle linn* diharapkan dapat dibudidayakan sebagai larutan irigasi saluran akar alternatif terutama bagi daerah-daerah yang terpencil. Untuk itu, perlu dilakukan penelitian secara *in vitro* untuk menemukan efek toksisitas yang optimal dari ekstrak daun *Piper betle linn* sebagai bahan alternatif larutan irigasi saluran akar.

Hal-hal tersebut di atas maka timbul permasalahan bagaimanakah sitotoksitas ekstrak daun *Piper betle linn* pada beberapa konsentrasi tertentu terhadap sel fibroblas dengan menggunakan metode esei MTT.

## 1.2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak daun *Piper betle linn* sebagai larutan irigasi saluran akar memiliki sifat sitotoksik terhadap sel fibroblas?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Untuk menentukan ekstrak daun *Piper betle linn* dengan konsentrasi 7,5%, 10%, 15%, 20%, 25% sebagai larutan irigasi saluran akar yang tidak mempunyai sifat toksik.

### 1.4 Manfaat Penelitian

#### 1.4.1 Manfaat teoritis

1. Dapat mengungkap sifat sitotoksik ekstrak daun *Piper betle linn* sebagai larutan irigasi saluran akar.

#### 1.4.2 Manfaat praktis

1. Apabila setelah diteliti ekstrak daun *Piper betle linn* memiliki sifat toksisitas yang rendah, dapat dipakai sebagai alternatif larutan irigasi saluran akar.
2. Menambah pengetahuan masyarakat mengenai peran bahan-bahan alami kekayaan alam Indonesia terutama daun *Piper betle linn* dalam bidang kedokteran gigi.

## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Anatomi Gigi dan Jaringan Periapikal**

Gigi secara anatomi terbagi menjadi dua bagian, yaitu mahkota dan akar. Serviks adalah tempat pertemuan mahkota dan akar. Pulpa gigi adalah suatu jaringan ikat yang lunak, halus, dan peka serta mudah rusak oleh iritasi yang menimpa dentin. Pulpa gigi terletak di daerah tengah gigi yang dikelilingi oleh dentin, dan secara anatomi terbagi menjadi dua, yaitu kamar pulpa dan saluran akar.

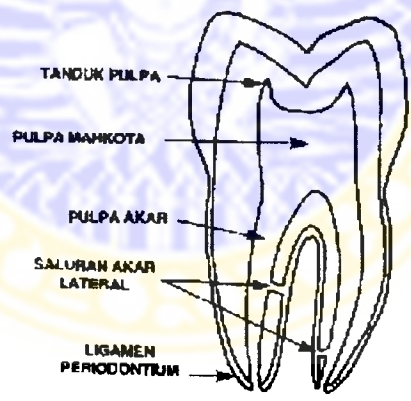
Menurut Walton dan Torabinejad (1998), anatomi saluran akar dapat bervariasi tidak hanya antara gigi yang berbeda tipe namun juga pada gigi yang sama tipenya. Pada setiap akar gigi dapat memiliki lebih dari satu saluran akar utama (saluran akar tambahan). Saluran akar tambahan merupakan penghubung antara pulpa dengan periodontium yang mana dapat juga sebagai jalan masuk penyakit baik yang berasal dari pulpa menuju ke periodontium maupun sebaliknya. Saluran ini berisi jaringan ikat dan pembuluh darah dimana sering terdapat di daerah apeks.

Menurut Harty (1991), selama perkembangan akar, bagian apikal pulpa dalam keadaan terbuka, bila gigi makin sempurna, foramen berbentuk saluran menutup dan menyempit ke bentuk akar normal dengan foramen apikal yang kecil. Apeks adalah ujung akar dan mencerminkan kematangan gigi. Pada dewasa



muda berbentuk lurus dan belum menutup sedangkan seiring bertambahnya usia, apeks akan cenderung melengkung ke distal. Foramen apikalis yang terdapat di daerah apeks memiliki ukuran dan konfigurasi yang bervariasi sesuai dengan kematangannya. Sebelum terbentuk sempurna, foramen apikalis ini terbuka dan foramen ini akan mengecil dan membentuk saluran seiring dengan deposisi dentin dan sementum (Walton & Torabinejad, 1998).

Tahap perkembangan gigi mempengaruhi metode perawatan saluran akar. Cedera pada pulpa sebagian dapat bersifat alamiah, dapat pula terjadi karena peristiwa kompleks yang meliputi dentin-pulpa seperti karies, trauma, penyakit periodontium atau prosedur restorasi gigi (Walton & Torabinejad, 1998).



Gambar 2.1 Gambar anatomis gigi

## 2.2 Perawatan Saluran Akar

Perawatan endodonti dapat didefinisikan sebagai perawatan atau tindakan yang diambil untuk mempertahankan gigi vital, gigi mati atau gigi nonvital, dalam keadaan berfungsi di lengkung gigi (Harty, 1991).

Terdapat dua macam perawatan saluran akar yang menggunakan metode preparasi saluran akar (*root canal treatment*), yaitu perawatan pulpektomi dan perawatan endodontik intra kanal. Pada perawatan pulpektomi, setelah pengangkatan pulpa, rasa sakit akan timbul kembali atau bahkan bisa diikuti periodontitis ringan. Hal ini mungkin disebabkan oleh tekanan *paper point* terhadap permukaan luka, akumulasi darah dari pendarahan ringan setelah menutupi saluran akar, akumulasi dari eksudat pada permukaan luka, atau iritasi yang terjadi dari larutan irigasi. Pada banyak kasus ketika jaringan periapikal tidak terlalu banyak mengalami trauma dan perawatan dilakukan secara aseptik, gigi akan mengalami proses eksudasi yang normal, yang di ikuti dengan bentukan fibrin, proliferasi sel, dan pembentukan jaringan parut. Setelah jaringan pulpa dalam saluran akar diambil, terjadi pendarahan, benang-benang fibrin akan menutup dinding pulpa dan sisa-sisa jaringan masih melekat pada dinding saluran jika tidak dibersihkan. Reaksi inflamasi terjadi setelah pengambilan jaringan pulpa dengan pergerakan sel polimorfonuklear (sel PMN) yang cepat dengan membentuk dinding pelindung. Secara singkat, makrofag muncul dan memakan benda asing selama perawatan yaitu jaringan yang telah mati dan mikroorganisme. Selama pembentukan fibrin, fibroblas mengalami proliferasi menjadi jaringan parut. Pada permukaan saluran akar yang dekat dengan foramen apikal, jaringan ikat yang tidak tumbuh dari ligamen periodontal bisa di ikuti resorpsi dentin dan deposisi sementum sekunder. Reaksi inflamasi bisa menjadi akut dan meluas sampai jaringan periapikal bilamana jaringan pulpa mengalami iritasi kimia atau

iritasi mekanik. Keadaan ini termasuk periodontitis yang terkadang menyertai pulpektomi. Pada kasus tersebut, resorpsi bisa terjadi pada jaringan periapikal dan bahkan permukaan dentin yang dekat dengan foramen apikal. Perbaikan baru akan terjadi setelah reaksi inflamasi berkurang. Namun, dapat pula sementoblast masuk pada saluran akar dan menjadi sementum sekunder di mana terjadi di tempat resorpsi tersebut. Pada waktu yang sama, jaringan fibrosa akan terbentuk pada jaringan periodontal yang menunjukkan akhir dari pengisian saluran akar (Walton & Torabinejad, 1998).

### **2.3 Larutan Irigasi yang Ideal**

Salah satu tahap yang penting dalam melakukan perawatan saluran akar adalah membuang sisa-sisa debris organik dan potongan-potongan dentin yang terbentuk dalam tahap preparasi saluran akar secara mekanik. Dentin nekrotik menjadi tempat tinggal bagi bakteri untuk hidup, dan jaringan pulpa menjadi hidangan bagi bakteri. Maka, irigasi saluran akar harus dilakukan untuk membuang sisa-sisa debris organik dan potongan-potongan dentin yang terakumulasi di saluran akar dari pembuatan saluran akar secara mekanik (Walton & Torabinejad, 1996; Estrela dkk, 2002; Stock C. Dkk, 2004). Adapun sifat-sifat irigan yang ideal menurut Walton & Torabinejad (1998) dan Becker & Woollard (2001) adalah :

1. Pelarut jaringan atau debris terutama pada daerah yang tidak terjangkau instrumen untuk melarutkan sisa-sisa jaringan lunak maupun jaringan keras.
2. Memiliki toksisitas yang rendah agar tidak mencederai jaringan periradikuler.
3. Memiliki tegangan permukaan yang rendah agar larutan irigasi dapat mengalir ke daerah yang tidak terjangkau
4. Sebagai pelumas untuk membantu alat meluncur di dalam saluran akar gigi (Semua cairan irigasi mempunyai kemampuan ini).
5. Sterilisasi (minimal dapat melakukan desinfeksi).
6. Membuang *smear layer* yang terdiri atas kristal mikro dan partikel debris organik yang menyebar di seluruh lapisan saluran akar gigi.
7. Faktor lain seperti mudah diperoleh, harga yang murah, mudah digunakan, dapat disimpan cukup lama, dan mudah disimpan, serta tidak mudah dinetralkan agar efektivitasnya dapat dipertahankan.

## 2.4 *Piper betle linn* (Sirih)

### 2.4.1 Tinjauan Botani

Klasifikasi (Heyne, 1987)

Divisi : Spermatophyta

Subdivisi : Angiospermae

Kelas : Dycotylanae

Subkelas : Archiheanydae  
Ordo : Piperales  
Famili : Piperaceae  
Genus : *Piper*  
Spesies : *Piper betle lin*

Menurut Brummit (1992) *Piper betle L.* memiliki beberapa sinonim, yaitu :

- = *Piper siriboa L., Sp. Pl.*
- = *Piper malamiris L, Sp. Pl.*
- = *Chavica betle (L.) Miq., Syst. piperac.*
- = *Chavica siriboa (L.) Miq., Syst. piperac.*
- = *Chavica chuvya Miq., Syst. piperac.*
- = *Chavica densa Miq., Syst. piperac.*
- = *Chavica auriculata Miq., Syst. piperac.*
- = *Piper pinguispicum C.*
- = *Artanthe hixagona*

Nama yang umum dipakai di beberapa negara adalah:

- Malaysia : sireh, sirih, suruh
- Belanda : sirih
- Inggris : betel nut, betel pepper, betelvine
- Perancis : bétel

Portugal	: betel, betelhe, vitele
Jerman	: betelpfeffer
Hindi	: तांबुली] tambuli]
Sansekerta	: tambula

Nama yang umum dipakai di daerah-daerah di Indonesia adalah (Hembing, 1992):

Jawa	: seureuh (Sunda), suruh (Jawa), sere (Madura)
Sumatra	: ranub (Aceh), sereh (Bayo), sirih (Palembang)
Kalimantan	: uwit (Dayak), sirih (sampit)
Sulawesi	: ganjang, gapura (Bugis)
Maluku	: ani-ani (Hok), amu (Ambon)
Irian	: ruman (Wendeb), ato (Setani), wangi (Sawa)



Gambar 2.2 Daun Sirih

#### 2.4.2 Ciri Fisik

Sirih merupakan tanaman yang tumbuh memanjat atau menjalar dan bersandar pada batang pohon lain. Tinggi tanaman sirih bisa mencapai 5-15 meter tergantung kesuburan media tanam dan rendahnya media untuk merambat. Tanaman sirih tidak tahan terhadap tanah yang terlalu basah, tetapi untuk pertumbuhan daun-daunnya perlu cukup air. Helai daun tunggal lebat, letak alternat, bentuk bundar bulat telur oval, sedang ujung daun meruncing, pangkal daun bentuk jantung atau agak bundar asimetri, bila daun diremas mengeluarkan bau aromatik, terkandung minyak atsiri yang dapat menguap. Daunnya tumbuh berselang-seling, bertangkai, teksturnya agak kasar jika diraba dan mengeluarkan bau aromatis jika diremas. Panjang daun 6 – 17,5 cm dan lebar 3,5 – 10 cm. Warna daun sirih bervariasi dari kuning, hijau, sampai hijau tua. Bunga tersusun dalam bentuk bulir, merunduk, diujung cabang dan ketiak daun. Batang berwarna coklat kehijauan, berbentuk bulat, berkerut, dan beruas yang merupakan tempat keluarnya akar (Heyne, 1987; Hembing, 1992; Moeljanto dkk, 2005).

Menurut Hembing (1992), dikenal beberapa macam sirih, yaitu:

1. Daun sirih yang berwarna hijau tua dengan rasa pedas merangsang
2. Daun sirih yang berwarna kuning
3. Sirih kaki merpati, daunnya berwarna kuning dengan tulang daun berwarna merah
4. Sirih hitam, biasa digunakan untuk campuran obat

### 2.4.3 Kandungan Kimia

Sirih (*Piper betle*) secara umum dapat digunakan untuk berkumur kalau mulut bengkak, untuk mengobati bau napas tidak sedap yang disebabkan oleh karies, dan sakit gusi (Heyne, 1987; Hembing, 1992). Sirih apabila dipakai sebagai obat kumur, dapat menghilangkan segala kotoran karena mengandung minyak atsiri, sehingga memberantas kuman-kuman dalam mulut.

Sirih memiliki banyak khasiat. Hal ini didukung oleh bahan-bahan yang terkandung di daun sirih tersebut. Menurut Hembing (1992), kandungan yang terdapat dalam daun sirih adalah :

Minyak atsiri	: 1 – 4,2%
Hidroksikavicol, kavicol	: 7,2 – 16,7%
Kavibetol	: 2,7 – 6,2%
Allypyrokatekol	: 0 – 9,6%
Karvakarol	: 2,2 – 5,6%
Eugenol	: 26,8 – 42,5%
Methyl ether	: 4,2 – 15,8%
P-cynene	: 2,2 – 5,6%
Cineole	: 2,4 – 4,8%
Caryophyllene	: 3,0 – 9,8%
Cadynene	: 2,4 – 15,8%
Estragol, terpenana, seskuiterpena, fenil propana	: 0,8 – 1,8%

Beberapa penelitian ilmiah menyatakan bahwa daun sirih juga mengandung enzim



diatase, gula, tanin, pati, Vitamin C, dan alkaloid arakene. Biasanya daun sirih muda mengandung diatase, gula, dan minyak atsiri lebih banyak dibandingkan dengan daun sirih tua sementara kandungan taninnya relatif sama.

#### 2.4.4 Efek Farmakologis

Zat berkhasiat dari daun sirih adalah minyak atsiri yang terdiri dari fenol, sebagian besar kavikol, dan eugenol. Fenol mempunyai daya antiseptik yang kuat sedangkan kavikol memberikan aroma yang khas dari daun sirih. Senyawa kavikol ini memiliki daya antiseptik yang kuat dan daya bunuh bakteri mencapai 5 kali lipat fenol biasa. Keberadaan fenol yang merupakan senyawa toksik mengakibatkan struktur tiga dimensi protein terganggu dan terbuka menjadi struktur acak tanpa adanya kerusakan pada struktur kerangka kovalen. Hal ini menyebabkan protein mengalami denaturasi. Deret asam amino protein tersebut tetap utuh setelah denaturasi, namun aktivitas biologisnya menjadi rusak sehingga protein tidak dapat melakukan fungsi normalnya (Heyne, 1987).

Menurut Moeljanto dkk (2005) disebutkan daun yang merupakan bahan utama menginang ini memiliki sifat *styptic* (mengerutkan jaringan) dalam hal ini sirih memiliki sifat *astringen* (mengerutkan jaringan untuk menghentikan perdarahan), *vulnerary* (menyembuhkan luka kulit), *stomachic* (obat saluran pencernaan), dan membersihkan tenggorokan. Daun sirih selain memiliki kemampuan antiseptik, juga mempunyai kekuatan sebagai antioksidasi dan fungisida. Minyak atsiri dan ekstrak daun sirih mampu melawan beberapa bakteri

Gram positif dan Gram negatif.

Menurut hasil penelitian Arifin (1990), diketahui bahwa berbagai khasiat daun sirih yang telah dibuktikan secara ilmiah antara lain memiliki efek antimikroba terhadap *Haemophilus influenza*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus haemoliticus beta* seiring dengan naiknya konsentrasi infusa daun sirih. Menurut Suprihati (1990), efek antimikroba daun sirih terhadap *Streptococcus sanguis* pada akumulasi plak melalui kumur infusa sirih. Menurut hasil penelitian Syafei (1990), daun sirih dapat dipakai sebagai antimikroba di dalam perawatan abses dengan tindakan bedah periodontal melalui irigasi air daun sirih 15%. Daun sirih memiliki daya antijamur terhadap *Candida albicans* dengan rebusan daun sirih 10%. Menurut hasil penelitian Laksmningsih (1990), daun sirih memiliki khasiat sebagai *astrigen* dan *styptic* secara lokal melalui kandungan tanin di dalamnya.

## 2.5 Uji Sitotoksisitas

Uji sitotoksisitas dilakukan untuk mengetahui efek suatu bahan secara langsung terhadap jaringan dalam kultur sel (Siregar & Hadijono, 2000). Beberapa metode untuk menilai sitotoksisitas suatu bahan diantaranya adalah esei MTT, agar *overlay*, filter molekul, pembebasan isotop kromium, dan metode pewarnaan eksklusi dengan *tryptan blue*.

### 2.5.1 Esei MTT

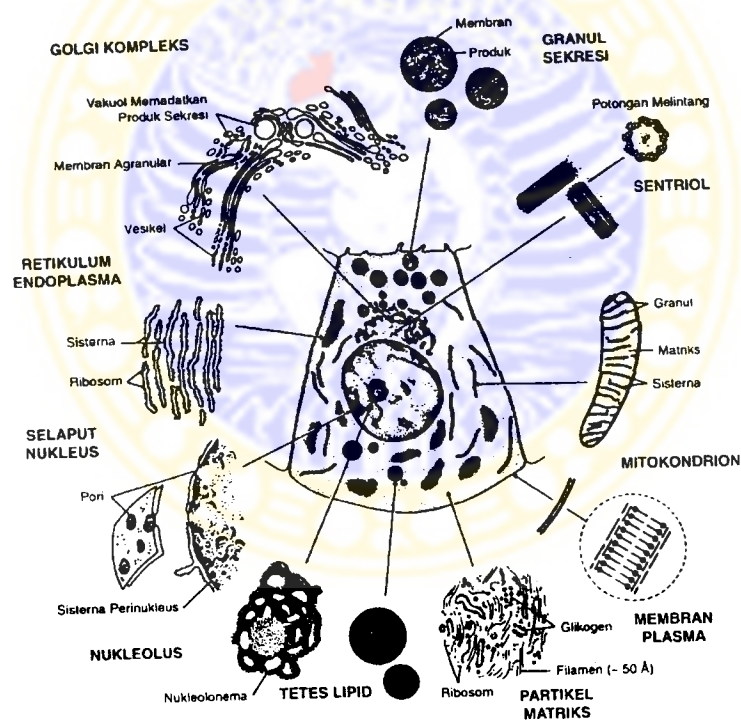
Esei MTT didasarkan pada kemampuan sel hidup untuk mereduksi garam MTT. Prinsip esei ini adalah pemecahan cincin tetrazolium MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-di-phenyl-tetrazolium bromide) oleh adanya dehidrogenase pada mitokondria yang aktif, menghasilkan produk formazan ungu yang tidak larut. Garam tetrazolium berwarna ungu akan direduksi di dalam sel yang mempunyai aktivitas metabolik, yang mempunyai peranan penting dalam hal ini adalah mitokondria dari sel hidup yang menghasilkan dehidrogenase. Bila dehidrogenase tidak aktif karena efek sitotoksik, maka formazan tidak terserap. Produksi formazan dapat dihitung dengan melarutkannya dan mengukur densitas optik dari larutan yang dihasilkan. Reaksi warna ungu digunakan sebagai ukuran dari sel hidup, jumlah sel hidup dapat diukur sebagai hasil produk MTT dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 540-570 nm, sehingga prosentasi densitas optik yang semakin rendah berarti menunjukkan sel yang metabolik aktif dapat mereduksi MTT juga semakin rendah (Siregar & Hadijono, 2000 dan Soenartyo & Rianti, 2003).

### 2.6 Sel

Terdapat ratusan jenis sel dalam tubuh yang secara mikroskopis dapat dibedakan, namun semuanya memiliki ciri struktur tertentu yang sama. Sel dibagi dalam 2 kompartmen utama, yaitu *mukleus* dan *sitoplasma*. Komponen berbentuk dalam kompartmen ini termasuk dalam salah 1 dari 2 kategori, yaitu *organel* dan

*inklusi*. *Organel* adalah komponen yang ditemukan di dalam semua sel dan dipandang sebagai organ intern yang secara metabolik aktif melakukan fungsi spesifik penting. *Inklusi* adalah akumulasi produk sel yang secara metabolik inaktif, seperti endapan pigmen, atau metabolik simpanan, seperti lipid dan karbohidrat (Fawcett, 2002).

Organel yang tampak dalam mikroskop cahaya diantaranya adalah mitokondria, golgi kompleks, granula sekresi, sentriol.



Gambar 2.3 Panampang sel dibawah mikroskop cahaya beserta organel-organelnya

### 2.6.1 Nukleus

Nukleus merupakan organel terbesar dari sel, terletak di pusat dan umumnya berbentuk bulat atau lonjong, tetapi dalam sel-sel tertentu, nukleus mungkin berlipat-lipat dalam atau berlobus. Nukleus adalah “arsip”nya sel, tempat penyimpanan materi genetiknya (Fawcett, 2002).

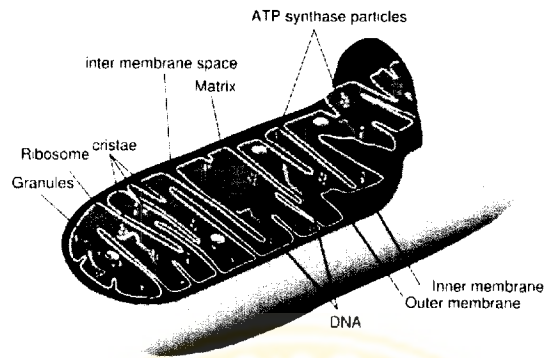
### 2.6.2 Sitoplasma

Aktivitas metabolik utama dan berbagai fungsi sel dilaksanakan di bagian ektranukleus, yaitu di sitoplasma, yang mengandung berbagai jenis organel sel yang penting untuk metabolisme sel. Kebanyakan organel adalah unsur bermembran dengan bentuk dan struktur intern khas. Organel ini terbenam dalam matriks sitoplasma semi cair yang disebut *sitosol*. Anyaman kasar, terdiri atas berkas filamen halus yang melintasi sitoplasma dan melekat pada membran sel, memberi kekuatan intern dan membantu mempertahankan bentuk normal sel. Semua ini dikenal sebagai *sitoskelet* (Fawcett, 2002).

### 2.6.3 Mitokondria

Batang-batang langsing berdiameter 0,4-0,8  $\mu\text{m}$  dan panjang 4-9  $\mu\text{m}$  tampak dalam sel hidup tipis di bawah mikroskop kontras. Fungsinya adalah menyediakan energi yang dibutuhkan untuk biosintesis dan aktivitas motorik sel. Mitokondria ini mungkin tersebar secara acak dalam sitoplasma atau berkumpul pada tempat pemakai energi tinggi. Jumlah bervariasi dari beberapa sampai

ratusan, tergantung besar dan kebutuhan energi berbagai jenis sel (Fawcett, 2002).

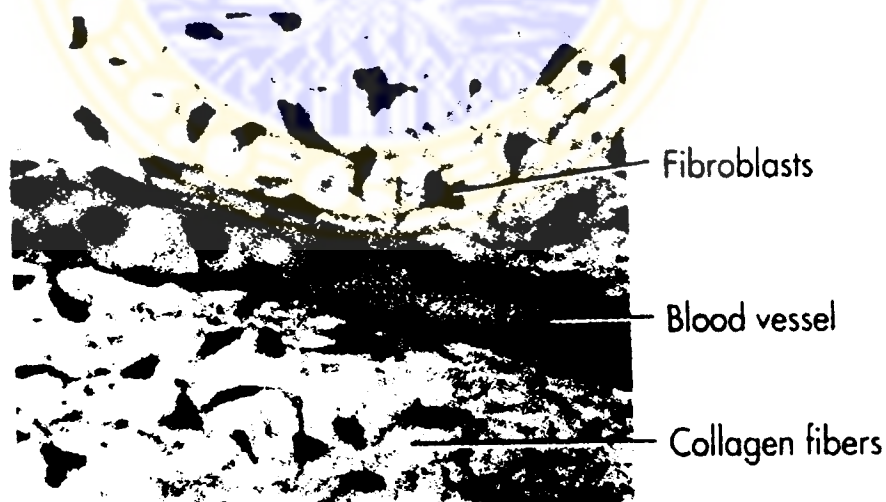


Gambar 2.4 Penampang Mitokondria

Aktivitas biokimia utama dari mitokondria adalah *fosforilasi oksidatif* – oksidasi, oleh oksigen molekuler dari metabolit nutrient (glukosa dan asam lemak) yang diperoleh sel dari darah. Energi yang timbul dipakai untuk mensintesis *adenosin trifosfat* (ATP) dari *adenosin difosfat* (ADP) dan fosfat anorganik. ATP yang dibebaskan dari mitokondria, masuk sitoplasma merupakan cadangan energi yang dibutuhkan untuk transpor melalui membran bagi semua proses sintesis dan untuk kerja mekanik dalam aktivitas motorik sel. Atas permintaan, ikatan fosfat berenergi tinggi dalam ATP dipecah, segera melepaskan energi dan mengkonversi ATP menjadi ADP. ATP kemudian dibentuk kembali dari ADP oleh mitokondria. Memakai asam fosfor dan energi dari nutrisi sel. Mitokondria dapat dipandang sebagai gudang tenaga sel (Fawcett, 2002).

## 2.7 Fibroblas

Fibroblas merupakan salah satu tipe sel yang digunakan untuk uji sitotoksitas. Sel fibroblast merupakan sel mesenkim dasar pada jaringan dewasa yang berfungsi untuk mensintesa komponen-komponen jaringan pengikat yaitu kolagen dan mukopolisakarida. Ciri sel fibroblast adalah sel-nya besar, agak pipih, berbentuk bulat panjang atau ovoid. Intinya yang lonjong, dapat diperlihatkan dengan dengan beberapa cara pewarnaan, misalnya dengan pembuatan sediaan jaringan ikat yang diwarnai dengan cat seperti *methylene blue* kemudian inti sel fibroblast dapat dilihat dengan mikroskop cahaya, sitoplasma fibroblas pucat. Sitoplasmanya mengandung banyak mitokondria, retikulum endoplasmik yang kasar, serta badan golgi (Spector ,1993; Leeson, 1996).



Gambar 2.5 Sel fibroblas

Fibroblas adalah sel pembentuk kolagen dan badan interseluler. Selain merupakan kesatuan hidup dari jaringan ikat, fibroblas berperan aktif dalam sintesa protein yang menjadi materi dasar untuk pembentukan bahan antar sel yang berbentuk maupun amorf (Leeson, 1996).

Pembentukan kolagen oleh sel fibroblas dari protein yang didahului dengan pembentukan prokolagen yang dihasilkan oleh retikulum endoplasma, dibentuk dicelah ekstra sel dari molekul kolagen berupa serabut kolagen yang menyusun sesuai dengan susunan molekul (Bloom, 2002).

Fibroblas mampu tumbuh dan berregenerasi seumur hidup apabila ada rangsangan. Misalnya, penyembuhan luka pada jaringan yang beradang. Fibroblas dapat melakukan gerakan merambat secara perlahan. Peningkatan jumlah fibroblas pada daerah luka disebabkan karena fibroblas berfungsi sebagai sel (Leeson, 1996).

Secara umum, fibroblas berperan dalam penyembuhan luka. Pada luka terbuka, fibroblas melakukan proliferasi dan migrasi ke tempat luka, kemudian fibroblas mensekresi matriks ekstraselular, dan akhirnya terbentuknya jaringan parut yang menutup luka (Gage, 2002).

Ada 2 jenis sel fibroblast yang biasa dipakai dalam kultur *cell lines*, yaitu sel L-29 yang berasal dari fibroblas paru tikus dan sel BHK-21 yang berasal dari fibroblas ginjal hamster. Tetapi sel BHK-21 lebih banyak digunakan untuk menguji sitotoksisitas bahan dan obat-obatan di kedokteran gigi (Freshney, 1987). Hal ini disebabkan oleh karena sel fibroblas *Baby Hamster Kidney* (BHK-21)



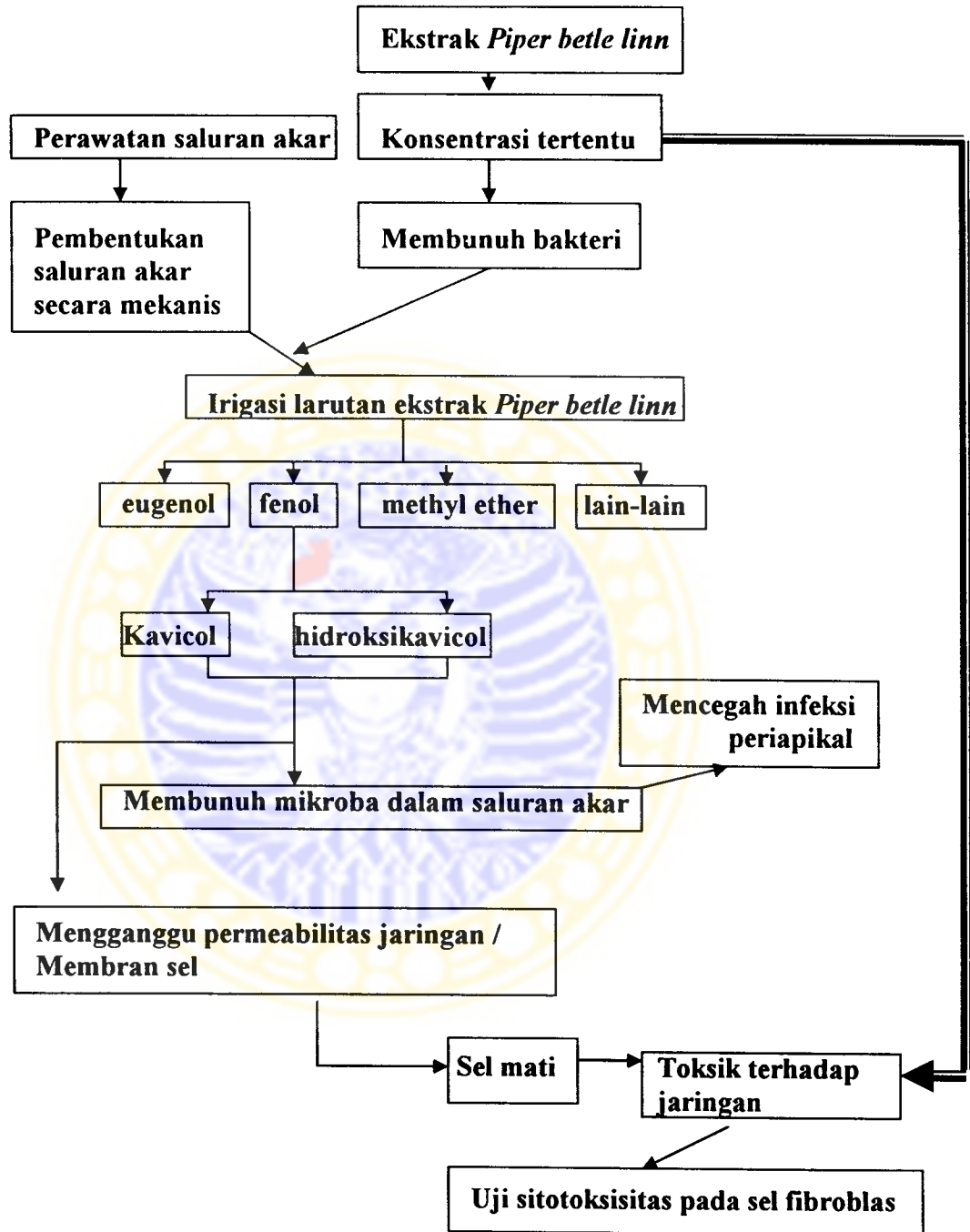
merupakan bahan kultur terbaik yang berasal dari sel-sel jaringan embrionik sehingga mudah tumbuh dan mudah dilakukan subkultur ulang (Freshney, 1987).

Sel fibroblas merupakan komponen utama dan terpenting yang terdapat di pulpa, ligamen periodontal, dan gingiva (Grossman, 1995). Pada jaringan periodontal, fibroblas mensintesa kolagen dan matriks ekstraseluler yang berfungsi untuk memelihara ligamen periodontal yang sehat (Walton & Torabinejad, 1998).



### BAB 3

## KERANGKA KONSEPTUAL



Pada gigi yang sudah mengalami infeksi diberikan perawatan saluran akar untuk mempertahankan gigi tersebut selama mungkin berada di dalam mulut. Dalam melakukan perawatan saluran akar dilakukan pembersihan dinding saluran akar dari jaringan nekrosis dan bakteri. Pembersihan ini dilakukan secara mekanik dengan menggunakan bur dan file. Kemudian dilakukan pembersihan debris organik maupun debris sisa dari pembersihan secara mekanik tersebut dengan menggunakan irigasi saluran akar.

Ekstrak daun *Piper betle linn* pada konsentrasi tertentu dapat membunuh bakteri, sehingga ekstrak ini dapat dipakai sebagai bahan irigan saluran akar. Daun *Piper betle linn* memiliki kandungan seperti eugenol, fenol, methy ether, dan lain-lain. Pada kandungan fenol, memiliki 2 bahan kandungan pokok yaitu hidroksikavicol dan kavicol yang memiliki kemampuan membunuh mikroba dalam saluran akar sehingga berperan dalam mencegah infeksi periapikal. Selain itu, bahan hidroksikavicol dan kavicol tersebut juga mengganggu permeabilitas jaringan/membran sel yang mengakibatkan kematian sel. Hal ini berarti ekstrak daun *Piper betle linn* toksik terhadap jaringan dan perlu dilakuka uji sitotoksisitas pada fibroblas.

## BAB 4

### METODOLOGI PENELITIAN

#### 4.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan eksperimental laboratoris dengan rancangan *post test only control group design*.

#### 4.2 Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Pusat Veterinaria Farma (PUSVETMA) Surabaya.

#### 4.3 Obyek Sampel dan Jumlah Sampel Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah kultur sel fibroblas.

Untuk sampel setiap perlakuan akan dipilih secara random dengan besar sampel yang telah ditentukan menurut rumus (Lemeshow S, dkk, 1990):

$$n = \frac{2\sigma^2[Z(1-\alpha) + Z(1-\beta)]^2}{(\mu_1 - \mu_2)^2}$$

$$n = \frac{2(0,110294)^2(1,96 + 0,85)^2}{(0,30675 - 0,08725)^2}$$

$$n = 4,118$$

Keterangan :

$n$  = jumlah sampel

$\sigma$  = standar deviasi

$Z_{1-\alpha}$  = harga standard normal pada  $\alpha = 0.05$

$Z_{1-\beta}$  = 80%

$\mu_1 - \mu_2$  = beda rerata masing-masing kelompok

Melalui rumus di atas dan melalui penelitian pendahuluan, maka besar  $n$  yang didapatkan adalah 4,118, sehingga penelitian ini paling sedikit dilakukan pengulangan/replikasi sebanyak 4 kali untuk masing-masing percobaan. Peneliti melakukan replikasi sebanyak 8 kali, sehingga diharapkan data yang diperoleh lebih akurat.

#### 4.4 Variabel Penelitian

##### 4.4.1 Variabel bebas

- Konsentrasi daun *Piper betle linn.*

##### 4.4.2 Variabel tak bebas

- Jumlah sel hidup pada kultur sel.

##### 4.4.3 Variabel terkontrol

- Volume, suhu, waktu perbenihan, konsentrasi MTT, sel fibroblas, *plate 96-well*.

##### 4.4.4 Unit analisis

- Sel fibroblas.

#### 4.5 Definisi Operasional

##### 4.5.1 Ekstrak daun *Piper betle linn* dengan konsentrasi tertentu.

Yang dimaksud dengan ekstrak daun *Piper betle linn* dengan konsentrasi tertentu adalah hasil ekstraksi masa 10% bahan kering daun *Piper betle*

*linn* yang kemudian diencerkan dengan bahan pelarut air bidestilasi hingga tercapai konsentrasi daun *Piper betle linn* 25%, 20%, 15%, 12,5%, 10%, 7,5%.

Konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini (dalam % m/v) adalah 25%, 20%, 15%, 12,5%, 10%, 7,5%.

#### 4.5.2 Derajat sitotoksitas

Yang dimaksud dengan derajat sitotoksitas adalah derajat sel hidup yang terjadi karena paparan suatu bahan yang toksik terhadap sel. Persentase sel hidup diukur melalui perbandingan intensitas warna jumlah formazan yang dihasilkan oleh sel yang hidup setelah mendapat paparan suatu bahan yang toksik terhadap sel dengan intensitas warna jumlah formazan yang dihasilkan oleh sel yang hidup yang tidak mendapat paparan suatu bahan yang toksik terhadap sel.

#### 4.5.3 Sel hidup

Sel dikatakan hidup apabila sel mampu mereduksi garam MTT yang berwarna ungu dan larut menjadi formazan yang berwarna ungu.

Untuk mengetahui persentase jumlah sel hidup dilakukan dengan memakai rumus:

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{\text{perlakuan} + \text{media}}{\text{sel} + \text{media}} \times 100\%$$

Keterangan:

% sel hidup = persentase jumlah sel hidup setelah pengujian

Perlakuan = nilai densitas optik formazan pada setiap sampel setelah pengujian

Media = nilai densitas optik formazan pada kontrol media

Sel = nilai densitas optik formazan pada kontrol

#### 4.5.4 Sel mati

Sel dikatakan mati apabila sel tidak mampu mereduksi garam MTT yang berwarna ungu dan tidak larut menjadi formazan yang berwarna ungu.

Untuk mengetahui persentase jumlah sel mati dilakukan dengan memakai rumus:

$$\% \text{ sel mati} = 100\% - \% \text{ sel hidup}$$

#### 4.6 Alat dan Bahan

1. Inkubator untuk kultur sel
  2. Pembaca mikroplat (*micro-plate reader*)
  3. Mikro pipet *multichannel*
  4. Botol *roux*
  5. Tip kuning (yellow 'tips)
  6. Reagen MTT (sigma)
  7. Air *saline*
  8. Pelarut dimetil sulfoksid (DMSO)
  9. Kultur *cell line Baby Hamster Kidney (BHK-21)*
  10. Media kultur *Rosewell Park Memorial Institute-1640 (RPMI-1640)*
- 89%

11. Penstrep 1%
12. *Fetal Bovine Serum* (FBS) 10%
13. *Fungizone* 100 unit/ml
14. *Phosphat Buffer Saline* (PBS)
15. Ekstrak daun *Piper betle linn* 100%
16. Akuades steril
17. *Autoclave*

#### **4.7 Prosedur Penelitian**

##### **4.7.1 Sterilisasi**

Sebelum bekerja, semua alat dan bahan disterilisasi dengan *autoclave* (121°C, selama 15 menit).

##### **4.7.2 Persiapan Ekstrak Daun *Piper betle linn***

Dalam penelitian ini, konsentrasi yang dipakai adalah 25%, 20%, 15%, 12,5%, 10%, 7,5%. Proses pembuatan ekstrak daun *Piper betle linn* dilakukan di Laboratorium Ilmu Bahan Alam, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga Surabaya. Prosedur pembuatan ekstrak daun *Piper betle linn* adalah sebagai berikut :

1. Ambil daun *Piper betle linn* segar dengan ketentuan panjang rata-rata 12 cm dan lebar rata-rata 8 cm yang berwarna hijau terang dan dicuci.
2. Daun tersebut ditimbang sehingga terkumpul daun *Piper betle linn* seberat 100 gram.



3. Keringkan dengan bantuan sinar matahari atau oven pada suhu yang optimum.
4. Pemrosesan selanjutnya yaitu melarutkan ekstrak tersebut dalam rebusan menggunakan aquades steril 1200 cc dengan suhu kurang lebih 90°C selama 15 menit.
5. Maka akan diperoleh rebusan ekstrak daun *Piper betle linn* yang 100% bebas etanol dengan konsentrasi 100% dan volume 1000 cc.
6. Untuk membuat ekstrak daun sirih dengan konsentrasi 25%, 20%, 15%, 12,5%, 10%, 7,5%, digunakan ekstrak daun sirih dengan konsentrasi 50%, 40% dan 30%.
  - a. Ekstrak daun sirih dengan konsentrasi 25 %, 12,5 % :
    - 1) Menambahkan pada 50cc ekstrak daun sirih dengan konsentrasi 100% sebanyak 50cc aquades steril untuk memperoleh ekstrak daun sirih dengan konsentrasi 50%.
    - 2) Menambahkan pada 50cc ekstrak daun sirih dengan konsentrasi 50% sebanyak 50cc aquades steril untuk memperoleh ekstrak daun sirih dengan konsentrasi 25%.
    - 3) Menambahkan pada 50cc ekstrak daun sirih dengan konsentrasi 25% sebanyak 50cc aquades steril untuk memperoleh ekstrak daun sirih dengan konsentrasi 12,5%.
  - b. Ekstrak daun sirih dengan konsentrasi 20 %, 10 % :
    - 1) Menambahkan pada 40cc ekstrak daun sirih dengan

konsentrasi 100% sebanyak 60cc aquades steril untuk memperoleh ekstrak daun sirih dengan konsentrasi 40%.

2) Menambahkan pada 50cc ekstrak daun sirih dengan konsentrasi 40% sebanyak 50cc aquades steril untuk memperoleh ekstrak daun sirih dengan konsentrasi 20%.

3) Menambahkan pada 50cc ekstrak daun sirih dengan konsentrasi 20% sebanyak 50cc aquades steril untuk memperoleh ekstrak daun sirih dengan konsentrasi 10%.

c. Ekstrak daun sirih dengan konsentrasi 15%, 7,5% :

1) Menambahkan pada 30cc ekstrak daun sirih dengan konsentrasi 100% sebanyak 70cc aquades steril untuk memperoleh ekstrak daun sirih dengan konsentrasi 30%.

2) Menambahkan pada 50cc ekstrak daun sirih dengan konsentrasi 30% sebanyak 50cc aquades steril untuk memperoleh ekstrak daun sirih dengan konsentrasi 15%.

3) Menambahkan pada 50cc ekstrak daun sirih dengan konsentrasi 15% sebanyak 50cc aquades steril untuk memperoleh ekstrak daun sirih dengan konsentrasi 7,5%.

#### 4.7.3 Cara Kerja

1. Kultur sel BHK-21 dalam bentuk *cell-line* ditanam dalam botol *roux*.
2. Setelah konfluen, kultur dipanen dengan menggunakan larutan *trypsine*

*versene*. Hasil panen ditanam dalam media *rosewellpark memorial institute-1640* (RPMI-1640) yang mengandung 10% fetal bovine serum albumin diinkubasi selama 24 jam suhu 37°C.

3. Kemudian sel dipindahkan dalam botol kecil (roux) dan dibuat dengan kepadatan  $2 \times 10^5$  sel/ml. Sel dikultur dalam setiap sumur mikroplat 96-sumur sampai konfluen. Setiap sumuran berisi sel dan media RPMI dengan kepadatan  $2 \times 10^5$  sel/ml.
4. Sebanyak 50  $\mu$ l, sampel penelitian ekstrak daun sirih masing-masing kelompok sebelum diuji, disterilkan dahulu dengan UV selama 15 menit, selanjutnya masing-masing dimasukkan dalam lempeng sumuran sebanyak 50  $\mu$ l.
5. Kemudian lempeng sumuran diinkubasi selama 20 jam pada suhu 37°C. Disiapkan pula kontrol sel sebagai kontrol positif berisi sel dalam media kultur, dianggap persentase sel hidup 100% dan kontrol media sebagai kontrol negatif berisi media kultur saja, dianggap sel hidup 0%.
6. Setelah itu setiap sumuran ditambahkan pereaksi MTT 5 mg/ml dalam PBS sebanyak 20  $\mu$ l untuk setiap sumuran, diinkubasi kembali selama 4 jam pada suhu 37°C.
7. Selanjutnya setiap sumuran ditambah 50  $\mu$ l dimetil sulfoksid (DMSO) (yang berfungsi untuk menghentikan proses penyerapan MTT oleh mitokondria). Lempeng sumuran diinkubasi kembali selama 5 menit pada suhu 37°C. Kemudian lempeng sumuran dibaca pada spektrofotometer

dengan panjang gelombang 595nm.

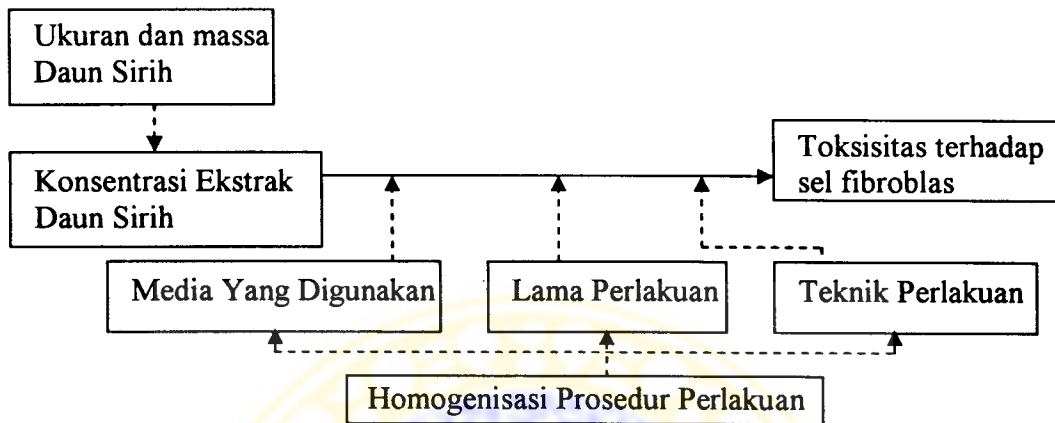
8. Hasil yang diperoleh dinyatakan dalam optikal densitas/absorben. Besar absorben setiap sumuran menunjukkan jumlah sel hidup dalam kultur media.
9. Untuk mengetahui persentase jumlah sel hidup dilakukan dengan memakai rumus:

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{\text{perlakuan} + \text{media}}{\text{sel} + \text{media}} \times 100\%$$

Keterangan:

- % sel hidup** = persentase jumlah sel hidup setelah pengujian
- Perlakuan** = nilai densitas optik formazan pada setiap sampel setelah pengujian
- Media** = nilai densitas optik formazan pada kontrol media
- Sel** = nilai densitas optik formazan pada kontrol

#### 4.8 Alur Penelitian

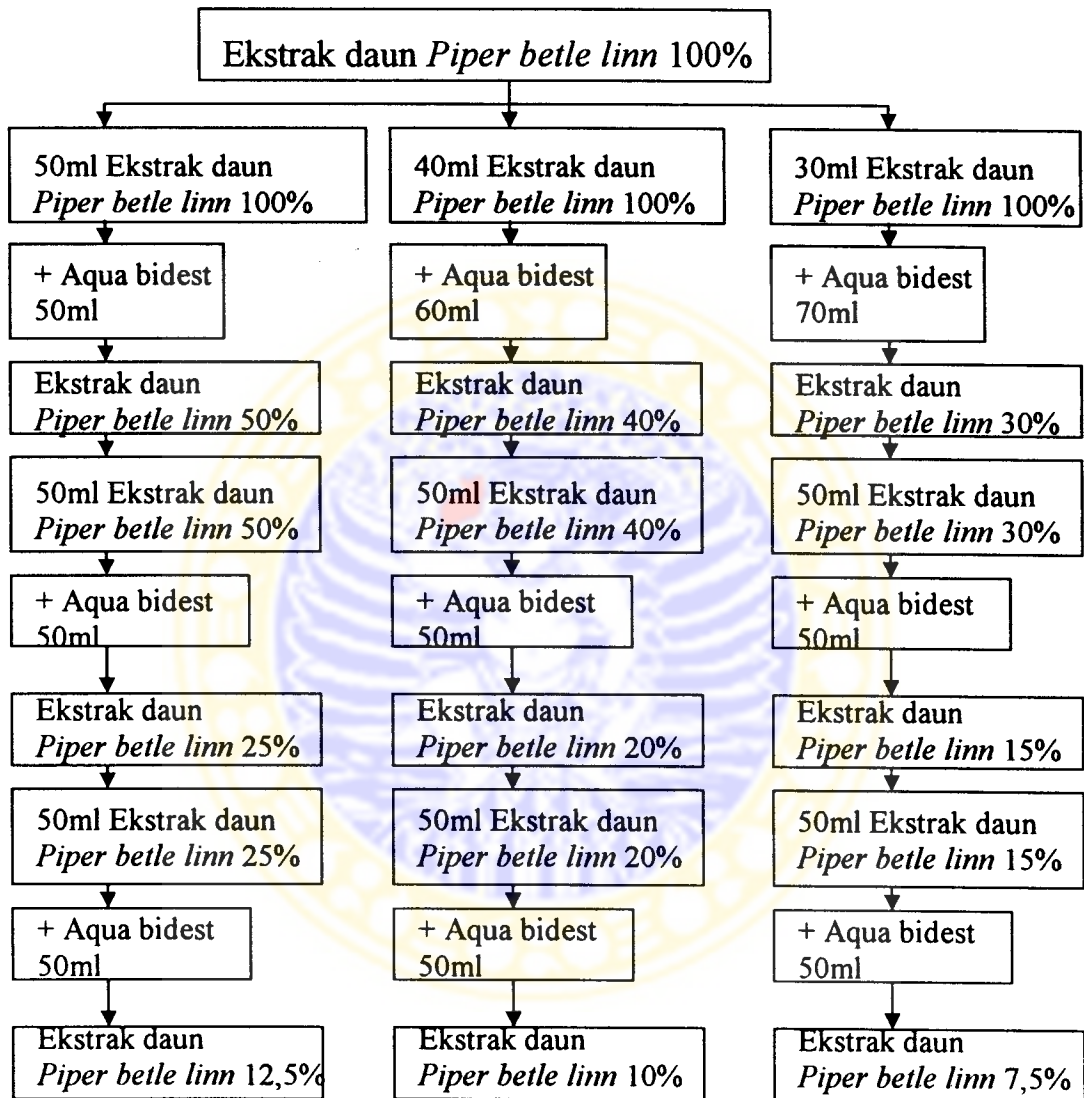


**Keterangan:**

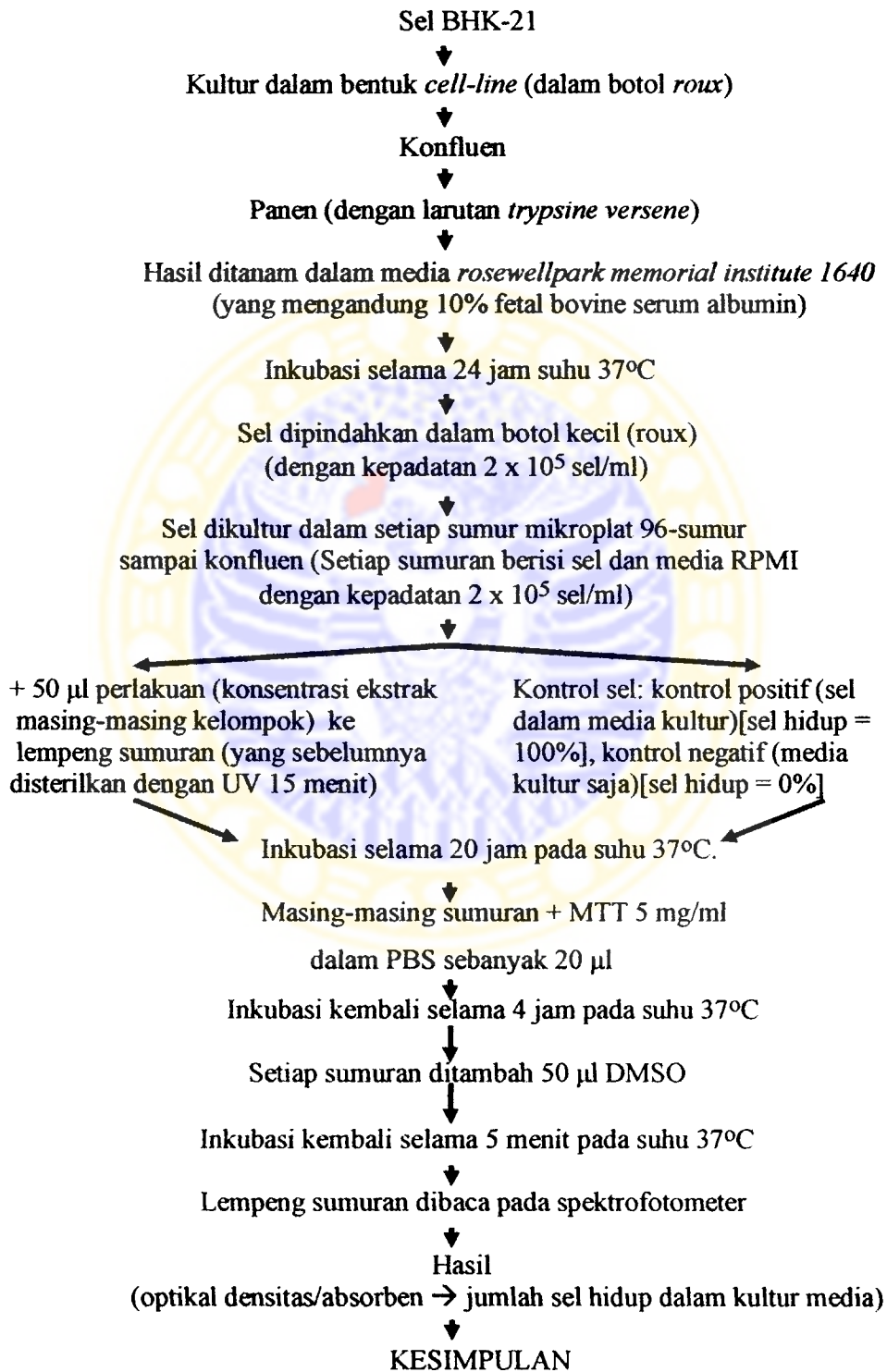
———— : Jalur Objek Penelitian

- - - - - : Variabel Lain

#### 4.8.1 Ekstrak Daun *Piper betle* linn

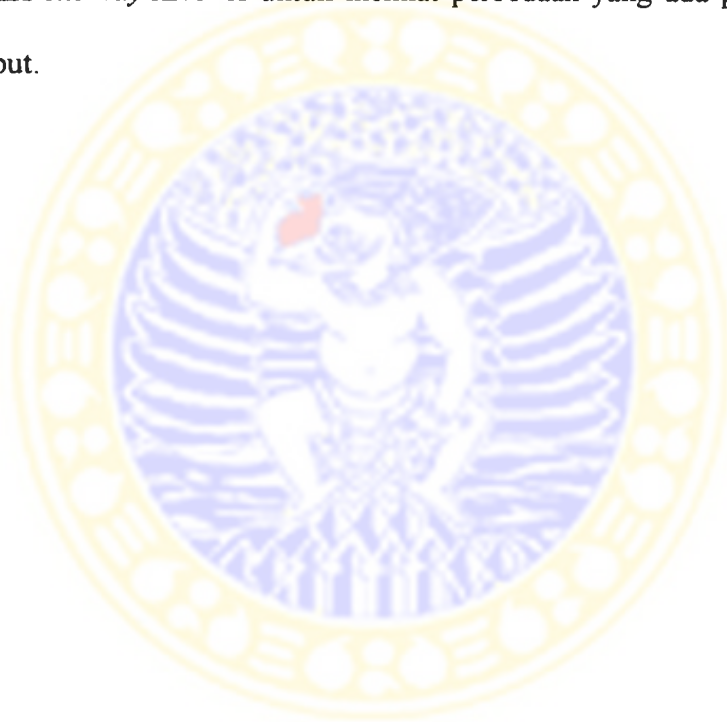


#### 4.8.2 Esei MTT



#### 4.9 Analisis Data

Data yang sudah dikumpulkan dilakukan penghitungan persentase. Rencana analisis data disajikan dalam bentuk tabel dan dideskripsikan untuk mendapatkan gambaran hasil penelitian. Kemudian dilakukan ANALISIS STATISTIK *one-way ANOVA* untuk melihat perbedaan yang ada pada kelompok data tersebut.





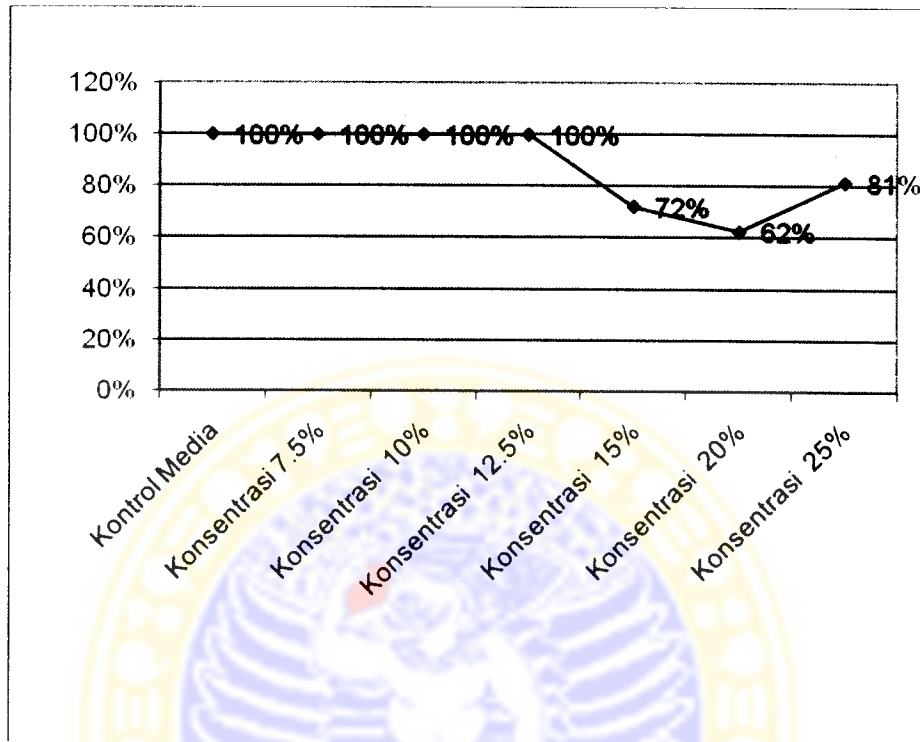
**BAB 5****HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan pada bulan Juni 2007 di Pusat Veterinaria Farma (PUSVETMA) Surabaya dengan menggunakan esei MTT pada kultur sel fibroblas dan dilakukan penghitungan jumlah sel fibroblas terhadap kelompok kontrol, yaitu kelompok yang tidak mendapat perlakuan dan kelompok perlakuan yang mendapat aplikasi ekstrak daun *Piper betle linn*, yang terbagi atas ekstrak daun *Piper betle linn* 7,5%, 10%, 12,5%, 15%, 20%, dan 25%, kemudian didapatkan hasil sebagai berikut :

Tabel 5.1 Distribusi rata-rata dan standar deviasi sel hidup yang terbaca dengan spektrofotometer

Konsentrasi	Sediaan	Rata-rata	Standar Deviasi
7,5%	8	0,30675	0,112094
10%	8	0,35488	0,046008
12,5%	8	0,21712	0,112011
15%	8	0,10838	0,034920
20%	8	0,08725	0,027820
25%	8	0,12850	0,115864
Kontrol +	8	0,16888	0,087341
Kontrol -	8	0,04862	0,001923
Total	64	0,19258	0,015018

Gambar 5.1 Grafik % sel hidup setelah perlakuan



Tabel 5.2 ANOVA

Jumlah sel					
Sumber variasi	Jumlah kuadrat	Derajat bebas	Rerata kuadrat	Jumlah hitung	Probabilitas
antar kelompok	0.654	7	0.093	14.865	0.0001
dalam kelompok	0.352	56	0.006		

Pada tabel dapat dilihat kelompok kontrol mempunyai rata-rata persentase sel fibroblas hidup sebesar 100% dan pada kelompok perlakuan ekstrak daun *Piper betle linn* 7,5%, 10%, 12,5% memiliki rata-rata 99,9%, pada kelompok perlakuan ekstrak daun *Piper betle linn* 15% memiliki rata-rata 72,18391%, pada kelompok perlakuan ekstrak daun *Piper betle linn* 20% memiliki rata-rata 62,46897%, pada kelompok perlakuan ekstrak daun *Piper betle linn* 25% memiliki rata-rata 81,43448%.

Dari hasil penghitungan persentase kematian sel fibroblas tersebut, terlihat kelompok perlakuan yang mendapat aplikasi ekstrak daun *Piper betle linn* mempunyai persentase kematian sel fibroblas lebih besar dari kelompok kontrol yang berisikan sel fibroblas tanpa mendapatkan perlakuan. Hasil pengujian toksisitas ekstrak daun *Piper betle linn* menunjukkan rata-rata persentase sel fibroblas yang mengalami kematian terendah pada kelompok dengan perlakuan pemberian ekstrak daun *Piper betle linn* 7,5%, 10% dan 12,5% dan terdapat peningkatan kematian sel fibroblas seiring dengan kenaikan kandungan ekstrak daun *Piper betle linn*. Peningkatan kematian sel fibroblas tampak nyata pada kelompok dengan perlakuan pemberian ekstrak daun *Piper betle linn* dengan konsentrasi antara 15%, 20%, dan 25%.

Melalui analisa data dengan menggunakan *one-way ANOVA* didapatkan signifikansi 0,0001 ( $p < 0,05$ ), yang berarti tidak terdapat perbedaan untuk masing-masing kelompok, baik kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan.

Tabel 5.3 Distribusi tingkat perbedaan persentase kematian sel fibroblas kelompok kontrol dan perlakuan

	Kontrol +	Kontrol -	Ekstrak Piper betle linn 7,5%	Ekstrak Piper betle linn 10%	Ekstrak Piper betle linn 12,5%	Ekstrak Piper betle linn 15%	Ekstrak Piper betle linn 20%	Ekstrak Piper betle linn 25%
Kontrol +		-	+	+	-	-	-	-
Kontrol -	-		+	+	+	-	-	-
Ekstrak Piper betle linn 7,5%	+	+		-	-	+	+	+
Ekstrak Piper betle linn 10%	+	+	-		+	+	+	+
Ekstrak Piper betle linn 12,5%	-	+	-	+		-	+	-
Ekstrak Piper betle linn 15%	-	-	+	+	-		-	-
Ekstrak Piper betle linn 20%	-	-	+	+	+	-		-
Ekstrak Piper betle linn 25%	-	-	+	+	-	-	-	

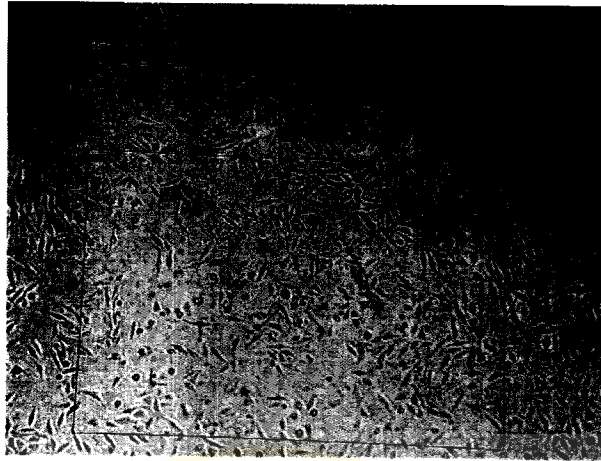
Keterangan :

+ : ada perbedaan bermakna

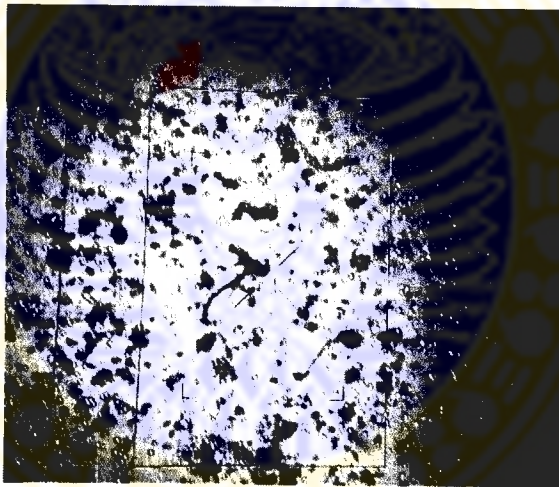
- : tidak ada perbedaan bermakna

Tabel 5.3 merupakan distribusi perbandingan persentase kematian sel fibroblas antar setiap kelompok terhadap kelompok yang lain, pada tabel ini dapat dilihat terdapat perbedaan yang bermakna untuk masing-masing kelompok.

Pada gambar berikut (Gambar 5.2) akan ditampilkan gambaran dari sel fibroblas yang diambil saat penelitian di Pusvetma dengan menggunakan mikroskop cahaya. Gambaran sel fibroblas yang tampak tersebut adalah gambaran sel yang diambil sebelum diberi perlakuan. Terlihat pula gambaran sel fibroblas setelah diberikan perlakuan berupa ekstrak *Piper betle linn* (Gambar 5.3).



Gambar 5.2 Keadaan normal sel fibroblas sebelum dilakukan perlakuan (perbesaran 100x)



Gambar 5.3 Keadaan sel fibroblas setelah diberi ekstrak *Piper Betle Linn* selama 1 menit  
(perbesaran 100x)

## BAB 6

### PEMBAHASAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan hasil jumlah sel hidup yang diperoleh setelah mendapatkan perlakuan dengan berbagai konsentrasi ekstrak *Piper betle linn*, hasil tersebut dapat dilihat pada tabel 5.1. Pada penelitian ini, didapat gambaran bahwa ekstrak *Piper betle linn* dengan konsentrasi hingga 25% tidak memiliki sifat toksik dengan diperolehnya hasil sel hidup sebanyak 81%. Dan pada konsentrasi ekstrak *Piper betle linn* 7,5%, 10%, 12,5% tidak ditemukan kematian sel fibroblas.

Menurut Timbrel (1994), intensitas kematian sel tergantung pada kadar bahan atau obat yang berkontak dengan sel, jaringan, maupun organ sasaran, sedangkan suatu rangsangan dapat merusak sel organ sasaran melalui berbagai cara sehingga terjadi jejas yang dapat bersifat reversibel maupun irreversibel. Apabila sel yang terkena paparan sudah mencapai *point of no return* maka terjadilah kematian sel.

Menurut Quinlan (2002) penyebab kematian sel oleh karena terjadi nekrosis yang bersifat pasif dan patologis, mengakibatkan terjadi respon inflamasi dan kerusakan sekunder jaringan yang sehat.

Kematian sel fibroblas kemungkinan disebabkan kandungan fenol yang terdapat di setiap lembar daun sirih terutama adanya kandungan hidroksikavicol dan kavicol yang cukup tinggi yaitu sebesar 7,2 – 16,7% (Heming, 1992).

dan kavicol yang cukup tinggi yaitu sebesar 7,2 – 16,7% (Hembing, 1992).

Fenol mempunyai daya antiseptik yang kuat dan bersifat toksik pada konsentrasi tinggi. Hal ini diperparah dengan adanya senyawa kavicol yang memberikan aroma yang khas dari daun sirih yang memiliki daya antiseptik kuat dan daya bunuh bakterinya 5 kali lipat fenol biasa (Heyne, 1987).

Menurut Corvianindya dan Joelijanto (2003) terjadinya kematian sel dapat diakibatkan respons terhadap faktor dari luar, misalnya peradangan, iskemia atau bahan beracun. Ciri dari sel yang mengalami nekrosis adalah membran plasma pecah, kromatin mengalami dispersi dan kerusakan jini struktur sel.

Hal ini berarti, sel fibroblas bisa mengalami kematian belum tentu oleh karena sifat toksik dari bahan perlakuan, melainkan bisa juga disebabkan oleh kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan bagi sel fibroblas, yaitu sifat asam pada fenol.

Mekanisme kerja fenol yang bersifat asam dengan polaritas tinggi mengakibatkan ikatan senyawa polar dengan lipoprotein sel sehingga terjadi penimbunan senyawa tersebut disertai pemecahan lemak yang mengganggu permeabilitas membran sel yang mengakibatkan sel pecah (Schlegel, 1994).

Menurut Robbins (1995), permeabilitas membran diperlukan untuk menjaga keutuhan sel dengan volume yang normal. Apabila permeabilitas berubah, maka akan menyebabkan peningkatan perpindahan molekul (translokasi) dari intrasel ke ekstrasel sehingga sel kehilangan unsur metabolit yang diperlukan untuk menjaga kelangsungan hidupnya.

konsentrasi ekstrak daun *Piper betle linn* 15% – 20% yang mengalami penurunan jumlah sel hidup, kemudian mengalami peningkatan pada konsentrasi ekstrak daun *Piper betle linn* 25%, hal ini bisa terjadi oleh karena kandungan fenol yang memiliki sifat asam.

Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak *Piper betle linn* pada konsentrasi 12,5% dan konsentrasi yang lebih rendah memiliki persentase jumlah sel hidup yang tidak berbeda dengan kelompok kontrol, tetapi persentase jumlah sel hidup mengalami peningkatan pada konsentrasi 15% ke atas.

Menurut hasil penelitian Harsono (2006), rebusan daun sirih sebagai larutan irigasi saluran akar gigi mempunyai sifat toksik yang cukup rendah terhadap sel fibroblas pada konsentrasi rebusan daun sirih 10% dan akan menjadi sangat toksik pada rebusan daun sirih dengan konsentrasi 20%. Sedangkan melalui hasil penelitian ini didapatkan hasil konsentrasi ekstrak daun *Piper betle linn* 7,5% – 25% tidak toksik, hal ini bisa terjadi oleh karena penelitian menggunakan MTT memiliki tingkat sensitifitas yang tinggi selain itu pada penelitian ini digunakan metode ekstraksi yang berbeda dengan penelitian sebelumnya yang menggunakan infusa atau rebusan. Di samping itu, menurut Rakhmawati (2005) ekstraksi memiliki efek lebih baik dibandingkan infusa.



## **BAB 7**

### **PENUTUP**

#### **7.1 Kesimpulan**

Dari penelitian eksperimental laboratoris yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

Uji sitotoksisitas menggunakan esei MTT menunjukkan ekstrak daun *Piper betle linn* sebagai larutan irigasi saluran akar gigi tidak toksis dan aman digunakan.

#### **7.2 Saran**

1. Perlu diadakan penelitian serupa menggunakan MTT untuk membandingkan ekstrak daun *Piper betle linn* yang dibuat dengan rebusan atau ekstrak daun *Piper betle linn* yang dibuat dengan pengenceran dengan menggunakan etanol sebagai pelarut.
2. Perlu dilakukan penelitian serupa menggunakan esei MTT pada ekstrak daun *Piper betle linn* dengan konsentrasi lebih dari 25%.
3. Ekstrak daun *Piper betle linn* dengan konsentrasi 7,5% - 25% aman dikonsumsi dan dapat digunakan sebagai alternatif pengganti bahan irigasi saluran akar.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agustin D. 2005. Perbedaan khasiat antibakteri bahan irigasi antara hidrogen peroksida 3% dan infusum daun sirih 20% terhadap bakteri mix. *Maj. Ked. Gigi (Dent. J.)*. Vol.38. No.1. Hlm.45-47.
- Arifin Helmi. 1990. **Evaluasi Aktivitas Antibatuk Ekstrak Air Daun Sirih (*Piper betle* Linn).** *Skripsi*. Institut Teknologi Bandung. P: 55-56.
- Becker MR, Paster BJ, Leys EJ, Moeschberger ML, Kenyon SG, Galvin JL, Boches SK, Dewhirst FE, Griffen AL. 2002. **Molecular Analysis of Bacterial Species Associated with Childhood Caries.** *Journal of Clinical Microbiology, March 2002, , Vol. 40, No. 3.* Boston, Massachusetts: Harvard School of Dental Medicine. p. 1001-1009
- Becker TD and Woollard GW. 2001. **Endodontic irrigation.** *Gen Dent.* 49(3):272-6.
- Beneke E, Sand Roger AL. 1970. **Medical Mycology Manual.** Ed3. Minneapolis: Bangers Publishing Company. P:165-167
- Bhattacharya S., Subramanian M., Roychowdhury S., Bauri A.K., Kamat J.P., Chattopadhyay S., Bandyopadhyay S.K. **Radioprotective Property of The Ethanolic Extract of Piper betel leaf.** 2005. *J. Radiat. Res.*, Vol.46, No.2, 165-171.
- Bisset KA, Davis GHG. 1960. **The Microbial Flora of the Mouth.** London: Heywood and Company LTD. P:79
- Bloom F. 2002. **Buku Ajar Histologi.** Cetakan I. EGC: Jakarta. Hlm 130-133.
- Bowden GH. 1990. **Microbiology of root surface caries in humans.** *Journal of Dental Research, Vol 6.* Canada: International & American Associations for Dental Research Online Journals. P:1205-1210
- Brummitt R.K. and C.E. Powell, 1992: **Authors of plant names.** - Royal Bot.Garden Kew, Kew, p: 732.
- Cenderasari Ni Made. 2005. **Perbedaan Sitotoksisitas Larutan Tetrasiklin Hidroklorida 1% dengan Natrium Hipoklorit 2,5% sebagai Larutan Irigasi Saluran Akar.** *Majalah Kedokteran Gigi; Dental Journal.* Edisi Khusus Temu Ilmiah Nasional IV. Surabaya: Airlangga University Press. P:409-411
- Cohen S, Burns RC. 1994. **Pathway of the Pulp.** 6<sup>th</sup> ed. St. Louis: Mosby. P:296-332, 397
- Daniel, WW. 1991. **Biostatistic Formulation for Analysis in The Health Sciences.** 5<sup>th</sup> ed. New York: John Willey and Sons. P: 155
- Fawcett DW. 2002. **Buku Ajar Histologi.** Ed.12. Alih bahasa Jan Tambayong. Jakarta: EGC. Hlm 1-1-24,131-133.
- Freshney RI. 1987. **Culture Of Animal Cells ( A manual of technique).** 2<sup>nd</sup> ed. Alan R: Liss inc. New York. P 7-12.
- Gage D. 2002. **Aloe vera The Healing Plantation.** [www.aloe.com/aloe](http://www.aloe.com/aloe). P 1-2.
- Harsono V. 2006. **Uji Toksisitas Rebusan Daun Sirih Terhadap Sel Fibroblas Sebagai Iternatif Bahan Irigasi Saluran Akar.** *Skripsi.* Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
- Harty FJ. 1991. **Endodonti Klinis.** Jakarta: Hipokrates. p:21-50
- Hazen EL, Gordon MA. 1970. **Laboratory Identification of Pathogenic Fungi Simplified.** Ed3. Illinois USA: Charles L. Thomas Publisher Sprig Field. P: 134
- Heming W. H. M. 1992. **Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia.** Jakarta : Pustaka Kartini. P 38-39, 100-102.
- Heyne K. 1987. **Tumbuhan Berguna Indonesia, jilid II.** Jakarta : Badan Litbang Kehutanan. P 622-627, 1070
- Indah T.S., 1990. **Pengaruh teknik penyimpanan daun sirih sebagai obat kumur terhadap akumulasi plak gigi dan pertumbuhan *Stropococcus sanguis*.** *Laporan Penelitian.* Universitas Gajah Mada, Yogyakarta. p: 40-41
- Indriati E. 2003. **Efektivitas Larutan Air Sirih Dan Kombinasi Sodium Hipoklorit Dan Hidrogen Peroksida Dalam Irigasi Larutan Akar Untuk Perawatan Endodontik.** *Berkala Ilmu Kedokteran; volume 35 no.2.* p: 103-110

- Laksmingsih Retno. 1990. **Pengaruh Larutan Infusium Dan Sirih terhadap Waktu Perdarahan Ekor Mencit yang Diberi Praperlakuan dengan Aspirin.** *Skripsi.* Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. P:36
- Lemeshow S, Hosmer Jr DW, Klar J, Lwanga SK. 1990. **Adequacy of Sample Size In Health Studies.** Toronto: World Health Organization Pub. John Wiley & Sons. P.9-11.
- Leeson CR. 1996. **Buku Ajar Histologi.** Edisi V. Cetakan VI. EGC: Jakarta. Hlm 116-117.
- Lynch MA, Brightman VJ, Greenberg WS. 1994. **Ilmu Penyakit Mulut.** Ed1. Jakarta: Binarupa aksara. Hlm:267-283
- Moeljanto Rini Damayanti dan Mulyono. 2005. **Khasiat & Manfaat Daun Sirih: Obat Mujarab dari Masa ke Masa.** Jakarta : AgroMedia Pustaka. P 7-11
- Nugrohowati. 2005. **Perbandingan Hasil Kebersihan Dinding Saluran Akar Rebusan Sirih 25% dan NaOCl 2,5%.** *Majalah Kedokteran Gigi; Dental Journal.* Edisi Khusus Temu Ilmiah Nasional IV. Surabaya: Airlangga University Press. P:417-420
- Quinlan CA. 2002. **In vitro cytotoxicity of composite resin and compomer.** *International endodontic journal;* 35: P.47-55.
- Rakhmawati NH. 2005. **Uji Efek Antihelmintik Infusa Dan Ekstrak Etanol 70% Daun Sri Gading (*Nycanthes arbor-tristis*) Terhadap Cacing *Ascaradia galli* Schrank Secara In Vitro Serta Skrining Fitokimianya.** *Skripsi.* F.Farmasi. UMS.
- Siregar F, Hadijono BS. **Uji Sitotoksitas dengan esei MTT.** *Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Indonesia.* 2000; 7 (Edisi Khusus): 28-32
- Soenartyo H, Rianti D. **Uji Sitotoksitas Ekstrak *Coleus ambonicus*, Lour menggunakan esei MTT.** *Maj. Ked. Gigi. (Dent. J.).* Vol. 36. No. 2. April 2003. 54-57.
- Spector TD. 1993. **Pengantar Patologi Umum.** Alih bahasa Sutjipto et al. Edisi Ke-3. Gajah Mada University Press. Hlm 137, 198-202.
- Stock C, Walker R, Gulabivala K. 2004. **Endodontics 3<sup>rd</sup> ed.** British: Elsevier Mosby. p: 147-153
- Suprihati IT. 1990. **Pengaruh Penyimpanan Daun Sirih sebagai Obat Kumur terhadap Akumulasi Plak Gigi dan Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus sanguis*.** *Laporan Penelitian.* Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gajah Mada. P:39-41
- Syafei Ahmad. 1990. **Efektivitas Irigasi Air Sirih pada Perawatan Abses.** *Laporan Penelitian.* Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gajah Mada. P:44-45
- Vianna ME, Gomes BPFA, Sena NT, Zaia AA, Ferraz CCR, Filho FJS. 2005. **In vitro evaluation of the susceptibility of endodontic pathogens to calcium hydroxide combined with different vehicles.** *Braz. Dent. J. vol.16 no.3 Ribeirão Preto Sept./Dec. 2005.* Brazil: State University of Campinas (UNICAMP).
- Walton dan Torabinejad. 1998. **Prinsip dan Praktik Ilmu Endodonsi.** Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. P:15-16,276-278

<http://en.wikipedia.org/wiki/Betel>

Diakses tanggal 2 Agustus 2006

[http://find.stanford.edu/search?q=phenol%](http://find.stanford.edu/search?q=phenol%20)

Diakses tanggal 2 Agustus 2006

<http://warnet.freehosting.net/Sirih.htm>.

Diakses tanggal 2 Agustus 2006

<http://www.agnet.org/library/abstract/rh2003004a.html>

Diakses tanggal 2 Agustus 2006

<http://www.basementshaman.com/pipbetbet.html>

Diakses tanggal 2 Agustus 2006

<http://www.blackwell-synergy.com/links/doi/>

Diakses tanggal 2 Agustus 2006

<http://www.crescentbloom.com/plants/Specimen/PI/Piper%20betel.htm>

Diakses tanggal 2 Agustus 2006

<http://www.dentalarticles.com/fft/search.php?q=anti+microbial>

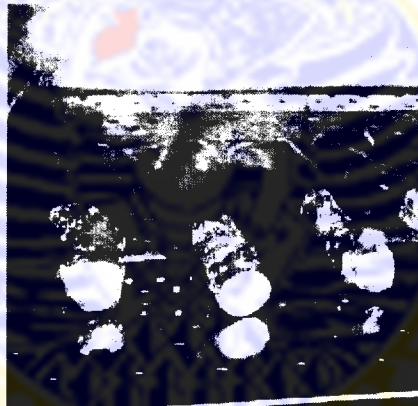
Diakses tanggal 2 Agustus 2006

- <http://www.dunia-ibu.org/sharing/index.php?id=143>  
Diakses tanggal 2 Agustus 2006
- <http://www.emedicine.com/PED/topic2704.htm>  
Diakses tanggal 10 Agustus 2006
- <http://www.gsbs.utmb.edu/microbook/ch012.htm>  
Diakses tanggal 10 Agustus 2006
- <http://www.haldin-natural.com/products/detail.asp?id=200406025ZXRC9792>. Diakses tanggal 2 Agustus 2006.
- <http://www.indomedia.com/intisari/1996/des/sriawan.htm>.  
Diakses tanggal 2 Agustus 2006
- [http://www.landborgen.net/EOL/csm2001.htm#html/Betel\\_nut.htm](http://www.landborgen.net/EOL/csm2001.htm#html/Betel_nut.htm).  
Diakses tanggal 2 Agustus 2006
- <http://www.liebertonline.com/doi/abs/>  
Diakses tanggal 2 Agustus 2006
- <http://www.mayoclinic.com/invoke.cfm?objectid=17D3E958-508B-D3DD-176DE54E3D9BEA84>.  
Diakses tanggal 2 Agustus 2006
- <http://www.molbio.princeton.edu/courses/mb427/2001/projects/02/staph.htm>  
Diakses tanggal 10 Agustus 2006
- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?>  
Diakses tanggal 2 Agustus 2006
- <http://www.pnm.my/Sirihpinang/sp-Sirih.htm>  
Diakses tanggal 2 Agustus 2006
- <http://www.sciencedirect.com/science?>  
Diakses tanggal 2 Agustus 2006
- [http://www.tradewindsfruit.com/betel\\_leaf.htm](http://www.tradewindsfruit.com/betel_leaf.htm)  
Diakses tanggal 2 Agustus 2006

## LAMPIRAN



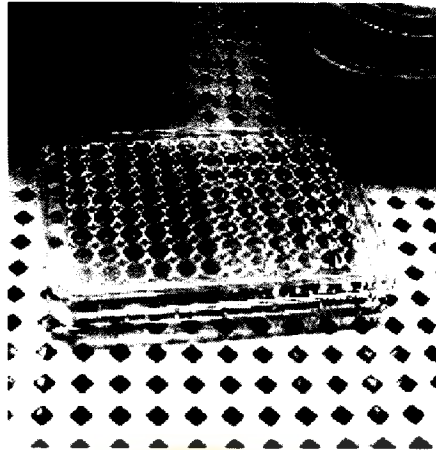
Daun *Piper betle linn* yang digunakan dalam penelitian



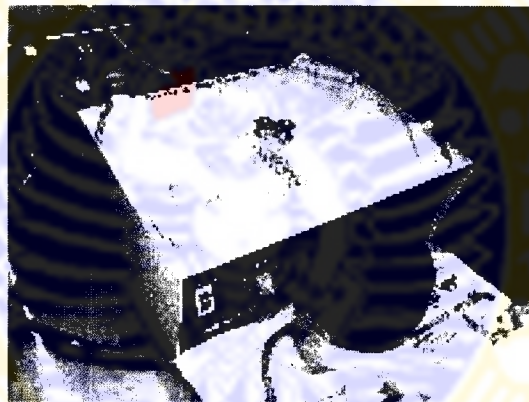
Kultur sel fibroblas dalam botol *Roux* sebelum penelitian dilakukan



Kultur sel fibroblas di dalam tabung *Roux* dapat dilihat langsung melalui mikroskop cahaya



Mikroplat 96-sumur setelah diisi dengan sel dan diberi perlakuan (tanpa MTT)



Mikroplat 96-sumur di atas *shaker* setelah ditambahkan MTT dan pelarut DMSO

steven03

	sel	tritmen
1	.321	1
2	.386	1
3	.296	1
4	.447	1
5	.441	1
6	.215	1
7	.174	1
8	.174	1
9	.350	2
10	.434	2
11	.405	2
12	.353	2
13	.340	2
14	.346	2
15	.285	2
16	.326	2
17	.476	3
18	.190	3
19	.137	3
20	.158	3
21	.161	3
22	.271	3
23	.176	3
24	.168	3
25	.168	4
26	.113	4
27	.067	4
28	.111	4
29	.087	4
30	.130	4
31	.064	4
32	.127	4
33	.135	5
34	.099	5
35	.057	5
36	.091	5
37	.057	5
38	.060	5
39	.092	5

steven03

	sel	tritmen
40	.107	5
41	.401	6
42	.057	6
43	.120	6
44	.039	6
45	.125	6
46	.052	6
47	.131	6
48	.103	6
49	.108	7
50	.151	7
51	.094	7
52	.181	7
53	.098	7
54	.365	7
55	.177	7
56	.177	7
57	.132	8
58	.101	8
59	.351	8
60	.172	8
61	.163	8
62	.078	8
63	.140	8
64	.214	8



## Oneway

### Descriptives

jumlah sel

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
7.5%	8	.30675	.112094	.039631	.21304	.40046
10%	8	.35488	.046008	.016266	.31641	.39334
12.5%	8	.21712	.112011	.039602	.12348	.31077
15%	8	.10838	.034920	.012346	.07918	.13757
20%	8	.08725	.027820	.009836	.06399	.11051
25%	8	.12850	.115864	.040964	.03163	.22537
kontrol +	8	.16888	.087341	.030880	.09586	.24189
kontrol -	8	.04862	.001923	.000680	.04702	.05023
Total	64	.17755	.126360	.015795	.14598	.20911

### Descriptives

jumlah sel

	Minimum	Maximum
7.5%	.174	.447
10%	.285	.434
12.5%	.137	.476
15%	.064	.168
20%	.057	.135
25%	.039	.401
kontrol +	.094	.365
kontrol -	.047	.052
Total	.039	.476

### ANOVA

jumlah sel

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.654	7	.093	14.865	.000
Within Groups	.352	56	.006		
Total	1.006	63			

## Post Hoc Tests

## Multiple Comparisons

Dependent Variable: jumlah sel  
Tukey HSD

(I) konsentrasi daun sirih	(J) konsentrasi daun sirih	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
7.5%	10%	-.04813	.039638	.924
	12.5%	.08963	.039638	.333
	15%	.19838*	.039638	.000
	20%	.21950*	.039638	.000
	25%	.17825*	.039638	.001
	kontrol +	.13788*	.039638	.021
	kontrol -	.25813*	.039638	.000
10%	7.5%	.04813	.039638	.924
	12.5%	.13775*	.039638	.021
	15%	.24650*	.039638	.000
	20%	.26763*	.039638	.000
	25%	.22638*	.039638	.000
	kontrol +	.18600*	.039638	.000
	kontrol -	.30625*	.039638	.000
12.5%	7.5%	-.08963	.039638	.333
	10%	-.13775*	.039638	.021
	15%	.10875	.039638	.131
	20%	.12987*	.039638	.036
	25%	.08862	.039638	.347
	kontrol +	.04825	.039638	.923
	kontrol -	.16850*	.039638	.002
15%	7.5%	-.19838*	.039638	.000
	10%	-.24650*	.039638	.000
	12.5%	-.10875	.039638	.131
	20%	.02113	.039638	.999
	25%	-.02013	.039638	1.000
	kontrol +	-.06050	.039638	.790
	kontrol -	.05975	.039638	.800
20%	7.5%	-.21950*	.039638	.000
	10%	-.26763*	.039638	.000
	12.5%	-.12987*	.039638	.036
	15%	-.02113	.039638	.999
	25%	-.04125	.039638	.966
	kontrol +	-.08163	.039638	.453
	kontrol -	.03863	.039638	.976
25%	7.5%	-.17825*	.039638	.001
	10%	-.22638*	.039638	.000
	12.5%	-.08862	.039638	.347
	15%	.02013	.039638	1.000
	20%	.04125	.039638	.966
	kontrol +	-.04037	.039638	.970
	kontrol -	.07988	.039638	.481

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: jumlah sel  
Tukey HSD

(I) konsentrasi daun sirih	(J) konsentrasi daun sirih	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
kontrol +	7.5%	-.13788*	.039638	.021
	10%	-.18600*	.039638	.000
	12.5%	-.04825	.039638	.923
	15%	.06050	.039638	.790
	20%	.08163	.039638	.453
	25%	.04037	.039638	.970
	kontrol -	.12025	.039638	.067
kontrol -	7.5%	-.25813*	.039638	.000
	10%	-.30625*	.039638	.000
	12.5%	-.16850*	.039638	.002
	15%	-.05975	.039638	.800
	20%	-.03863	.039638	.976
	25%	-.07988	.039638	.481
	kontrol +	-.12025	.039638	.067

## Multiple Comparisons

Dependent Variable: jumlah sel  
Tukey HSD

		95% Confidence Interval	
(I) konsentrasi daun sirih	(J) konsentrasi daun sirih	Lower Bound	Upper Bound
7.5%	10%	-.17292	.07667
	12.5%	-.03517	.21442
	15%	.07358	.32317
	20%	.09471	.34429
	25%	.05346	.30304
	kontrol +	.01308	.26267
	kontrol -	.13333	.38292
10%	7.5%	-.07667	.17292
	12.5%	.01296	.26254
	15%	.12171	.37129
	20%	.14283	.39242
	25%	.10158	.35117
	kontrol +	.06121	.31079
	kontrol -	.18146	.43104
12.5%	7.5%	-.21442	.03517
	10%	-.26254	-.01296
	15%	-.01604	.23354
	20%	.00508	.25467
	25%	-.03617	.21342
	kontrol +	-.07654	.17304
	kontrol -	.04371	.29329
15%	7.5%	-.32317	-.07358
	10%	-.37129	-.12171
	12.5%	-.23354	.01604
	20%	-.10367	.14592
	25%	-.14492	.10467
	kontrol +	-.18529	.06429
	kontrol -	-.06504	.18454
20%	7.5%	-.34429	-.09471
	10%	-.39242	-.14283
	12.5%	-.25467	-.00508
	15%	-.14592	.10367
	25%	-.16604	.08354
	kontrol +	-.20642	.04317
	kontrol -	-.08617	.16342
25%	7.5%	-.30304	-.05346
	10%	-.35117	-.10158
	12.5%	-.21342	.03617
	15%	-.10467	.14492
	20%	-.08354	.16604
	kontrol +	-.16517	.08442
	kontrol -	-.04492	.20467

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: jumlah sel  
Tukey HSD

(I) konsentrasi daun sirih	(J) konsentrasi daun sirih	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound
kontrol +	7.5%	-.26267	-.01308
	10%	-.31079	-.06121
	12.5%	-.17304	.07654
	15%	-.06429	.18529
	20%	-.04317	.20642
	25%	-.08442	.16517
	kontrol -	-.00454	.24504
kontrol -	7.5%	-.38292	-.13333
	10%	-.43104	-.18146
	12.5%	-.29329	-.04371
	15%	-.18454	.06504
	20%	-.16342	.08617
	25%	-.20467	.04492
	kontrol +	-.24504	.00454

\*. The mean difference is significant at the .05 level.

**Homogeneous Subsets**

jumlah sel

Tukey HSD<sup>a</sup>

konsentrasi daun sirih	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
kontrol -	8	.04862			
20%	8	.08725			
15%	8	.10838	.10838		
25%	8	.12850	.12850		
kontrol +	8	.16888	.16888		
12.5%	8		.21712	.21712	
7.5%	8			.30675	.30675
10%	8				.35488
Sig.		.067	.131	.333	.924

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000.

**NPar Tests****One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		jumlah sel
N		8
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	.30675
	Std. Deviation	.112094
Most Extreme Differences	Absolute	.168
	Positive	.168
	Negative	-.135
Kolmogorov-Smirnov Z		.476
Asymp. Sig. (2-tailed)		.977

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**NPar Tests****One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		jumlah sel
N		8
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	.35487
	Std. Deviation	.046008
Most Extreme Differences	Absolute	.266
	Positive	.266
	Negative	-.140
Kolmogorov-Smirnov Z		.753
Asymp. Sig. (2-tailed)		.622

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**NPar Tests****One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		jumlah sel
N		8
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	.21712
	Std. Deviation	.112011
Most Extreme Differences	Absolute	.346
	Positive	.346
	Negative	-.237
Kolmogorov-Smirnov Z		.978
Asymp. Sig. (2-tailed)		.295

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**NPar Tests**

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		jumlah sel
N		8
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	.10837
	Std. Deviation	.034920
Most Extreme Differences	Absolute	.155
	Positive	.143
	Negative	-.155
Kolmogorov-Smirnov Z		.438
Asymp. Sig. (2-tailed)		.991

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**IPar Tests****One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		jumlah sel
N		8
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	.08725
	Std. Deviation	.027820
Most Extreme Differences	Absolute	.211
	Positive	.211
	Negative	-.179
Kolmogorov-Smirnov Z		.598
Asymp. Sig. (2-tailed)		.867

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**IPar Tests****One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		jumlah sel
N		8
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	.12850
	Std. Deviation	.115864
Most Extreme Differences	Absolute	.366
	Positive	.366
	Negative	-.220
Kolmogorov-Smirnov Z		1.036
Asymp. Sig. (2-tailed)		.233

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**IPar Tests**

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		jumlah sel
N		8
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	.16887
	Std. Deviation	.087341
Most Extreme Differences	Absolute	.320
	Positive	.320
	Negative	-.196
Kolmogorov-Smirnov Z		.905
Asymp. Sig. (2-tailed)		.387

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**WPar Tests****One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		jumlah sel
N		8
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	.04862
	Std. Deviation	.001923
Most Extreme Differences	Absolute	.252
	Positive	.252
	Negative	-.199
Kolmogorov-Smirnov Z		.714
Asymp. Sig. (2-tailed)		.688

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.