

**SENSITIVITAS *Streptococcus mutans* ATCC 25175 DAN *Candida albicans* ATCC 10231 TERHADAP ANTIBAKTERI SODIUM LAURIL SULFAT, HIDROGEN PEROKSIDA DAN TRIKLOSAN YANG TERKANDUNG DALAM PASTA GIGI**



**oleh :**

**Siti Mutmainah  
20144265A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2018**

**SENSITIVITAS *Streptococcus mutans* ATCC 25175 DAN *Candida albicans* ATCC 10231 TERHADAP ANTIBAKTERI SODIUM LAURIL SULFAT, HIDROGEN PEROKSIDA DAN TRIKLOSAN YANG TERKANDUNG DALAM PASTA GIGI**

**SKRIPSI**

 *Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai derajat Sarjana Farmasi (S.Farm) Program Studi SI-Farmasi pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi*

**oleh :**

**Siti Mutmainah  
20144265A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2018**

## PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul :

**SENSITIVITAS *Streptococcus mutans* ATCC 25175 DAN *Candida albicans* ATCC 10231 TERHADAP ANTIBAKTERI SODIUM LAURIL SULFAT, HIDROGEN PEROKSIDA DAN TRIKLOSAN YANG TERKANDUNG DALAM PASTA GIGI**

Oleh:

**Siti Mutmainah  
20144265A**

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi  
Pada tanggal: 8 Maret 2018



Dekan

Mengetahui,  
Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi

Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt

Pembimbing Utama

Dr. Ana Indrayati, M.Si.

Pembimbing Pendamping

Lukito Mindi Cahyo, SKG., M.Ph

**Penguji:**

1. Dra. Nony Puspawati, M.Si
2. Hery Muhamad Ansory, S.Pd., M.Sc
3. Anita Nilawati, M.Farm., Apt
4. Dr. Ana Indrayati, M.Si

## **HALAMAN PERSEMBAHAN**

**YA ALLAH**, syukur Alhamdulillah kupanjatkan kepadaMu, karena atas rahmatMu hingga aku bisa mempersembahkan karya kecilku ini untuk orang-orang terkasih dalam hidup..

“Sholat sebagai tiang agamaku sebagai kewajiban dan tuntutan hidupku, Al-Quran dan hadis sebagai petunjuk dan pedoman serta do’a sebagai bukti lemahnya diriku dihadapan Allah SWT”

Sekripsi ini saya persembahkan terutama untuk Bapak dan Mamah tercinta yang telah membesarkan, menyayangiku hingga saat ini penuh kesabaran dan kasih sayang, selalu mengajarkanku untuk menjadi anak yang kuat dan tegar. Yang tanpa kalian aku bukanlah siapa-siapa di dunia fana ini Mamah-Bapak tersayang.

Terima kasih...

Kepada adikku tercinta terima kasih untuk dukungannya tugas akhir ini ku persembahkan untuk jadi motivasi dan pengingat semangatmu. Serta kepada mbah dan seluruh keluarga besarku terimakasih atas doa dan dukungannya selama ini.

Aku persembahkan juga untuk kamu yang selalu ada di setiap cerita. Untuk kamu yang selalu menjadi alasan tersenyum dan terus melangkah walau goyah, untuk terus berusaha dan pantang menyerah. Teruntuk kamu yang selalu ada dikala susah dan senang. Terima kasih..

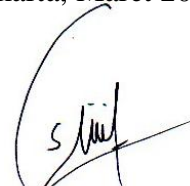
Untuk teman-temanku tersayang yang selama ini selalu mendukungku, serta Almamaterku.

## **PERNYATAAN**

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan disuatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila sekripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, Maret 2018



Siti Mutmainah

## KATA PENGANTAR

Segala Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan segala rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“SENSITIVITAS *Streptococcus mutans* ATCC 25175 DAN *Candida albicans* ATCC 10231 TERHADAP ANTIBAKTERI SODIUM LAURIL SULFAT, HIDROGEN PEROKSIDA DAN TRIKLOSAN YANG TERKANDUNG DALAM PASTA GIGI”**. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai derajat Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, untuk itu penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada :

1. Dr. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
2. Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., Apt., Selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Dr. Ana Indrayati, M. Si., selaku Dosen pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, arahan, nasehat, dan semangat sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. Lukito Mindi Cahyo, SKG., M.Ph, selaku dosen pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, dan koreksi pada penulis.
5. Tim penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan masukan dan saran yang membangun untuk memperbaiki skripsi ini.
6. Segenap Dosen, Karyawan dan Staf Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah banyak membantu bagi kelancaran pelaksanaan skripsi ini.
7. Perpustakaan Universitas Setia Budi, tempat mencari sumber buku untuk menyelesaikan dan menyempurnakan skripsi ini.
8. Untuk yang sangat kucintai, Bapak, Mamah, Adek, Mbah dan keluarga, terima kasih untuk doa yang tiada henti, semangat, dan perhatian yang tulus.

9. Untuk kamu yang selalu memberi semangat dan selalu sabar dalam menghadapiku, yang membimbingku untuk menjadi yang lebih baik.
10. Teman-teman yang tidak bisa disebutkan satu persatu terima kasih atas doa, dukungan dan bantuannya hingga skripsi ini selesai.
11. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dan kelemahan dalam menyusun skripsi ini, untuk itu kritik dan saran dari pembaca yang bersifat membangun sangat penulis harapkan dan akan penulis terima dengan tangan terbuka dan senang hati.

Akhir kata semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis dan pembaca supaya bisa menambah pengetahuan.

Surakarta, Maret 2018

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	i
PENGESAHAN SKRIPSI .....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	iii
PERNYATAAN .....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	x
DAFTAR TABEL .....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
INTISARI.....	xiv
ABSTRACT .....	xv
 BAB I    PENDAHULUAN .....	 1
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah .....	3
C. Tujuan Penelitian .....	3
D. Manfaat Penelitian.....	4
 BAB II    TINJAUAN PUSTAKA.....	 5
A. Rongga Mulut .....	5
1. Definisi rongga mulut.....	5
2. Karies.....	5
3. Plak gigi .....	5
4. Hubungan plak dengan karies gigi.....	6
4.1 Faktor host atau tuan rumah.....	6
4.2 Faktor agen atau mikroorganisme.....	6
4.3 Faktor substrat atau diet.....	6
4.4 Faktor waktu.....	6
5. Bakteri Rongga Mulut .....	6
B. <i>S. mutans</i> ATCC 25175.....	7
1. Sistematik bakteri.....	7
2. Morfologi.....	7
3. Patogenesis.....	8
C. <i>C. albicans</i> ATCC 10231 .....	9
1. Sistematik bakteri.....	9



2.	Morfologi.....	9
3.	Patogenesis.....	10
D.	Pasta Gigi.....	10
E.	Komponen Pasta Gigi.....	11
F.	Monografi Bahan .....	12
1.	Triklosan.....	12
2.	Sodium Lauril Sulfat (SLS) .....	13
3.	Hidrogen Peroksida (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) .....	14
4.	Aquadest .....	15
G.	Antimikroba.....	16
1.	Definisi Antimikroba.....	16
2.	Mekanisme Kerja Antimikroba.....	16
2.1	Agen yang menghambat sintesis dinding sel bakteri.....	16
2.2	Agen yang bekerja secara langsung pada membran sel mikroorganisme .....	17
2.3	Agen yang mengganggu fungsi ribosom subunit 30S atau 50S secara reversibel menghambat sintesis protein .....	17
2.4	Agen yang mempengaruhi metabolisme asam nukleat bakteri.....	17
2.5	Antimetabolit. ....	17
3.	Pengujian Aktivitas Antimikroba.....	18
3.1	Metode Difusi. ....	18
3.2	Metode Dilusi.....	18
4.	Uji aktivitas antifungi .....	18
H.	Sterilisasi .....	18
I.	Media.....	19
1.	Pengertian media .....	19
2.	Macam-macam media .....	19
2.1	Medium cair.....	19
2.2	Medium padat. ....	19
2.3	Medium setengah padat.....	19
J.	Pewarnaan.....	20
1.	Definisi Pewarnaan Gram.....	20
2.	Prinsip Pewarnaan Gram .....	20
K.	Landasan Teori.....	20
L.	Hipotesis .....	22
BAB III METODE PENELITIAN .....		23
A.	Rancangan Penelitian .....	23
B.	Populasi dan Sampel .....	23
C.	Variabel Penelitian.....	23
1.	Identifikasi variabel utama .....	23
2.	Klasifikasi variabel utama .....	24
3.	Definisi operasional variabel utama .....	24

D. Alat dan Bahan.....	25
1. Alat .....	25
2. Bahan.....	25
2.1 Bahan Kimia. ....	25
2.2 Mikroba Uji.....	25
E. Jalannya Penelitian.....	26
1. Tahap Persiapan .....	26
1.1 Sterilisasi .....	26
1.2 Persiapan Sampel .....	26
1.3 Pembuatan media .....	26
1.4 Pengenceran larutan zat kimia .....	27
1.5 Identifikasi bakteri <i>S. mutans</i> ATCC 25175.....	27
1.5.2 Isolasi pada medium MH darah. ....	28
1.6 Identifikasi jamur <i>C. albicans</i> ATCC 10231 .....	29
2. Tahap Pengujian.....	29
2.1 Metode difusi agar.....	29
2.2 Metode dilusi. ....	30
F. Analisis Data.....	32
G. Kerangka Penelitian .....	33
 BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	 39
A. Hasil Penelitian Bakteri Uji <i>S. mutans</i> ATCC 25175 dan Jamur <i>C. albicans</i> ATCC 10231 .....	39
1. Hasil identifikasi bakteri <i>S. mutans</i> ATCC 25175 .....	39
1.1 Hasil suspensi bakteri uji <i>S. mutans</i> ATCC. ....	39
1.2 Hasil identifikasi bakteri secara goresan. ....	39
1.3 Identifikasi mikroskopis dengan pewarnaan Gram. ....	39
1.4 Tes katalase. ....	41
2. Hasil identifikasi jamur <i>C. albicans</i> ATCC 10231 .....	42
2.1. Hasil suspensi .....	42
2.2. Hasil identifikasi jamur secara goresan. Jamur .....	42
2.4. Hasil identifikasi biokimia. ....	43
3. Hasil pengujian aktivitas antimikroba terhadap bakteri <i>S. mutans</i> ATCC 25175 dan jamur <i>C. albicans</i> ATCC 10231 secara difusi .....	43
4. Hasil pengujian aktivitas antimikroba terhadap bakteri <i>S. mutans</i> ATCC 25175 dan jamur <i>C. albicans</i> ATCC 10231 secara dilusi.....	48
 BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....	 53
A. Kesimpulan .....	53
B. Saran.....	53
 DAFTAR PUSTAKA .....	 54
 LAMPIRAN .....	 61

## DAFTAR GAMBAR

### Halaman

Gambar 1. Rumus kimia Triklosan $C_{12}H_7Cl_3O_2$ (Houwink, 1993) .....	13
Gambar 2. Struktur Sodium Lauril Sulfat (Osman, 2007) .....	13
Gambar 3. Hidrogen Peroksida .....	14
Gambar 4. Kerangka Penelitian Bakteri <i>S. mutans</i> ATCC 25175 .....	33
Gambar 5. Kerangka Penelitian <i>C. albicans</i> ATCC 10231 .....	34
Gambar 6. Skema uji <i>S. mutans</i> ATCC 25175 dengan metode difusi .....	35
Gambar 7. Skema uji <i>C. albicans</i> ATCC 10231 dengan metode difusi .....	36
Gambar 8. Skema uji <i>S. mutans</i> ATCC 25175 dengan metode dilusi .....	37
Gambar 9. Skema uji <i>C. albicans</i> ATCC 10231 dengan metode dilusi .....	38

## DAFTAR TABEL

### Halaman

Tabel 1.	Hasil uji sensitivitas bakteri <i>S. mutans</i> ATCC 25175 terhadap antibakteri sodium lauril sulfat, hidrogen peroksida dan triklosan yang terkandung dalam pasta gigi metode difusi .....	44
Tabel 2.	Hasil uji sensitivitas jamur <i>C. albicans</i> terhadap antibakteri sodium lauril sulfat, hidrogen peroksida dan triklosan yang terkandung dalam pasta gigi metode difusi .....	44
Tabel 3.	Hasil uji sensitivitas <i>S. mutans</i> ATCC 25175 terhadap antibakteri sodium lauril sulfat yang terkandung dalam pasta gigi metode dilusi.....	49
Tabel 4.	Hasil uji sensitivitas <i>C. albicans</i> ATCC 10231 terhadap antibakteri sodium lauril sulfat yang terkandung dalam pasta gigi metode dilusi.....	49

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Foto bahan kimia.....	62
Lampiran 2. Foto antimikroba .....	63
Lampiran 3. Foto pengenceran zat kimia sodium lauril sulfat .....	64
Lampiran 4. Foto pengenceran zat kimia triklosan.....	65
Lampiran 5. Foto pengenceran zat kimia hidrogen peroksida .....	66
Lampiran 6. Foto suspensi bakteri <i>S. mutans</i> ATCC 25175 dan identifikasi bakteri dengan pewarnaan Gram .....	67
Lampiran 7. Foto identifikasi bakteri <i>S. mutans</i> ATCC 25175 secara biokimia dengan membandingkan bakteri <i>S. aureus</i> ATCC 25923 .....	68
Lampiran 8. Foto hasil uji antibakteri sodium lauril sulfat, triklosan dan hidrogen peroksida terhadap <i>S. mutan</i> ATCC 25175 konsentrasi 12% .....	69
Lampiran 9. Foto hasil uji antibakteri sodium lauril sulfat, triklosan dan hidrogen peroksida terhadap <i>S. mutan</i> ATCC 25175 konsentrasi 6% .....	71
Lampiran 10. Foto hasil uji antibakteri sodium lauril sulfat, triklosan dan hidrogen peroksida terhadap <i>S. mutan</i> ATCC 25175 konsentra 3%.....	73
Lampiran 11. Foto hasil dilusi dan inokulasi sodium lauril sulfat terhadap <i>S. mutans</i> ATCC 25175.....	75
Lampiran 12. Foto serum untuk penyuburan jamur <i>C. albicans</i> ATCC 10231 .....	78
Lampiran 13. Foto suspensi jamur <i>C. albicans</i> ATCC 10231 dan identifikasi mikroskop.....	79
Lampiran 14. Foto hasil inokulasi dan identifikasi biokimia <i>C. albicans</i> ATCC 10231 .....	80
Lampiran 15. Foto hasil uji antijamur sodium lauril sulfat, triklosan dan hidrogen peroksida terhadap <i>C. albicans</i> ATCC 10231 konsentrasi 12% .....	81

Lampiran 16. Foto hasil uji antijamur sodium lauril sulfat, triklosan dan hidrogen peroksida terhadap <i>C. albicans</i> ATCC 10231 konsentrasi 6% .....	82
Lampiran 17. Foto hasil uji antijamur sodium lauril sulfat, triklosan dan hidrogen peroksida terhadap <i>C. albicans</i> ATCC 10231 konsentrasi 3% .....	83
Lampiran 18. Foto hasil dilusi dan inokulasi sodium lauril sulfat terhadap <i>C. albicans</i> ATCC 10231 .....	84
Lampiran 19. Gambar Alat.....	87
Lampiran 20. Foto pewarnaan untuk identifikasi jamur <i>C. albicans</i> ATCC 10231 dan <i>S. mutans</i> ATCC 25175.....	89
Lampiran 21. Perhitungan pengenceran zat kimia sodium lauril sulfat (SLS) ....	90
Lampiran 22. Perhitungan pengenceran zat kimia triklosan .....	91
Lampiran 23. Perhitungan pengenceran zat kimia hidrogen peroksida .....	92
Lampiran 24. Pembuatan media .....	93
Lampiran 25. Analisis data uji anova antara zat kimia SLS, triklosan, hidrogen peroksida konsentrasi 12%, 6%, 3% pada bakteri <i>S. mutans</i> ATCC 25175.....	97
Lampiran 26. Analisis data uji anova antara zat kimia SLS, triklosan, hidrogen peroksida konsentrasi 12%, 6%, 3% pada jamur <i>C. albicans</i> ATCC 10231 .....	103

## INTISARI

**MUTMAINAH, S. 2018. SENSITIVITAS *Streptococcus mutans* ATCC 25175 DAN *Candida albicans* ATCC 10231 TERHADAP ANTIBAKTERI SODIUM LAURIL SULFAT, HIDROGEN PEROKSIDA DAN TRIKLOSAN YANG TERKANDUNG DALAM PASTA GIGI, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.**

Plak merupakan penyebab dari karies gigi, berupa lapisan lembut yang terbentuk dari beberapa campuran diantaranya leukosit, enzim, makrofag, komponen anorganik, matriks ekstraseluler, sisa-sisa makanan serta bakteri yang melekat pada permukaan gigi. Karies gigi merupakan kerusakan jaringan keras gigi yang disebabkan oleh asam yang ada dalam karbohidrat melalui perantara mikroorganisme yang ada dalam saliva. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antimikroba SLS, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan triklosan terhadap *S. mutans* ATCC 25175 dan *C. albicans* ATCC 10231.

Uji sensitivitas antimikroba dilakukan menggunakan metode difusi dan dilusi. Konsentrasi yang digunakan dalam metode difusi adalah 12%, 6%, dan 3% bertujuan untuk mengetahui zat teraktif dan membandingkan sensitivitas antara *S. mutans* ATCC 25175 dan *C. albicans* ATCC 10231 terhadap zat kimia yang paling aktif. Zat kimia teraktif kemudian dilakukan uji dilusi untuk mengetahui nilai KHM dan KBM. Analisis statistik menggunakan ANOVA *oneway* guna mengetahui ada tidaknya perbedaan yang signifikan antara sediaan uji.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa SLS, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan triklosan mempunyai aktifitas antimikroba. Zat kimia yang paling aktif terhadap *S. mutans* ATCC dan *C. albicans* ATCC 10231 adalah SLS, SLS lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans* ATCC 10231. Nilai KHM dan KBM zat kimia SLS terhadap *S. mutans* ATCC 25175 dan *C. albicans* ATCC 10231 masing-masing adalah 0,75%, dan 0,187%.

Kata kunci : SLS, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan triklosan, *S. mutans* ATCC 25175, *C. albicans* ATCC 10231.

## ABSTRACT

**MUTMAINAH, S. 2018. SENSITIVITAS *Streptococcus mutans* ATCC 25175 AND *Candida albicans* ATCC 10231 ON ANTIBACTERY SODIUM LAURIL SULFAT, HYDROGEN PEROXIDE AND TRICLOSAN CONTAINED IN DENTAL PASTA, THRIPSI, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.**

Plaque is the cause of dental caries, a soft layer formed from several mixtures including leucocytes, enzymes, macrophages, inorganic components, extracellular matrix, food debris and bacteria attached to the tooth surface. Dental caries is the destruction of hard tissues of teeth caused by the acid present in carbohydrates through intermediate microorganisms present in the saliva. This study aims to determine the antimicrobial activity of SLS, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and triclosan to *S. mutans* ATCC 25175 and *C. albicans* ATCC 10231.

Antimicrobial sensitivity test was performed using diffusion and dilution methods. The concentrations used in the diffusion method were 12%, 6%, and 3% aimed at knowing the most active substances and comparing the sensitivity between *S. mutans* ATCC 25175 and *C. albicans* ATCC 10231 against the most active chemicals. The most active chemistry was then diluted to determine the value of KHM and KBM. Statistical analysis using ANOVA oneway to determine whether there is a significant difference between the test preparation.

The results showed that sodium lauryl sulphate SLS, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and triclosan had antimicrobial activity. The most active chemicals to *S. mutans* ATCC and *C. albicans* ATCC 10231 are SLS, SLS is more effective in inhibiting the growth of *C. albicans* ATCC 10231 fungi. KHM value and KBM of SLS chemicals against *S. mutans* ATCC 25175 and *C. albicans* ATCC 10231 respectively are 0.75%, and 0.187%.

Keywords: SLS, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and triclosan, *S. mutans* ATCC 25175, *C. albicans* ATCC 10231.



## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **A. Latar Belakang**

Salah satu masalah tentang kesehatan mulut dan gigi, yaitu plak gigi, yang disebabkan oleh pembentukan biofilm oleh mikroba mulut (Marsh, 2006). Karies gigi merupakan kerusakan jaringan keras gigi yang disebabkan oleh asam yang ada dalam karbohidrat melalui perantara mikroorganisme yang ada dalam saliva (Samad, 2008). Plak merupakan penyebab dari karies gigi, berupa lapisan lembut yang terbentuk dari beberapa campuran diantaranya leukosit, enzim, makrofag, komponen anorganik, matriks ekstraseluler, sisa-sisa makanan serta bakteri yang melekat pada permukaan gigi (Dewi, 2011).

*Streptococcus mutans* (*S. mutans*) merupakan flora normal yang dapat menyebabkan terjadinya karies dalam rongga mulut yang berperan dalam proses fermentasi karbohidrat sehingga menghasilkan asam dan menyebabkan terjadinya demineralisasi gigi (Zaenab, 2004). Karies yang dibiarkan dan tidak diobati, lambat laun akan mengakibatkan peradangan pulpa. Peradangan pulpa akan mempermudah terjadinya kerusakan pada jaringan dibawahnya dan menyebabkan invasi *S. mutans* ke aliran darah (Maghfirah, 2014).

Mikroorganisme selain bakteri yang juga berperan dalam kesehatan rongga mulut adalah jamur *Candida albicans* (*C. albicans*) merupakan jamur komensal yang bersifat patogen oportunistik baik berasal dari faktor endogen maupun eksogen (Akpan dan Morgan, 2002). Pertumbuhan *Candida* yang berlebih dapat menyebabkan infeksi kandidiasis, infeksi superfisial (kandidiasis oral dan kandidiasis vulvovaginal) hingga infeksi sistemik (Mayer *et al*, 2013; Yun, 2003). Infeksi *Candida* pada manusia sebanyak 70% disebabkan oleh *C. albicans* (Simatupang, 2009).

Pengendalian plak dapat dilakukan secara mekanis dengan cara menyikat gigi untuk mengontrol karies ataupun penyakit periodontal dan penggunaan bahan antikuman terutama untuk menekan mikroorganisme mulut yang berasal dari bahan aktif alami maupun sintetik yang tersedia didalam larutan kumur dan pasta gigi (Pratiwi, 2005). Pasta gigi secara umum memiliki kandungan bahan-bahan

penting seperti bahan abrasif, air, humektant, perasa dan pemanis, bahan-bahan aktif, gel, bahan pengikat, bahan pewarna dan pengawet serta surfaktan Sodium lauril sulfat (SLS) (Duggal *et al*, 2014).

SLS berperan sebagai detergen dalam pasta gigi dengan konsentrasi 1,5%-5%. Fungsi SLS ini adalah bekerja menurunkan tegangan permukaan dengan menghasilkan busa serta mikroemulsi (Roslan *et al*, 2009). Hal tersebut cukup memberikan efek antibakteri dan sifat penghambatan plak (Moore, 2008). Menurut studi Landa *et al*, SLS bekerja dengan melakukan penetrasi ke dalam biofilm, sehingga dapat berperan sebagai antimikroba (Salzer, 2016). SLS juga berperan dalam menghambat pertumbuhan sejumlah mikroorganisme melalui aksi absorpsi dan penetrasi melalui pori-pori dinding sel, diikuti oleh interaksi dengan komponen sel membran, lipid dan protein (Nordstrom, 2009).

Triklosan adalah antiseptik bisfenol klorinasi, efektif terhadap bakteri gram positif dan bakteri gram negatif serta aktif terhadap jamur. Triklosan 0,3% tunggal dalam pasta gigi dapat menghambat akumulasi plak (Sweetman *et al*, 2009). Triklosan memiliki aktivitas antibakteri dengan masuk ke dalam sel bakteri dan mengganggu fungsi membran sel dan sintesis RNA, asam lemak, dan protein. Triklosan juga mampu menghalangi sisi yang aktif pada enzim reduktase bakteri yang berfungsi untuk mensintesis asam lemak (Thifal, 2016).

Hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) 3% merupakan bahan irigasi yang dapat mengangkat kotoran dari hasil preparasi saluran akar (Agustin, 2005).  $H_2O_2$  lebih efektif dalam menghambat bakteri anaerobik karena kekurangan enzim katalase, yang mampu merusak peroksida. Fungsi  $H_2O_2$  sebagai antimikroba tergantung pada kemampuan oksidatifnya. Kemampuan untuk mengoksidasi menyebabkan perubahan tetap pada sistem enzim sel mikroba (Davidson dan Branen, 1993). Penelitian yang dilakukan oleh Silhacek dan Taake pada tahun 2005 di Nebraska yang menguji pengaruh  $H_2O_2$  terhadap pertumbuhan mikroba dan dianalisis dengan spektrophotometer, menunjukkan bahwa  $H_2O_2$  memiliki efek antimikroba.

Berdasarkan latar belakang diatas maka dilakukan penelitian tentang sensitivitas *S. mutans* ATCC 25175 dan *C. albicans* ATCC 10231 terhadap SLS,  $H_2O_2$  dan triklosan serta untuk mengetahui apakah senyawa kimia tersebut

mampu mematikan mikroorganisme mulut atau dari kandungan senyawa kimia lain.

### **B. Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang masalah tersebut, maka dapat dirumuskan permasalahan dalam penelitian sebagai berikut :

1. Zat kimia SLS,  $H_2O_2$  dan triklosan memiliki aktifitas antimikroba namun kemampuan zat tersebut dalam menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri *S. mutans* ATCC 25175 dan jamur *C. albicans* ATCC 10231 belum pernah diteliti.
2. Keaktifan zat kimia SLS,  $H_2O_2$  dan triklosan dalam menghambat bakteri *S. mutans* ATCC 25175 dan jamur *C. albicans* ATCC 10231 belum pernah diteliti.
3. Sensitivitas antara bakteri *S. mutans* ATCC 25175 dan jamur *C. albicans* ATCC 10231 terhadap zat kimia yang paling aktif belum diketahui.
4. Nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) dan nilai konsentrasi bunuh minimum (KBM) dari zat kimia SLS,  $H_2O_2$  dan triklosan terhadap bakteri *S. mutans* ATCC 25175 dan jamur *C. albicans* ATCC 10231 belum pernah dilaporkan.

### **C. Tujuan Penelitian**

1. Mengetahui aktivitas antimikroba zat kimia SLS,  $H_2O_2$  dan triklosan terhadap bakteri *S. mutans* ATCC 25175 dan jamur *C. albicans* ATCC 10231.
2. Mengetahui zat kimia SLS,  $H_2O_2$  dan triklosan yang paling aktif dalam menghambat bakteri *S. mutans* ATCC 25175 dan jamur *C. albicans* ATCC 10231.
3. Membandingkan sensitivitas antara bakteri *S. mutans* ATCC 25175 dan jamur *C. albicans* ATCC 10231 terhadap zat kimia yang paling aktif.
4. Menentukan nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) dan nilai konsentrasi bunuh minimum (KBM) dari zat teraktif terhadap bakteri *S. mutans* ATCC 25175 dan jamur *C. albicans* ATCC 10231.

#### **D. Manfaat Penelitian**

Dari hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi mengenai sensitivitas *S. mutans* ATCC 25175 dan *C. albicans* ATCC 10231 terhadap SLS, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan triklosan serta memberikan manfaat bagi masyarakat luas mengenai pemilihan kandungan senyawa kimia yang tepat pada pasta gigi sebagai penghambat pertumbuhan mikroorganisme.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Rongga Mulut**

##### **1. Definisi rongga mulut**

Rongga mulut merupakan pintu awal masuknya berbagai macam mikroorganisme ke dalam tubuh, mikroorganisme tersebut masuk bersama makanan atau minuman, dan dinetralkan oleh zat anti bakteri yang dihasilkan oleh kelenjar ludah yang akan berkompetisi dengan bakteri flora normal di rongga mulut untuk dapat berkembang pada lingkungan tersebut (Caranza dan Newman, 2002). Flora normal dalam keadaan tertentu bisa berubah menjadi patogen karena adanya faktor predisposisi yaitu kebersihan rongga mulut. Sisa-sisa makanan dalam rongga mulut akan diuraikan oleh bakteri menghasilkan asam, asam yang terbentuk menempel pada email menyebabkan demineralisasi akibatnya terjadi karies gigi (Jawetz *et al*, 1986).

##### **2. Karies**

Karies gigi adalah penyakit infeksi mikrobiologi pada gigi yang menyebabkan kerusakan lokal dan kerusakan jaringan. Kavitas pada gigi merupakan tanda awal adanya infeksi bakteri. Pada praktek klinik, biasanya karies tidak terlihat dan kebanyakan fokus sepenuhnya pada perawatan restorasi, demikian pula kesalahan dalam perawatan yang mendasar menyebabkan penyakit ini muncul. Walaupun perawatan dari gejala yang timbul penting namun kesalahan dalam mengidentifikasi dan melakukan perawatan akan menyebabkan karies akan terus berlanjut progresifitasnya (Roberson *et al*, 2007).

##### **3. Plak gigi**

Plak merupakan deposit lunak berwarna putih keabu-abuan atau kuning yang melekat erat pada permukaan gigi, terdiri atas mikroorganisme yang berkembang biak dalam suatu matriks interseluler. Plak bersarang di sela-sela gigi diantara perlekatan gigi dengan gusi. Plak gigi akan terlihat jelas pertumbuhannya dalam waktu sekitar dua minggu. Timbunan plak yang mengeras akan membentuk Calculus (karang gigi). Plak tersusun atas sel-sel epitel rongga mulut yang telah

mengalami deskuamasi, sel-sel leukosit PMN (*Polymorphonuclear leukocyte*), makrofag dan bakteri. Sel-sel terdiri dari protein, polisakarida dan lemak (Enda, 2012).

#### **4. Hubungan plak dengan karies gigi**

Karies merupakan penyakit yang tidak hanya melibatkan suatu gen tetapi juga dapat berinteraksi dengan lingkungan (multifaktorial), beberapa faktor yang menjadi penyebab terbentuknya karies.

**4.1 Faktor host atau tuan rumah.** Faktor morfologi gigi (ukuran dan bentuk gigi), struktur enamel, faktor kimia dan kristalografis. Pit dan fisur pada gigi posterior sangat rentan terhadap karies karena sisa-sisa makanan yang mudah menumpuk terutama pit dan fisur yang dalam. Permukaan gigi yang kasar juga dapat menyebabkan plak mudah melekat dan terbentuknya karies gigi.

**4.2 Faktor agen atau mikroorganisme.** Bakteri coccus Gram positif merupakan jenis yang paling banyak dijumpai pada pembentukan plak, seperti *S. mutans*, *S. sanguis*, *S. mitis*, *S. salivarius* serta beberapa coccus yang lain. *S. mutans* mempunyai sifat asidogenik dan asidurik (resisten terhadap asam), sehingga *S. mutans* merupakan penyebab utama terjadinya karies.

**4.3 Faktor substrat atau diet.** Hasil penelitian menunjukkan bahwa orang yang banyak mengonsumsi karbohidrat terutama sukrosa cenderung mengalami kerusakan pada gigi, sebaliknya pada orang dengan diet yang banyak mengandung lemak dan protein hanya sedikit atau sama sekali tidak mempunyai karies gigi. Hal ini penting untuk menunjukkan bahwa karbohidrat memegang peranan penting dalam terjadinya karies.

**4.4 Faktor waktu.** Karies secara umum dianggap sebagai penyakit kronis pada manusia yang berkembang dalam waktu beberapa bulan atau tahun. Lamanya waktu untuk perkembangan karies cukup bervariasi, yaitu diperkirakan 6-48 bulan (Enda, 2012).

#### **5. Bakteri Rongga Mulut**

Penghambatan oleh flora normal rongga mulut merupakan bagian dalam membatasi pertumbuhan jamur untuk melekat pada sel epitel rongga mulut. Pertumbuhan dan kolonisasi *Candida* dapat diperbanyak dengan keberadaan

beberapa bakteri yang merupakan flora normal rongga mulut seperti *S. sanguis* dan *S. gordonii*. Interaksi mikroorganisme berupa kompetisi nutrisi, perubahan dalam lingkungan mikro, pengembangan toksin dan hasil produk metabolik. (Komariah, 2012).

### **B. *S. mutans* ATCC 25175**

*S. mutans* ATCC 25175 merupakan flora normal yang dapat menyebabkan penyakit gigi dan mulut. *S. mutans* banyak terdapat pada plak. Pada awal pembentukan plak, kokus Gram positif merupakan jenis yang paling banyak dijumpai seperti *S. mutans*, *S. sanguis*, *S. mitis*, *S. salivarius* dan beberapa strain lainnya. Pencegahan penyakit gigi dan mulut salah satunya dengan cara pengendalian plak. Plak dapat dikendalikan dengan cara berkumur menggunakan obat kumur atau dengan menyikat gigi menggunakan pasta gigi (Jannata *et al*, 2014).

#### **1. Sistematik bakteri**

Klasifikasi bakteri *S. mutans* ATCC 25175 menurut Tjitrosoepomo (1994) adalah sebagai berikut :

Divisio : Schizophyta  
 Kelas : Schizomycetes  
 Ordo : Enterobakteriales  
 Familia : Streptococcaceae  
 Genus : Streptococcus  
 Species : *Streptococcus mutans*

#### **2. Morfologi**

*S. mutans* ATCC 25175 merupakan bakteri Gram positif, anaerob fakultatif (Haqiqi, 2013). *S. mutans* ATCC 25175 berbentuk coccus berdiameter 0,5-1 µm dengan formasi rantai, warna ungu kebiruan. *S. mutans* ATCC 25175 sangat asidogenik, yaitu menghasilkan asam. *S. mutans* ATCC 25175 juga bersifat asidourik, yaitu dapat tinggal pada lingkungan asam dan menghasilkan suatu polisakarida yang lengket yang disebut glukon (Nishimura, 2012).

Habitat utama *S. mutans* ATCC 25175 adalah permukaan gigi. Bakteri ini tidak dapat tumbuh secara bersama ke seluruh permukaan gigi. *S. mutans* ATCC 25175 sering tumbuh di area tertentu pada permukaan gigi. Mulut merupakan lingkungan untuk pertumbuhan mikroorganisme karena memiliki sifat yang lembab dan hangat. *S. mutans* ATCC 25175 pada rongga mulut banyak ditemukan pada plak gigi dan pada lesi karies (Simon, 2007). Koloni *S. mutans* ATCC 25175 biasanya dapat ditemukan dalam pit dan fisur, permukaan oklusal, area proksimal permukaan gigi, gingiva atau pada lesi karies gigi. Jumlah populasi *S. mutans* ATCC 25175 dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain diet sukrosa, topikal aplikasi fluor, penggunaa antibiotik, obat kumur yang mengandung antiseptik dan keadaan higiena oral (Jamilah, 2010).

### 3. Patogenesis

Patogenesis *S. mutans* ATCC 25175 biasanya terjadi melalui mineral dari enamel oleh asam laktat yang merupakan hasil akhir metabolik dari pertumbuhan bakteri. Proses akumulasi diawali oleh aktivitas extracellular glucosyltransferase (GTF) yang beberapa disekresikan oleh *S. mutans* ATCC 25175. Keberadaan sukrosa, GTF mensintesa beberapa bentuk glukukan ekstraseluler dengan berat molekular tinggi. Polimer glukosa akan membantu agregasi dari *Streptococcus* lainnya melalui interaksi protein ikatan glukukan (*glucan binding protein*). *S. mutans* ATCC 25175 merupakan penghasil asam laktat yang paling banyak dalam proses akumulasi (Roeslan, 2001).

Karakteristik bakteri *S. mutans* ATCC 25175 mampu mensintesis polisakarida ekstraseluler glukukan ikatan  $\alpha$  (1-3) 2 yang tidak larut sukrosa, dapat memproduksi asam laktat melalui proses homofermentasi, membentuk koloni yang melekat dengan erat pada permukaan gigi, dan lebih bersifat asidogenik dibanding spesies *Streptococcus* lainnya (Sabir, 2005). *S. mutans* ATCC 25175 mampu memproduksi enzim *fructosyl transferase* dan *glucosyl transferase* yang akan memetabolisme sisa makanan terutama berasal dari jenis karbohidrat yang dapat difermentasi, seperti sukrosa, glukosa, fruktosa, dan maltosa (Lestari, 2014).



### **C. *C. albicans* ATCC 10231**

*C. albicans* ATCC 10231 adalah suatu jamur uniseluler yang merupakan flora normal rongga mulut, saluran pernafasan, usus besar dan vagina. Dalam kondisi tertentu, *C. albicans* ATCC 10231 dapat tumbuh berlebih dan melakukan invasi sehingga menyebabkan penyakit sistemik progresif pada penderita yang lemah atau kekebalannya tertekan (Pratiwi, 2008). Umumnya Candida ditemukan dalam bentuk sel ragi. Prevalensi Candida pada rongga mulut orang sehat berkisar antara 2-71% (Komariah, 2012).

#### **1. Sistematik bakteri**

Klasifikasi *C. albicans* ATCC 10231 menurut (Ariani *et al*, 2004) sebagai berikut:

Divisio : Eumycophyta  
 Kelas : Deuteromycetes  
 Ordo : Melaneoniales  
 Familia : Moniliaceae  
 Genus : Candida  
 Spesies : *Candida albicans*

#### **2. Morfologi**

*C. albicans* ATCC 10231 adalah jamur yang tumbuh sebagai sel-sel ragi bertunas oval dengan diameter 3-6  $\mu\text{m}$ . *C. albicans* ATCC 10231 merupakan anggota flora normal di kulit, membran mukosa, dan saluran pernafasan (Brooks *et al*, 2004).

Dinding sel *C. albicans* ATCC 10231 terdiri dari lima lapisan yang berbeda dan kompleks dengan tebal dinding sel 100-300 nm. Dinding sel *C. albicans* ATCC 10231 berfungsi untuk memberi bentuk pada sel, melindungi sel ragi dari lingkungannya, berperan dalam proses penempelan dan kolonisasi serta bersifat antigenik. Dinding sel tersebut juga merupakan target dari beberapa antimikotik (Tjampakasari, 2006).

*C. albicans* ATCC 10231 memperbanyak diri dengan membentuk tunas yang akan terus memanjang membentuk hifa semu. Hifa semu terbentuk dengan banyak kelompok blastospora berbentuk bulat atau lonjong. Pada beberapa strain,

blastospora berukuran besar, berbentuk bulat atau seperti botol, dalam jumlah sedikit. Sel ini dapat berkembang menjadi klamidospora yang ber dinding tebal dan bergaris tengah sekitar 8-12  $\mu$ . Morfologi koloni *C. albicans* ATCC 10231 pada medium padat agar Sabouraud Dekstrosa, umumnya berbentuk bulat dengan permukaan sedikit cembung, halus, licin dan kadang-kadang sedikit berlipat-lipat terutama pada koloni yang telah tua. Warna koloni putih kekuningan dan berbau asam seperti aroma tape. Dalam medium cair seperti glucose yeast, extract pepton, *C. albicans* ATCC 10231 tumbuh di dasar tabung (Tjampakasari, 2006).

### **3. Patogenesis**

Sumber utama infeksi *C. albicans* ATCC 10231 adalah flora normal dalam tubuh pada pasien dengan sistem imun yang menurun sehingga menyebabkan mikroorganisme ini menjadi patogen (Simatupang, 2009). Selain itu, faktor predisposisi juga berperan dalam peningkatan pertumbuhan *C. albicans* ATCC 10231 serta memudahkan invasi jamur ke dalam jaringan tubuh manusia karena adanya perubahan dalam sistem pertahanan tubuh. Faktor predisposisi tersebut antara lain : obat-obatan (antibiotik dan steroid), inisiasi lokal gigi tiruan, alat ortodonsia, perokok berat, radiasi, usia, penyakit sistemik dan sebagainya. Karena terjadi perubahan dalam sistem pertahanan tubuh, blastospora berkembang menjadi hifa semu dan tekanan dari hifa semu tersebut akan merusak jaringan, sehingga invasi ke dalam jaringan dapat terjadi (Riana, 2006).

### **D. Pasta Gigi**

Pasta gigi merupakan bahan pembantu dalam menghambat pertumbuhan plak secara kimiawi. Pasta gigi mengandung campuran bahan penggosok, bahan pembersih, bahan tambahan berbentuk semi padat yang digunakan untuk membantu membersihkan tanpa merusak gigi geligi dan jaringan mukosa mulut (Putra, 2002). Pasta gigi yang digunakan pada saat menyikat gigi berfungsi untuk mengurangi plak, memperkuat gigi terhadap karies, membersihkan dan memoles permukaan gigi, menghilangkan atau mengurangi bau mulut, memberikan rasa segar pada mulut serta memelihara kesehatan gusi (Sasmita *et al*, 2007).

### **E. Komponen Pasta Gigi**

Menurut Pratama (2014) Pasta gigi memiliki komponen yang beragam, masing masing komponen memiliki fungsi yang berbeda. Komponen pasta gigi terbagi menjadi komponen aktif yang bekerja pada pasta gigi dan komponen aditif. Komponen dalam pasta gigi adalah:

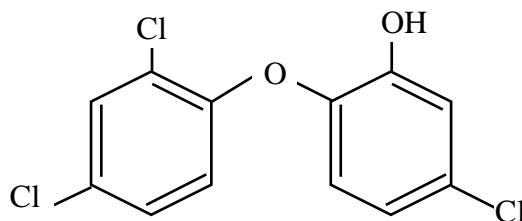
1. Komponen abrasif berguna untuk membersihkan gigi dari plak dan stain. Pasta gigi umumnya mengandung komponen abrasif 60-100 RDA atau >100 RDA. Komponen abrasif pada pasta gigi adalah silika dioxida, hidrat silika dioxida, kalsium karbonat, sodium bikarbonat, dan kalsium fosfat dihidrat.
2. Komponen fluor berfungsi sebagai proses remineralisasi gigi, memberi ketahanan pada gigi terhadap demineralisasi oleh asam, dan juga bersifat antibakteri. Komponen fluor dalam pasta gigi yaitu stannus fluoride, sodium monofluorofosfat, dan sodium fluoride.
3. Komponen desensitifitas berfungsi mengurangi hipersensitivitas dentin dan mengurangi rasa sakit yang mempengaruhi ujung saraf. Komponen desensitifitas pada pasta gigi adalah potassium klorida, potassium sitrat, dan potassium nitrat.
4. Komponen antiplak berfungsi mengurangi pertumbuhan plak. Hal ini dapat berefek terhadap berkurangnya karies dan gingivitis. Komponen antiplak pada pasta gigi adalah triklosan, papain dan ekstrak sanguinaria.
5. Komponen anti tartar berfungsi mengurangi pembentukan kalkulus pada gigi. Komponen antitartar pada pasta gigi adalah etrapotasium pyrofosfat, tetrasodium pyrofosfat, disodium pyrofosfat, dan citroxaine komponen antitartar pada pasta gigi.
6. Komponen remineralisasi, terdiri dari kalsium dan fosfat. Kalsium dan fosfat dapat meningkatkan remineralisasi, mencegah karies, mengurangi erosi email dan mengurangi hipersensitivitas dentin.
7. Komponen deterjen berfungsi sebagai pembentukan busa. Deterjen yang paling umum digunakan dalam pasta gigi adalah Sodium Lauryl Sulfat (SLS). SLS dilaporkan dapat menyebabkan deskuamasi mukosa rongga mulut dan ulserasi rongga mulut.

8. Komponen pelembab memberikan tekstur dan menjaga agar pasta gigi tetap lembab. Komponen pelembab dalam pasta gigi adalah gliserin, sorbitol, air dan xylitol.
9. Komponen pengental berfungsi memberikan bentuk dalam pasta gigi. Komponen pengental adalah carrageenan dan xanthan gum.
10. Bahan pengawet untuk mencegah pertumbuhan bakteri pada pasta gigi, seperti metil paraben dan sodium benzoat.
11. Perasa diberikan untuk memberi rasa pada pasta gigi. Rasa pasta gigi sangat beragam mulai dari rasa mint dan rasa buah.
12. Terkadang dalam pasta gigi juga ditambahkan bahan herbal, seperti aloe vera, sodium carrageen, echinacea, dan propolis.
13. Pemanis juga ditambahkan ke pasta gigi untuk memberi rasa. Pemanis pada pasta gigi bersifat buatan dan tidak dapat di metabolisme oleh bakteri kariogenik.
14. Bahan pewarna juga ditambahkan ke pasta gigi untuk memperindah tampilan pasta gigi.

## **F. Monografi Bahan**

### **1. Triklosan**

Triklosan sebagai bahan antibakteri atau antibakteri berspektrum luas dengan struktur *5-kloro-2-(2,4-diklorofenoksi)fenol* yaitu  $C_{12}H_7Cl_3O_2$  yang biasanya terlarut dalam air sabun dan pasta gigi. Triklosan merupakan derivat dari *difenil eter (bis-phenol)*. Terdapat hubungan struktural dengan sejumlah ikatan *bis-fenil poliklorinat* dan *bis-fenil klorofenol*. Sesuai dengan sintesis kimia *poliklorodifenil eter* dan *fenoksi fenol* yang keduanya berpotensi dalam pembentukan sejumlah kecil produk samping yang tidak diinginkan (Randal, 2006)



**Gambar 1. Rumus kimia Triklosan  $C_{12}H_7Cl_3O_2$  (Houwink, 1993)**

Triklosan berupa serbuk putih kristal halus, memiliki titik leleh pada  $57^{\circ}\text{C}$  dan terlindung dari cahaya. Triklosan praktis tidak larut dalam air, larut dalam alkohol, dalam aseton dan metil alkohol, sedikit larut dalam minyak. (Sweetman *et al*, 2009). Triklosan merupakan bahan antibakteri dari golongan fenol yang dapat mengurangi timbunan plak, kalkulus dan mencegah gingivitis. Triklosan memiliki aktivitas antibakteri berspektrum luas terhadap semua bakteri utama dalam plak. Triklosan dapat ditambahkan pada pasta gigi untuk menghambat plak dan gingivitis. Triklosan 0,3% juga ditambahkan pada obat kumur untuk penderita mulut kering dan halitosis. Sebagai antibakteri triklosan 0,3% mampu menghambat pembentukan *volatile sulphur compounds* (VLCs) yang dihasilkan oleh bakteri anaerob di rongga mulut. Triklosan 0,3% mengurangi gejala mulut kering, halitosis, dan dapat mengembalikan rongga mulut pada kondisi normal pada pemakaian berlanjut. Triklosan 0,3% tunggal dalam pasta gigi dapat menghambat akumulasi plak, tetapi aktivitas antiplaknya hanya derajat sedang sehingga harus digabung dengan antibakteri lain.

## 2. Sodium Lauril Sulfat (SLS)

SLS merupakan surfaktan yang mempunyai sifat ampifilik karena memiliki rantai  $C_{12}$  (lipofilik) dan gugus sulfat (hidrofilik). Adanya dua gugus fungsi dalam satu molekul dalam SLS, menyebabkan SLS tersebut mampu berfungsi sebagai pembersih dan detergen (Buana, 2013).

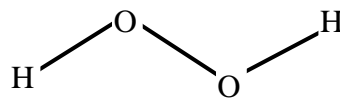


**Gambar 2. Struktur Sodium Lauril Sulfat (Osman, 2007)**

Selain memberikan efek berbusa pada pasta gigi, SLS juga menurunkan tegangan permukaan, sehingga dapat meningkatkan kemampuan air untuk membersihkan sisa-sisa makanan yang melekat pada permukaan gigi. SLS juga berperan dalam menghambat pertumbuhan sejumlah mikroorganisme melalui aksi absorpsi dan penetrasi melalui pori-pori dinding sel, diikuti oleh interaksi dengan komponen sel membran, lipid dan protein (Nordstrom, 2009).

SLS adalah campuran garam natrium dari senyawa normal alkil sulfat primer, terutama terdiri dari natrium dodekil sulfat. Mengandung tidak kurang dari 85,0% natrium alkil sulfat, dihitung sebagai  $C_{12}H_{25}Na$ . SLS merupakan serbuk atau hablur, warna kuning atau kuning pucat, bau lemah dan khas. SLS sangat mudah larut dalam air, larut berkabut, dan larut sebagian dalam etanol (95%) *P* (Anonim, 1979). SLS merupakan suatu bahan kimia yang digunakan sebagai deterjen pada sabun cuci mobil, pembersih lantai, shampoo, sabun mandi dan juga pasta gigi. Fungsi SLS sebenarnya adalah untuk menurunkan tegangan permukaan larutan sehingga dapat melarutkan minyak serta membentuk mikro emulsi menyebabkan busa terbentuk. Hampir 99% jenis pasta gigi yang menggunakan SLS sebagai salah satu bahan kandungan untuk membentuk busa. Selain itu SLS juga dapat menghilangkan debris (sisa-sisa makanan), plak dan sebagai antibakteri (Roslan *et al*, 2009).

### 3. Hidrogen Peroksida ( $H_2O_2$ )



Gambar 3. Hidrogen Peroksida

$H_2O_2$  merupakan antiseptik yang efektif dan non toksik. molekul tidak stabil dan apabila dipanaskan akan terurai menjadi air dan oksigen. Pada konsentrasi 0,3-6,0% dipakai untuk disinfeksi, dan pada konsentrasi 6,0-25,0% dipakai untuk sterilisasi. Pada konsentrasi 0,1% didalam susu pada suhu  $45^{\circ}C$  selama 30 menit, hidrogen peroksida dapat mengurangi jumlah kuman sampai 99,99%. Terdapat bukti bahwa  $H_2O_2$  10% bersifat virusid sporosid. Larutan 3% dipakai untuk mencuci dan mendisinfeksi luka karena kuman-kuman anaerob terutama sangat peka terhadap oksigen (Syahrurachman *et al*, 1994)

Reaksi pembentukan  $H_2O_2$  akan mengikat oksigen sehingga membentuk suasana anaerob yang membuat tidak nyaman bakteri aerob (Surono, 2004). Fungsi  $H_2O_2$  sebagai antimikroba tergantung pada kemampuan oksidatifnya. Kemampuan untuk mengoksidasi menyebabkan perubahan tetap pada sistem enzim sel mikroba. Kemampuan bakterisidal dari  $H_2O_2$  beragam tergantung pH, konsentrasi, suhu, waktu, dan tipe serta jumlah mikroorganisme. Pada kondisi tertentu spora bakteri ditemukan paling resistan terhadap  $H_2O_2$ , diikuti dengan bakteri gram positif. Bakteri yang paling sensitif terhadap  $H_2O_2$  adalah bakteri gram negatif, terutama koliform (Davidson dan Branen, 1993).

$H_2O_2$  mengandung tidak kurang dari 29,0% b/v dan tidak lebih dari 31,0% b/v hidrogen peroksida.  $H_2O_2$  berupa cairan tidak berwarna, hampir tidak berbau, mudah terurai jika berhubungan dengan zat organik yang dapat teroksidasi, dengan logam tertentu dan senyawanya atau dengan alkali (Depkes, 1979).

Penelitian yang dilakukan oleh Silhacek dan Taake pada tahun 2005 di Nebraska yang menguji pengaruh  $H_2O_2$  terhadap pertumbuhan bakteri dan dianalisis dengan spektrophotometer, menunjukkan  $H_2O_2$  memiliki efek antibakteri.

Menurut Prahasanti (2000), penambahan bahan kimia tertentu bertujuan untuk menjadikan pasta gigi sebagai obat mengatasi kelainan yang terjadi dalam mulut. Pembersihan gigi secara mekanis dengan menggunakan sikat gigi saja sudah dianggap cukup, akan tetapi dengan menggunakan pasta gigi yang ditambahkan berbagai bahan kimia akan membantu pemeliharaan kebersihan dan kesehatan gigi dan mulut. Menurut Amani (2003), menambahkan bahan senyawa kimia tertentu dapat bertindak sebagai antimikroba. Bahan antimikroba ini dapat mengurangi populasi bakteri baik sebagai agen pembunuh atau penghambat mikroba.

#### **4. Aquadest**

Aquadest (air murni) merupakan suatu pelarut yang penting dan memiliki kemampuan untuk melarutkan banyak zat kimia dan banyak macam molekul organik sehingga aquadest disebut sebagai *pelarut universal*. Aquadest berada dalam keseimbangan dinamis antara fase cair dan padat di bawah tekanan dan

temperatur standar. Aquadest dalam bentuk ion, dapat dideskripsikan sebagai asosiasi (ikatan antara sebuah ion hidrogen ( $H^+$ ) dengan sebuah ion hidroksida ( $OH^-$ ). Karakteristik aquades pada dasarnya bersifat tidak berwarna, tidak berasa dan tidak berbau pada kondisi standar. Aquades merupakan substansi kimia dengan rumus kimia  $H_2O$ , satu molekul air tersusun atas dua atom hidrogen yang terkait secara kovalen pada satu atom oksigen (Suryana, 2013).

## **G. Antimikroba**

### **1. Definisi Antimikroba**

Antimikroba adalah bahan-bahan atau obat-obat yang digunakan untuk membunuh infeksi mikroba pada manusia. Keefektifan antimikroba pada pengobatan infeksi dalam klinis tergantung pada kemampuan obat untuk membatasi atau mengurangi mikroorganisme pada tempat infeksi. Pada kebanyakan infeksi mekanisme pertahanan lokal dan sistemik memainkan peranan penting dalam menurunkan efek patogenitas suatu mikroorganisme. Bahan atau obat-obat yang bersifat bakteristatik terutama menghambat replikasi dari mikroorganisme, sedangkan bahan atau obat-obat yang bersifat bakterisid menyebabkan kematian suatu mikroorganisme. Derajat strain mikroorganisme secara *in vitro* dapat dipengaruhi terutama oleh bahan atau obat antimikroba yang dipelajari di laboratorium untuk mengetahui Kadar Hambatan Minimal (KHM) atau MIC (*Minimal Inhibitory Concentration*) yaitu konsentrasi antimikroba yang terendah yang masih dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme (Djide, 2008).

### **2. Mekanisme Kerja Antimikroba**

Antimikroba berdasarkan struktur kimia dan mekanisme aksi, dikelompokkan menjadi (Brunton *et al*, 2006; Pratiwi, 2008) :

**2.1 Agen yang menghambat sintesis dinding sel bakteri.** Antimikroba ini merusak lapisan peptidoglikan yang menyusun dinding sel bakteri Gram positif maupun Gram negatif. Mekanisme kerja adalah dengan mencegah ikatan silang peptidoglikan pada tahap akhir sintesis dinding sel, yaitu dengan cara menghambat protein pengikat penisilin (*penicillin binding protein*), protein ini



merupakan enzim dalam membran plasma sel bakteri yang secara normal terlibat dalam penambahan asam amino yang berikatan silang dengan peptidoglikan dinding sel bakteri, dan memblok aktivitas enzim transpeptidase yang membungkus ikatan silang polimer-polimer gula panjang yang membentuk dinding sel bakteri sehingga dinding sel menjadi rapuh dan mudah lisis. Termasuk didalamnya golongan B-laktam (misalnya, penisilin, cepalosporins dan carbapenems) dan agen lainnya seperti cycloserine, venkomisin, dan bacitracin.

**2.2 Agen yang bekerja secara langsung pada membran sel mikroorganisme,** meningkatkan permeabilitas dan menyebabkan kebocoran senyawa intraseluler. Membran plasma bersifat semipermeabel dan mengendalikan transport berbagai metabolit kedalam dan luar sel. Adanya gangguan atau kerusakan struktur pada membran plasma dapat menghambat atau merusak kemampuan membran plasma sebagai penghalang (*barrier*) osmosis dan mengganggu sejumlah proses biosintesis yang diperlukan dalam membran. Termasuk didalamnya deterjen seperti polimiksin, poliena agen antijamur (misalnya, nistatin dan amfoterisin B) yang mengikat dinding sel-sterol, dan lipopeptide dectomycin.

**2.3 Agen yang mengganggu fungsi ribosom subunit 30S atau 50S secara reversibel menghambat sintesis protein,** yang umumnya adalah bakteriostatik (misalnya, kloramfenikol, tetrasiklin, eritromisin, klindamisin, streptogramins, dan linezolid) dan bakteriosidal (misalnya aminoglikosida).

**2.4 Agen yang mempengaruhi metabolisme asam nukleat bakteri.** Penghambatannya pada sintesis asam nukleat berupa penghambatan terhadap transkripsi dan replikasi mikroorganisme, seperti rifamycins (misalnya rifampisin dan rifabutin) yang menghambat RNA polimerase, dan quinolon yang menghambat topoisomerase.

**2.5 Antimetabolit.** Antimetabolit yaitu substansi yang secara kompetitif menghambat metabolit mikroorganisme, karena memiliki struktur yang mirip dengan substrat normal bagi enzim metabolisme. Termasuk di dalamnya trimetoprimdan sulfonamid, yang menghambat enzim penting metabolisme folat.

### 3. Pengujian Aktivitas Antimikroba

**3.1 Metode Difusi.** Metode ini paling sering digunakan adalah metode difusi agar menggunakan cakram kertas, cakram kaca, pencetak lubang dalam menentukan kerentanan patogen terhadap obat-obatan antimikroba. Prinsip metode ini adalah dengan mengukur zona hambatan pertumbuhan bakteri yang terjadi akibat difusi zat yang bersifat sebagai antibakteri di dalam media padat melalui pencadangan. Daerah hambatan bakteri adalah daerah bening yang merupakan zona hambat disekitar cakram. Luas zona hambat berbanding lurus dengan aktivitas antibakteri, semakin kuat daya aktivitas antibakteri maka semakin luas daerah zona hambatnya (Brooks *et al*, 2007).

**3.2 Metode Dilusi.** Pada metode ini yang biasa disebutkan dengan turbidimetri atau tabung, menggunakan pengenceran secara seri dari antimikroba dalam media broth dengan konsentrasi yang berbeda-beda, kemudian ditanami dengan mikroba uji pada konsentrasi tertentu (Brooks *et al*, 2007).

### 4. Uji aktivitas antifungi

Media yang umum digunakan pada pengujian ini adalah Sabouraud Dextrose Liquid/Solid, Czapek Dox, dan media khusus fungi lainnya. Uji ini serupa untuk uji bakteri, dimana spora atau miselium fungi dilarutkan pada larutan agen antimikroba uji, dan selanjutnya pada interval waktu tertentu disubkultur pada media yang sesuai. Setelah diinkubasi, pertumbuhan fungi diamati (Pratiwi, 2008).

## H. Sterilisasi

Sterilisasi merupakan suatu proses membuat alat, bahan, dan media menjadi steril, prinsip dari steril yaitu suatu keadaan zat bebas dari mikroba hidup, baik yang patogen maupun non patogen, baik dalam bentuk vegetatif maupun non vegetatif (bentuk spora). Cara sterilisasi yang umum dilakukan meliputi sterilisasi secara fisik, secara kimia, dan secara mekanik. Sterilisasi secara fisik yaitu pemanasan basah dan kering, penggunaan sinar bergelombang pendek, seperti sinar-X, sinar  $\alpha$ , sinar  $\gamma$ , dan sinar UV. Sterilisasi secara kimia yaitu penggunaan

desinfektan, larutan alkohol, dan larutan formalin. Sterilisasi secara mekanik yaitu penggunaan saringan atau filter untuk bahan yang akan mengalami perubahan atau penguraian akibat pemanasan tinggi atau tekanan tinggi (Darmadi, 2008).

## **I. Media**

### **1. Pengertian media**

Media adalah tempat jaringan untuk tumbuh dan mengambil nutrisi yang mengandung kehidupan jaringan. Media yang digunakan harus dalam keadaan steril. Mikroba dapat tumbuh dan berkembang biak dengan baik, didalam media diperlukan persyaratan tertentu, yaitu media harus mengandung semua unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan mikroba. Media harus mempunyai tekanan osmosis, tegangan permukaan dan pH yang sesuai dengan kebutuhan mikroba. Susunan media yang digunakan harus mempunyai kandungan air, nitrogen, sumber energi, vitamin dan asam amino. Media alami adalah media yang tersusun oleh bahan alami. Media sintetik adalah media yang tersusun oleh campuran bahan-bahan alami dan bahan sintetis (Abdurahman, 2008).

### **2. Macam-macam media**

Menurut konsistensinya media dapat dibedakan menjadi medium cair, medium padat dan medium setengah padat.

**2.1 Medium cair.** Media yang tidak mengandung bahan pematat, contohnya Nutrient Broth, biasanya untuk pembiakan mikrolage tetapi juga mikroba lain, terutama bakteri dan ragi.

**2.2 Medium padat.** Media ini ditambah 12-15 gram tepung agar-agar per 1000 ml media. Media memerlukan kadar air tinggi, maka jumlah tepung agar harus rendah. Media padat umumnya dipergunakan untuk bakteri, ragi, jamur dan juga mikroalga.

**2.3 Medium setengah padat.** Media yang mengandung pematat hanya 50%, umumnya digunakan untuk pertumbuhan mikroba yang banyak memerlukan kandungan air dan hidup anaerobik atau fakultatif (Suriawiria, 1985).

## **J. Pewarnaan**

### **1. Definisi Pewarnaan Gram**

Pewarnaan Gram adalah salah satu teknik pewarnaan yang paling penting dan luas yang digunakan untuk mengidentifikasi bakteri. Metode ini diberi nama berdasarkan penemunya, ilmuwan Denmark Hans Cristian Gram (1853-1938) yang mengembangkan teknik ini pada tahun 1884 untuk membedakan antara pneumokokus dan bakteri *Klebsiella pneumonia* (Rusdimin, 2003).

### **2. Prinsip Pewarnaan Gram**

Pewarnaan Gram bakteri dapat dibagi atas 2 golongan yaitu Gram positif dan Gram negatif. Gram positif akan menunjukkan warna violet (ungu) karena mengikat zat warna kristal violet, sedangkan Gram negatif akan menunjukkan warna merah atau merah muda karena melepaskan zat warna utama dan menangkap zat warna penutup safranin.

Prinsip atau pokok-pokok pewarnaan Gram meliputi 4 tingkatan yaitu : Pewarnaan dengan zat warna utama (gantient violet). Merekatkan (mengintensifkan) dengan menggunakan larutan lugol. Menambahkan zat dekolorisasi (bahan peluntur), misalnya alkohol atau alkohol asam. Pemberian zat penutup (counter stain), misalnya safranin, larutan fuchsin, dan lain-lain (Waluyo, 2007).

## **K. Landasan Teori**

*S. mutans* ATCC 25175 dan *C. albicans* ATCC 10231 adalah suatu mikroorganisme yang merupakan flora normal pada rongga mulut. *S. mutans* ATCC 25175 merupakan bakteri Gram positif, anaerob fakultatif (Haqiqi, 2013). *S. mutans* ATCC 25175 berbentuk coccus berdiameter 0,5-1  $\mu\text{m}$  dengan formasi rantai, warna ungu kebiruan. *S. mutans* ATCC 25175 sangat asidogenik, yaitu menghasilkan asam. Selain itu, *S. mutans* ATCC 25175 juga bersifat asidourik, yaitu dapat tinggal pada lingkungan asam dan menghasilkan suatu polisakarida yang lengket yang disebut glikan (Nishimura, 2012). *S. mutans* ATCC 25175 merupakan penghasil asam laktat yang paling banyak dalam proses akumulasi ini meskipun pH yang rendah dari bakteri lainnya juga memberikan kontribusi

(Roeslan, 2001). *C. albicans* ATCC 10231 adalah suatu jamur uniseluler yang merupakan flora normal rongga mulut, usus besar dan vagina. Pada kondisi tertentu, *C. albicans* ATCC 10231 dapat tumbuh berlebih dan melakukan invasi sehingga menyebabkan penyakit sistemik progresif pada penderita yang lemah atau kekebalannya tertekan (Pratiwi, 2008). Pertumbuhan *Candida* yang berlebih dapat menyebabkan infeksi kandidiasis, mulai dari infeksi superfisial (kandidiasis oral dan kandidiasis vulvovaginal) hingga infeksi sistemik (Mayer *et al*, 2013; Yun, 2003). Penghambatan oleh flora normal rongga mulut merupakan bagian penting dalam membatasi pertumbuhan jamur. Flora normal bakteri dapat menurunkan kolonisasi *Candida* dengan jalan kompetisi untuk melekat pada sel epitel rongga mulut (Komariah, 2012).

Antimikroba adalah bahan-bahan atau obat-obat yang digunakan untuk membunuh infeksi mikroba pada manusia (Djide, 2008). Beberapa zat kimia yang memiliki aktivitas antimikroba adalah SLS,  $H_2O_2$  dan triklosan. Menurut studi Landa *et al*, SLS bekerja dengan melakukan penetrasi ke dalam biofilm, sehingga dapat berperan sebagai antimikroba (Salzer, 2016). SLS berperan dalam menghambat pertumbuhan sejumlah mikroorganisme melalui aksi adsorpsi dan penetrasi melalui pori-pori dinding sel, diikuti oleh interaksi dengan komponen sel membran, lipid dan protein (Nordstrom, 2009). Triklosan merupakan bahan antibakteri dari golongan fenol yang dapat mengurangi timbunan plak, kalkulus dan mencegah gingivitis. Triklosan memiliki aktivitas antibakteri berspektrum luas terhadap semua bakteri utama dalam plak. Triklosan memiliki aktivitas antibakteri dengan masuk ke dalam sel bakteri dan mengganggu fungsi membran sel dan sintesis RNA, asam lemak, dan protein. Triklosan juga mampu menghalangi sisi yang aktif pada enzim reduktase bakteri yang berfungsi untuk mensintesis asam lemak (Thifal, 2016). Penelitian yang dilakukan oleh Silhacek dan Taake pada tahun 2005 di Nebraska yang menguji pengaruh  $H_2O_2$  terhadap pertumbuhan bakteri dan dianalisis dengan spektrophotometer, menunjukkan  $H_2O_2$  memiliki efek antibakteri.  $H_2O_2$  secara umum memiliki spektrum penghambatan yang luas, meliputi bakteri, kapang, khamir, virus, dan mikroorganisme penghasil spora.  $H_2O_2$  lebih efektif dalam menghambat bakteri

anaerobik karena kekurangan enzim katalase, yang mampu merusak peroksida. Fungsi  $H_2O_2$  sebagai antimikroba tergantung pada kemampuan oksidatifnya. Kemampuan untuk mengoksidasi menyebabkan perubahan tetap pada sistem enzim sel mikroba. (Davidson dan Branen, 1993).

Penelitian ini bertujuan mengetahui sensitivitas *S. mutans* ATCC 25175 dan *C. albicans* ATCC 10231 terhadap SLS,  $H_2O_2$  dan triklosan. Beberapa zat kimia tersebut digunakan sebagai komponen antimikroba didalam pasta gigi, sehingga untuk mengetahui kemampuan antimikroba pada zat kimia dilakukan dengan menggunakan konsentrasi yang berbeda pada masing-masing zat kimia yaitu 3%, 6%, dan 12%. Konsentrasi mempengaruhi daya kerja zat antimikroba terhadap pertumbuhan mikroba. Semakin tinggi konsentrasi zat aktif, aktivitas antimikroba semakin tinggi karena kadar senyawa aktif yang terkandung dalam konsentrasi tinggi lebih banyak dibanding konsentrasi rendah. Pengujian sensitivitas antimikroba zat kimia murni dalam penelitian ini dengan metode difusi dan dilusi.

### **L. Hipotesis**

Berdasarkan landasan teori yang ada dapat disusun suatu hipotesis dalam penelitian ini adalah:

Pertama, SLS,  $H_2O_2$  dan triklosan memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri *S. mutans* ATCC 25175 dan jamur *C. albicans* ATCC 10231.

Kedua, terdapat perbedaan keaktifan antimikroba antara ketiga zat kimia SLS,  $H_2O_2$  dan triklosan dalam menghambat bakteri *S. mutans* ATCC 25175 dan jamur *C. albicans* ATCC 10231.

Ketiga, terdapat perbedaan sensitivitas antara bakteri *S. mutans* ATCC 25175 dan jamur *C. albicans* ATCC 10231 terhadap zat kimia yang paling aktif.

Keempat, KHM dan KBM dari SLS,  $H_2O_2$  dan triklosan sebagai antimikroba terhadap bakteri *S. mutans* ATCC 25175 dan jamur *C. albicans* ATCC 10231.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik. Penelitian dilakukan di laboratorium mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta dan laboratorium mikrobiologi Universitas Sebelas Maret. Subjek dari penelitian ini adalah bakteri *S. mutans* ATCC 25175 dan jamur *C. albicans* ATCC 10231. Variabel penelitian ini yaitu konsentrasi zat kimia murni SLS, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, triklosan dan pertumbuhan bakteri *S. mutans* ATCC 25175 dan jamur *C. albicans* ATCC 10231.

Metode pengujian yang digunakan dalam penelitian ini ialah metode difusi dan metode dilusi. Metode difusi digunakan untuk mengetahui adanya daya hambat terhadap mikroba uji sedangkan metode dilusi digunakan untuk menentukan KHM dan KBM.

#### **B. Populasi dan Sampel**

Populasi adalah semua objek yang menjadi sasaran penelitian. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah zat kimia murni SLS, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan triklosan yang diperoleh dari laboratorium Kimia Universitas Setia Budi Surakarta.

Sampel adalah sebagian kecil dari populasi yang digunakan dalam melakukan penelitian. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *S. mutans* ATCC 25175 dan jamur *C. albicans* ATCC 10231.

#### **C. Variabel Penelitian**

##### **1. Identifikasi variabel utama**

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah zat kimia murni SLS, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan triklosan dengan konsentrasi 3%, 6%, dan 12%.

Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah *S. mutans* ATCC 25175 dan *C. albicans* ATCC 10231.

## **2. Klasifikasi variabel utama**

Variabel utama dapat diklasifikasikan ke dalam variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel terkendali.

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja direncanakan untuk diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi zat kimia murni SLS, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan triklosan.

Variabel tergantung yaitu persoalan utama yang merupakan kriteria penelitian. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah sensitivitas *S. mutans* ATCC 25175 dan *C. albicans* ATCC 10231 terhadap SLS, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan triklosan.

Variabel terkendali adalah variabel yang dianggap berpengaruh selain variabel bebas, sehingga perlu ditetapkan klasifikasinya agar dapat diulang dalam penelitian lain secara tepat. Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah kemurnian SLS, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan triklosan, bakteri uji *S. mutans* ATCC 25175 dan jamur *C. albicans* ATCC 10231, waktu inkubasi, pembuatan media pertumbuhan bakteri, penelitian dan kondisi laboratorium.

## **3. Definisi operasional variabel utama**

Pertama, zat kimia yang digunakan adalah zat kimia murni SLS, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan triklosan yang diperoleh dari laboratorium universitas setia budi surakarta. SLS merupakan serbuk atau hablur, warna kuning atau kuning pucat, bau lemah dan khas. SLS juga dapat menghilangkan debris (sisa-sisa makanan), plak dan sebagai antibakteri. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> merupakan antiseptik yang efektif dan non toksik. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> mampu menghambat bakteri anaerobik karena kekurangan enzim katalase, yang mampu merusak peroksida, sedangkan Triklosan merupakan bahan antibakteri dari golongan fenol yang dapat mengurangi timbunan plak, kalkulus dan mencegah gingivitis. Triklosan memiliki aktivitas antibakteri berspektrum luas terhadap semua bakteri utama dalam plak.

Kedua, konsentrasi sediaan adalah konsentrasi SLS, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan triklosan dengan konsentrasi yang berbeda-beda yaitu 3%, 6%, dan 12%.



Ketiga, bakteri uji dalam penelitian ini adalah *S. mutans* ATCC 25175 dan *C. albicans* ATCC 10231 dari laboratorium mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta dan laboratorium mikrobiologi Universitas Sebelas Maret. *S. mutans* ATCC 25175 merupakan flora normal yang dapat menyebabkan penyakit gigi dan mulut. *S. mutans* ATCC 25175 banyak terdapat pada plak, sedangkan *C. albicans* ATCC 10231 merupakan anggota flora normal di kulit, membran mukosa, dan saluran pernafasan.

Keempat, uji sensitivitas antimikroba dengan perlakuan penetesan SLS, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan triklosan dengan konsentrasi 3%, 6%, dan 12% menggunakan mikro pipet pada sumuran masing-masing satu tetes (10 mikro liter) yang telah ditaruh di atas Agar Darah, kemudian dimasukkan ke dalam inkubator selama 48 jam.

Kelima, perkiraan daya hambat dilakukan dengan membuat satu seri pengenceran dalam berbagai konsentrasi. Kontrol positif adalah suspensi bakteri dan kontrol negatif adalah larutan zat kimia. Caranya dengan larutan uji dimasukan pada tabung reaksi kecuali kontrol positif. Suspensi bakteri dimasukan pada tabung reaksi kecuali kontrol negatif. Kemudian diamati kekeruhannya.

## **D. Alat dan Bahan**

### **1. Alat**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi cawan petri, mikroskop, jarum ose, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pinset, sarung tangan, masker, pipet tetes, pipet volume, lampu spiritus, korek api, incubator, autoklaf, jas laboratorium.

### **2. Bahan**

**2.1 Bahan Kimia.** Bahan kimia yang digunakan adalah media *Brain Heart Infusion* (BHI), media MH darah, media *Sabouraud Glukosa Agar* (SGA), media *Sabouraud Glucose Cair* (SGC) antibiotik, antifungi, aquadest steril, zat kimia murni SLS, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan triklosan, tetrasiklin, ketokonazol.

**2.2 Mikroba Uji.** Bakteri uji yang digunakan adalah *S. mutans* ATCC 25175 dan jamur *C. albicans* ATCC 10231.

## **E. Jalannya Penelitian**

### **1. Tahap Persiapan**

#### **1.1 Sterilisasi.**

**1.1.1 Sterilisasi Medium.** Medium yang digunakan dalam penelitian ini disterilkan terlebih dahulu dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Suriawiria, 2005).

**1.1.2 Sterilisasi Alat.** Alat seperti gelas ukur dan beaker glass disterilkan dengan oven pada suhu 170-180°C selama 2 jam, sedangkan alat seperti jarum ose disterilkan dengan pemanas api langsung (Suriawiria, 2005).

**1.2 Persiapan Sampel.** Zat kimia murni disimpan pada suhu ruangan dan tetap ditutup rapat.

#### **1.3 Pembuatan media.**

**1.3.1 Pembuatan medium BHI.** BHI ditimbang sebanyak 37 gram masukan ke dalam beker glass, kemudian ditambahkan aquadest steril sampai volume 1000 mL. Medium dihomogenkan dengan pemanasan dan dituangkan dalam tabung reaksi 10 mL. Tabung ditutup dengan kapas, kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Medium dibiarkan dingin, kemudian dimasukkan ke dalam lemari es.

**1.3.2 Pembuatan medium MH darah.** Media MH ditimbang sebanyak 34 gram masukan ke dalam beker glass, kemudian ditambahkan aquadest steril sampai volume 1000 mL. Medium dihomogenkan dengan pemanasan hingga mendidih. Medium disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian ditambahkan darah domba sebanyak 5% (50 ml). Medium dibiarkan memadat, kemudian disimpan dalam lemari es.

**1.3.3 Pembuatan medium SGA.** SGA ditimbang sebanyak 65 gram masukan ke dalam beker glass, kemudian ditambahkan aquadest steril sampai volume 1000 mL. Medium dihomogenkan dengan pemanasan dan dituangkan dalam tabung reaksi 10 mL. Tabung ditutup dengan kapas, kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Medium dibiarkan dingin, kemudian dimasukkan ke dalam lemari es.

**1.3.4 Pembuatan medium SGC.** SGC ditimbang sebanyak 30 gram masukan ke dalam beker glass, ditambahkan aquadest steril sampai 1000 mL. Medium dihomogenkan dengan pemanasan hingga mendidih. Menambahkan chloramphenicol 200 mg, aduk sampai homogen. Menuangkan medium dalam tabung reaksi sebanyak 10 mL dan tutup dengan kapas. Medium disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Medium dibiarkan memadat, kemudian disimpan dalam lemari es.

#### **1.4 Pengenceran larutan zat kimia.**

**1.4.1 Pelarutan zat kimia triklosan.** Triklosan dengan konsentrasi berbeda-beda 3%, 6%, dan 12% didapatkan dengan melarutkan 12 gram triklosan dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan aseton sampai volume 100 mL sehingga didapatkan konsentrasi 12%, kemudian dari konsentrasi 12% dilakukan pengenceran kembali untuk mendapatkan konsentrasi 6% dan 3%. Lakukan homogenisasi.

**1.4.2 Pelarutan zat kimia sodium lauril sulfat.** Sodium lauril sulfat dengan konsentrasi berbeda-beda 3%, 6%, dan 12% didapatkan dengan melarutkan 12 gram SLS dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan aquadest steril sampai volume 100 mL sehingga didapatkan konsentrasi 12%, kemudian dari konsentrasi 12% dilakukan pengenceran kembali untuk mendapatkan konsentrasi 6% dan 3%. Lakukan homogenisasi.

**1.4.3 Pelarutan zat kimia hidrogen peroksida.** Hidrogen peroksida dengan konsentrasi berbeda-beda 3%, 6%, dan 12% didapatkan dengan melarutkan 4,8 ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ke dalam tabung reaksi ditambahkan aquadest steril sampai volume 20 mL sehingga didapatkan konsentrasi 12%, kemudian dari konsentrasi 12% dilakukan pengenceran kembali untuk mendapatkan konsentrasi 6% dan 3%. Lakukan homogenisasi menggunakan vortex.

#### **1.5 Identifikasi bakteri *S. mutans* ATCC 25175**

**1.5.1 Pembuatan suspensi *S. mutans* ATCC 25175.** Pembuatan suspensi *S. mutans* ATCC 25175 dengan mengambil biakan murni kurang lebih 1 ose bakteri *S. mutans* ATCC 25175. Suspensi dibuat dalam tabung yang berisi media BHI 5 ml dan dihomogenkan. Kekeruhannya dibandingkan sesuai dengan

standar Mc Farland 0,5, jika belum sesuai diinkubasi pada suhu 37°C sampai kekeruhannya sesuai dengan standar Mc Farland 0,5 selama 1-5 jam. Tujuan disesuaikannya suspensi bakteri *S. mutans* ATCC 25175 dengan standar Mc Farland 0,5 yaitu agar jumlah bakteri yang digunakan sama selama penelitian dan mengurangi kepadatan bakteri saat pengujian.

**1.5.2 Isolasi pada medium MH darah.** *S. mutans* ATCC 25175 ditumbuhkan pada media MH darah pada suhu 37°C selama 24-48 jam, kemudian diamati hasil positif akan tampak koloni berbentuk bulat, koloni yang berwarna hijau transparan, warna hijau terjadi karena oksidasi sel darah merah.

**1.5.3 Identifikasi dengan pewarnaan Gram.** Bakteri yang telah tersedia diperiksa dengan pewarnaan Gram untuk mengidentifikasi morfologi sel bakteri. Satu ose bakteri di ambil dengan kawat inokulasi steril dan diletakan pada kaca preparat yang telah diberi tanda lingkaran. Cairan gentian violet ditetaskan pada gelas objek tersebut dan didiamkan selama 3 menit, kemudian buang cairan tersebut dan tuang lugol pada kaca preparat. Bilas preparat dengan alkohol, kemudian tuang air fuchsin safranin sesaat lalu dibilas dengan air yang mengalir. Koloni bakteri tersebut pada gelas objek dilihat dengan menggunakan mikroskop pada perbesaran 1000 x dengan bantuan minyak imersi (Agustina, 2007).

#### **1.5.4 Uji Biokimia *S. mutans* ATCC 25175**

**1.5.4.1 Uji katalase.** Uji katalase menggunakan suspensi bakteri uji yang ditanam pada media BHI dengan cara digoreskan pada kaca objek kemudian ditambah 2 tetes H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%. Hasil dinyatakan positif bila terlihat pembentukan gelembung udara disekitar koloni (Radji, 2011).

**1.5.4.2 Uji koagulase.** Uji koagulase menggunakan suspensi bakteri uji, dilakukan dengan menggunakan plasma atau darah yang telah ditambahkan dengan sitrat, ditambahkan 1 ose biakan bakteri kemudian diinkubasi selam 1-4 jam pada suhu 37°C kemudian diamati terbentuknya gumpalan atau tidak. Jika terbentuk gumpalan maka hasil uji koagulase adalah positif bakteri *S. mutans* ATCC 25175.

## **1.6 Identifikasi jamur *C. albicans* ATCC 10231**

**1.6.1 Pembuatan suspensi *C. albicans* ATCC 10231.** Pembuatan suspensi *C. albicans* ATCC 10231 dengan biakan murni diambil kurang lebih 1 Ose jamur *C. albicans* ATCC 10231. Suspensi dibuat dalam tabung yang berisi media SGC 5 ml dan dihomogenkan. Kekeruhannya dibandingkan sesuai dengan standar Mc Farland 0,5, jika belum sesuai diinkubasi pada suhu 37°C sampai kekeruhannya sesuai dengan standar Mc Farland 0,5 selama 1-5 jam. Tujuan disesuaikan suspensi jamur *C. albicans* ATCC 10231 dengan standar Mc Farland 0,5 yaitu agar jumlah jamur yang digunakan sama selama penelitian dan mengurangi kepadatan jamur saat pengujian.

**1.6.2 Isolasi pada media SGA.** *C. albicans* ATCC 10231 ditanam pada media SGA pada suhu 37°C selama 2-4 hari hasil positif akan tampak koloni berbentuk bulat, warna krem, mengkilat bau seperti ragi (Jawetz *et al*, 2007).

**1.6.3 Identifikasi mikroskopis.** Pengamatan secara mikroskopis dengan metode pewarnaan menggunakan cat *Lactofenol cotton blue* (LCB) dengan cat LCB ditetaskan pada objek glass 1-2 tetes kemudian suspensi jamur di inokulasikan kedalam LCB kemudian ditutup dengan deglass. Hasil tampak seperti ragi lonjong, yang memanjang menyerupai hifa, biakan mudah terbentuk tabung-tabung bening, pertumbuhan permukaan terdiri atas sel-sel bertunas yang lonjong. (Jawetz *et al*, 1986).

**1.6.4 Identifikasi biokimia.** Media yang digunakan adalah glukosa broth. Jamur uji diinokulasi ke dalam tabung yang berisi media glukosa. Tabung tersebut dimasukan tabung durham secara terbalik, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil positif pada media glukosa jika terdapat gelembung udara di dalam tabung durham (Jawetz *et al*, 1986).

## **2. Tahap Pengujian**

### **2.1 Metode difusi agar.**

**2.1.1 Pengujian sensitivitas bakteri *S. mutans* ATCC 25175.** Metode difusi digunakan untuk mengetahui adanya daya hambat zat uji SLS, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan triklosan terhadap mikroba uji. Biakan suspensi *S. mutans* ATCC 25175 yang telah dibuat diinokulasi pada MH darah secara perataan dengan kapas lidi steril

dan didiamkan 10 menit pada suhu kamar agar suspensi biakan terdifusi ke media. Konsentrasi zat kimia SLS, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan triklosan masing-masing adalah 3%, 6%, dan 12% dengan kontrol positif berupa antibiotik tetrasiklin, kontrol negatif berupa aquadest steril. Uji aktivitas antimikroba dilakukan dengan metode kertas cakram dimana kertas cakram dicelupkan kedalam masing-masing larutan uji selama  $\pm 1$  menit dan dikering anginkan, kemudian diletakan ke dalam media yang telah beku, kemudian diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37<sup>0</sup> C, diamati dan diukur daya hambat yang terjadi dengan menggunakan jangka sorong atau penggaris. Adanya daerah bening disekitar kertas cakram menunjukkan bahwa zat tersebut memiliki aktifitas antibakteri (Verawati, 2016)

**2.1.2 Pengujian sensitivitas jamur *C. albicans* ATCC 10231.** Metode difusi digunakan untuk mengetahui adanya daya hambat zat uji SLS, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan triklosan terhadap mikroba uji. Biakan suspensi *C. albicans* ATCC 10231 yang telah dibuat diinokulasi pada SGA secara perataan dengan kapas lidi steril dan didiamkan 10 menit pada suhu kamar agar suspensi biakan terdifusi ke media. Konsentrasi zat kimia SLS, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan triklosan masing-masing adalah 3%, 6%, dan 12% dengan kontrol positif berupa antijamur ketokonazol, kontrol negatif berupa aquadest steril. Uji aktivitas antimikroba dilakukan dengan metode kertas cakram dimana kertas cakram dicelupkan kedalam masing-masing larutan uji selama  $\pm 1$  menit dan dikering anginkan, kemudian diletakan ke dalam media yang telah beku, kemudian diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37<sup>0</sup> C, diamati dan diukur daya hambat yang terjadi dengan menggunakan jangka sorong atau penggaris. Adanya daerah bening disekitar kertas cakram menunjukkan bahwa zat tersebut memiliki aktifitas antijamur (Verawati, 2016).

## **2.2 Metode dilusi.**

**2.2.1 Pengujian bakteri *S. mutans* ATCC 25175.** Metode dilusi ini digunakan untuk menentukan KHM dan KBM. Metode ini menggunakan deretan tabung reaksi dari 12 tabung steril dengan interval pengenceran dua kali secara aseptis. Pengujian antibakteri dilakukan dengan zat uji yang paling aktif dimasukan dalam masing-masing tabung reaksi kecuali kontrol positif. Konsentrasi pengenceran dari masing-masing tabung yaitu 12%; 6%; 3%; 1,5%;

0,75%; 0,375%; 0,187%; 0,094%; 0,047%; 0,023%. Aquadest 0,5 ml dimasukan dalam masing-masing tabung uji secara aseptis kecuali kontrol negatif. Larutan zat uji yang paling aktif sebanyak 0,5 ml dimasukan dalam tabung pertama, dari tabung pertama diambil 0,5 ml dimasukan tabung kedua, dari tabung kedua diambil 0,5 ml dimasukan tabung ketiga dan begitu seterusnya sampai tabung ke sepuluh, diambil 0,5 dari tabung sepuluh kemudian dibuang. Suspensi bakteri dalam media BHI dimasukan dalam tiap tabung uji sebanyak 0,5 ml kecuali kontrol negatif. Kontrol negatif berisi 1,5 ml larutan zat uji teraktif dan kontrol positif berisi 1,5 ml suspensi bakteri. Semua tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, kemudian diamati kekeruhannya. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ditentukan dengan cara menentukan konsentrasi terendah larutan uji dari tabung yang jernih. Tabung yang jernih diinokulasi secara goresan pada media MH darah diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam, diamati ada atau tidaknya koloni berwarna kuning pada permukaan media. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditunjukan oleh konsentrasi terendah pada media MH darah yang tidak menunjukkan adanya koloni bakteri yang tumbuh.

**2.2.2 Pengujian jamur *C. albicans* ATCC 10231.** Metode dilusi digunakan untuk mengetahui konsentrasi terendah sediaan dapat menghambat jamur uji. Metode ini menggunakan deretan tabung reaksi dari 12 tabung steril dengan interval pengenceran dua kali secara aseptis. Metode dilusi dilakukan dengan zat uji yang paling aktif dimasukan dalam masing-masing tabung reaksi kecuali kontrol positif. Konsentrasi pengenceran dari masing-masing tabung yaitu 12%; 6%; 3%; 1,5%; 0,75%; 0,375%; 0,187%; 0,094%; 0,047%; 0,023%. Aquadest 0,5 ml dimasukan dalam masing-masing tabung uji secara aseptis kecuali kontrol negatif. Larutan zat uji yang paling aktif 0,5 ml dimasukan dalam tabung pertama, dari tabung pertama diambil 0,5 ml dimasukan tabung kedua, dari tabung kedua diambil 0,5 ml dimasukan tabung ketiga dan begitu seterusnya sampai tabung ke sepuluh, diambil 0,5 dari tabung sepuluh kemudian dibuang. Suspensi jamur dalam media SGC dimasukan dalam tiap tabung uji sebanyak 0,5 ml kecuali kontrol negatif. Kontrol negatif berisi 1,5 ml larutan zat uji teraktif dan kontrol positif berisi 1,5 ml suspensi jamur. Semua tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, kemudian diamati kekeruhannya. Konsentrasi Hambat

Minimum (KHM) ditentukan dengan cara menentukan konsentrasi terendah larutan uji dari tabung yang jernih. Tabung yang jernih diinokulasi secara goresan pada media SDA diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam, diamati ada atau tidaknya koloni berwarna krem, yang mempunyai bau seperti ragi. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditunjukkan oleh konsentrasi terendah pada media SGA yang tidak menunjukkan adanya koloni jamur yang tumbuh.

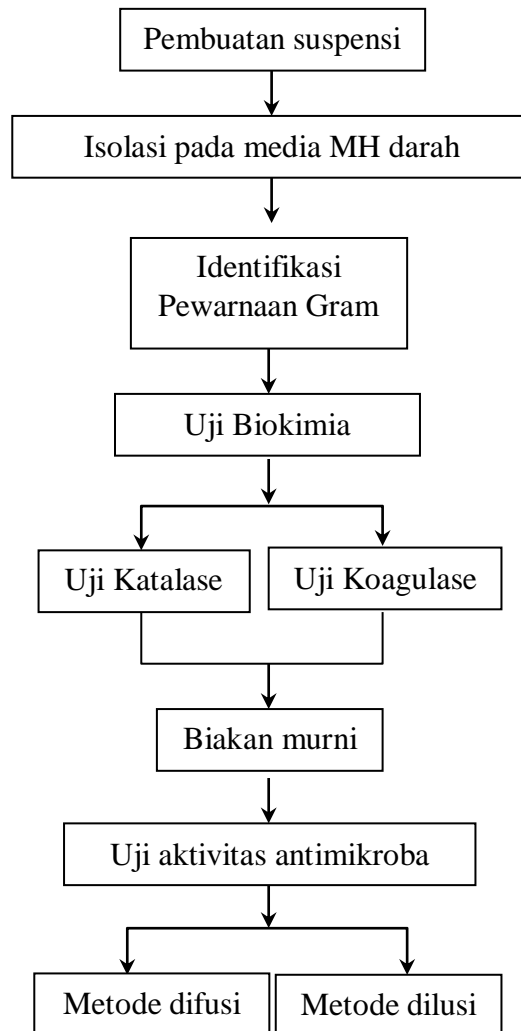
#### **F. Analisis Data**

Data yang diperoleh dari uji sensitivitas *S. mutans* ATCC 25175 dan *C. albicans* ATCC 10231 oleh bahan SLS, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan triklosan dengan konsentrasi 3%, 6%, dan 12%, dilakukan dengan menggunakan metode difusi yang dinyatakan dengan nilai zona hambat yang terbentuk. Hasil data yang diperoleh dianalisis menggunakan *One way anova* untuk melihat perbedaan secara keseluruhan.

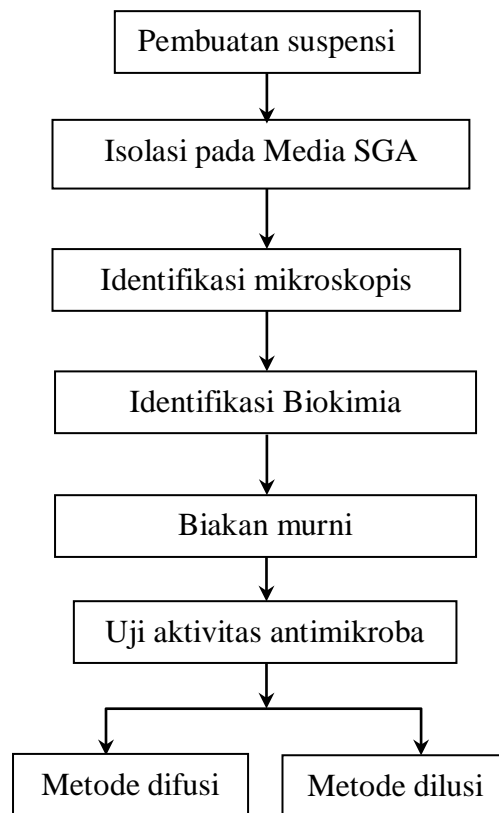


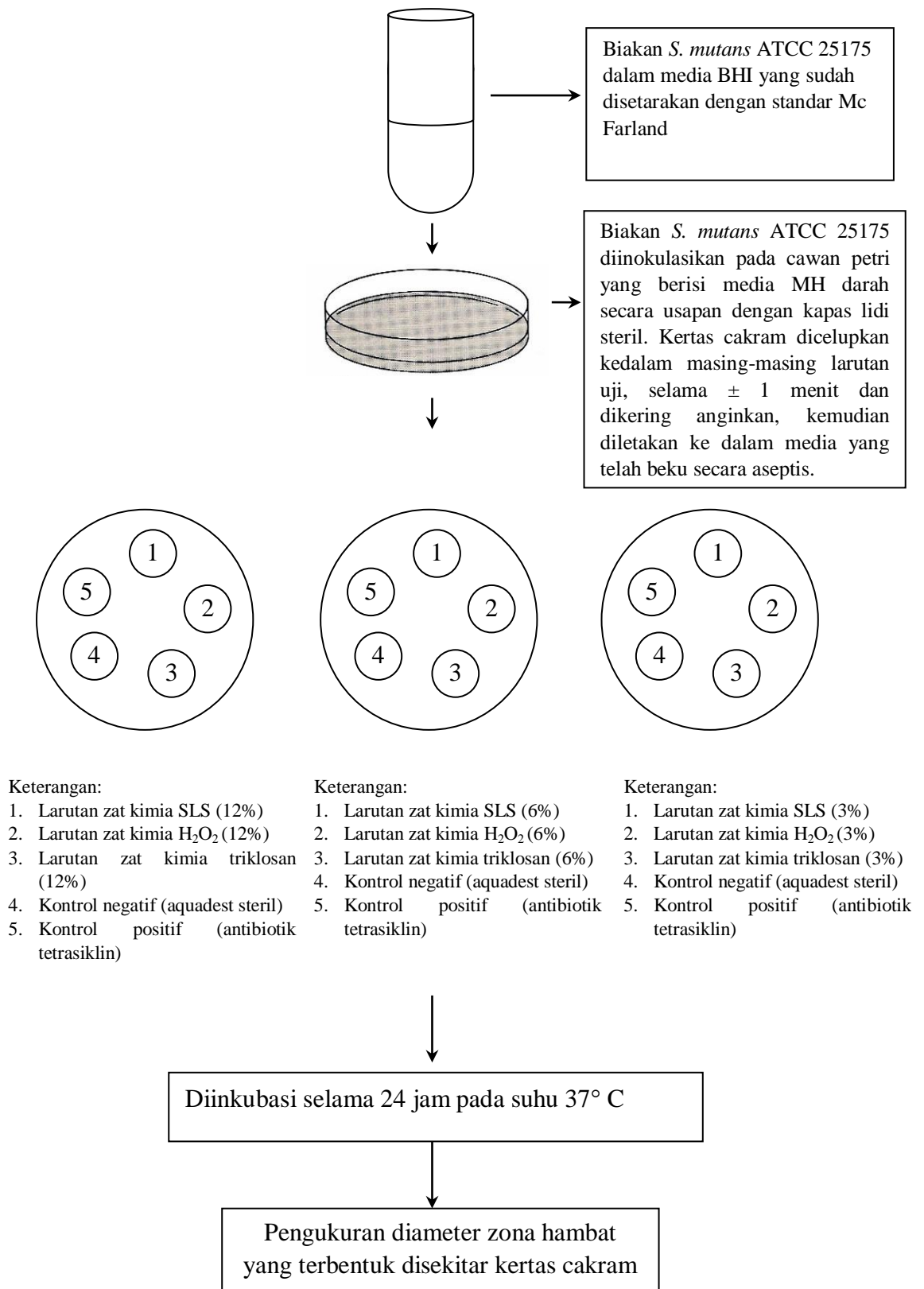
### G. Kerangka Penelitian

Identifikasi Bakteri *S. mutans* ATCC 25175

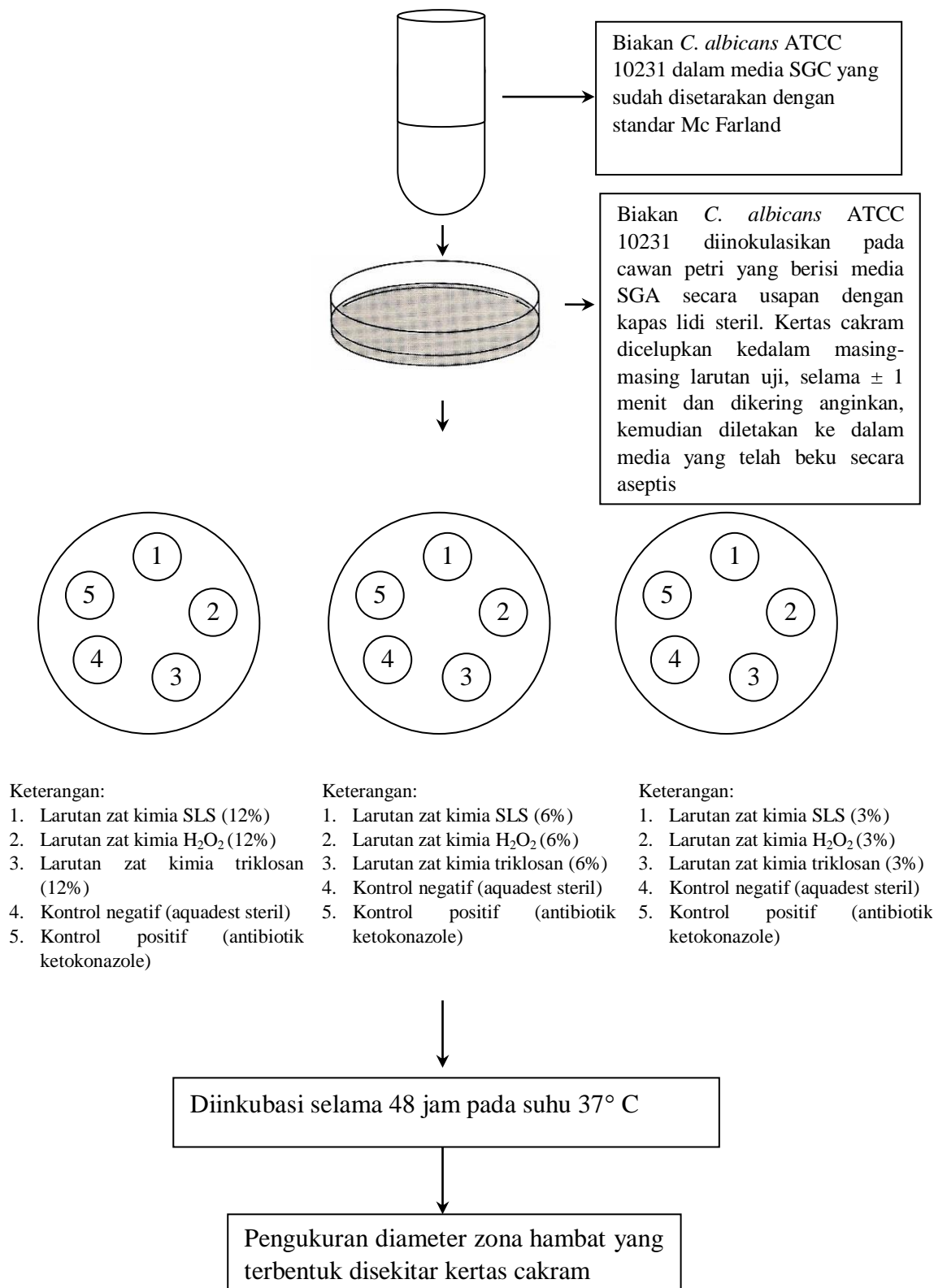


Gambar 4. Kerangka Penelitian Bakteri *S. mutans* ATCC 25175

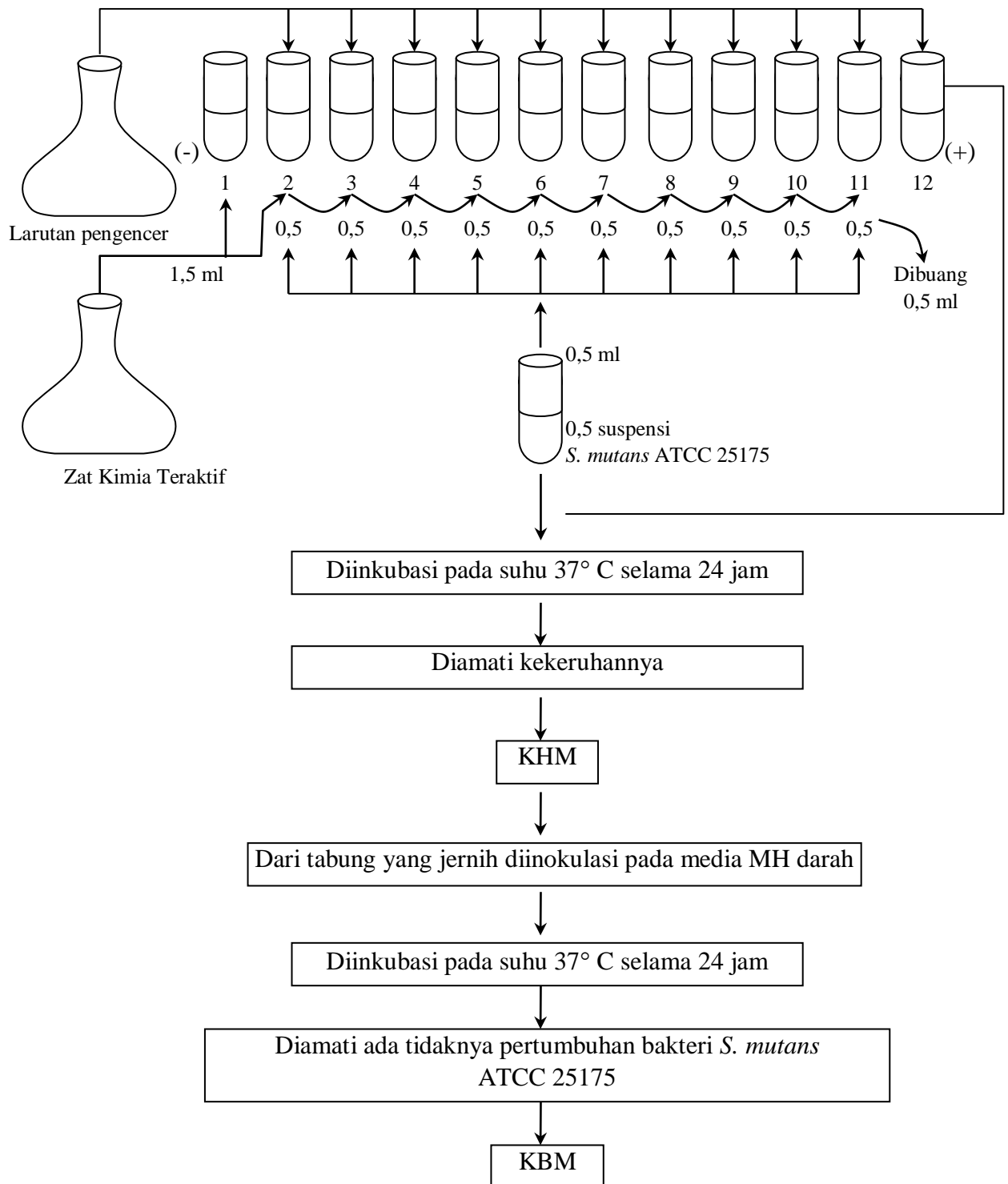
Identifikasi Jamur *C. albicans* ATCC 10231Gambar 5. Kerangka Penelitian *C. albicans* ATCC 10231



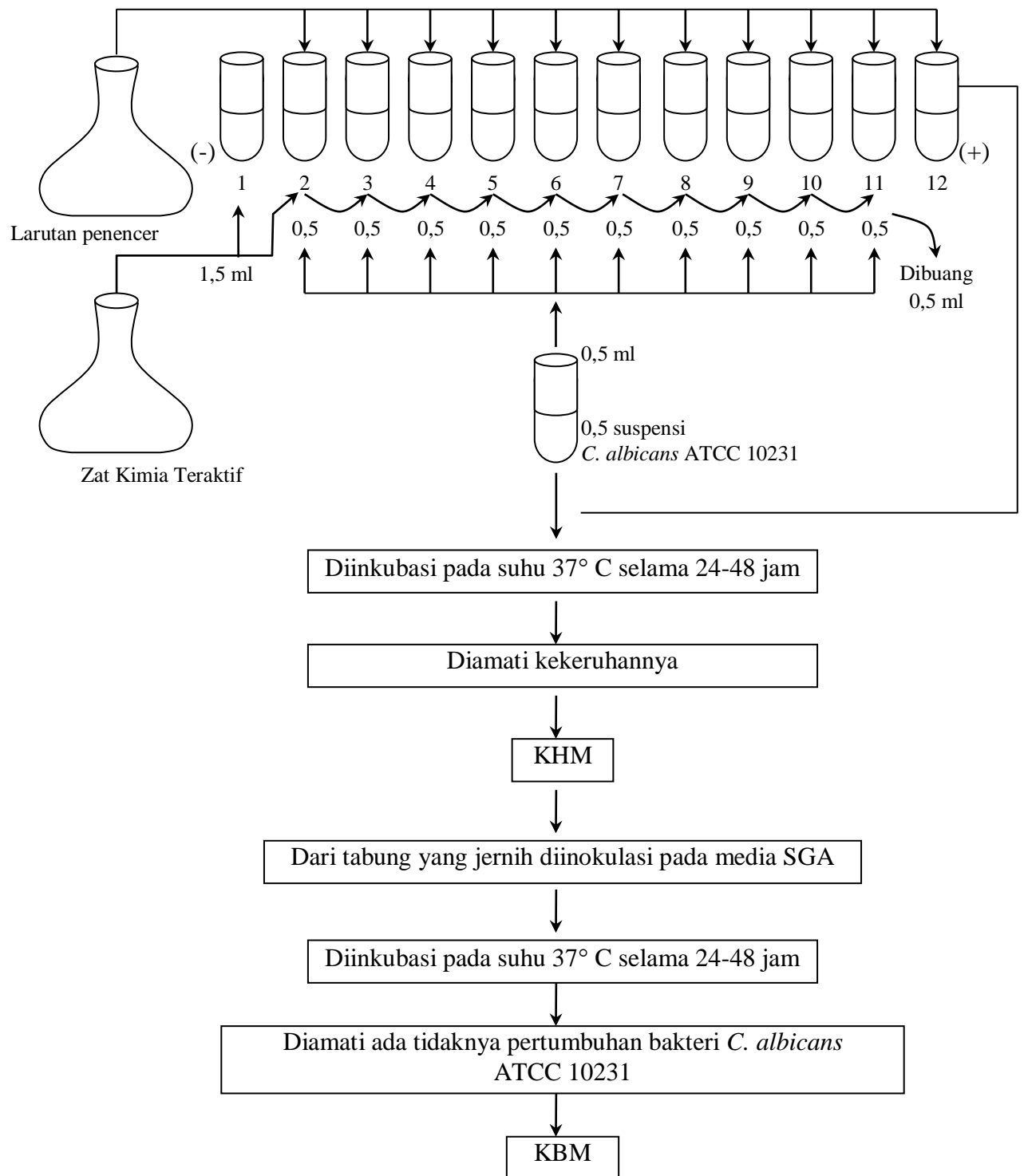
**Gambar 6. Skema uji *S. mutans* ATCC 25175 dengan metode difusi**



Gambar 7. Skema uji *C. albicans* ATCC 10231 dengan metode difusi



Gambar 8. Skema uji *S. mutans* ATCC 25175 dengan metode dilusi



Gambar 9. Skema uji *C. albicans* ATCC 10231 dengan metode dilusi

## **BAB IV**

### **HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Hasil Penelitian Bakteri Uji *S. mutans* ATCC 25175 dan Jamur *C. albicans* ATCC 10231**

##### **1. Hasil identifikasi bakteri *S. mutans* ATCC 25175**

**1.1 Hasil suspensi bakteri uji *S. mutans* ATCC.** Pembuatan suspensi bakteri *S. mutans* ATCC 25175 menggunakan media *Brain Heart Infusion* (BHI). Hasil suspensi disesuaikan dengan kekeruhan MC Farlan 0,5 yang menunjukkan konsentrasi kekeruhan bakteri sama dengan  $10^8$  CFU/ml. Jika suspensi terlalu keruh maka ditambahkan media. Jika suspensi terlalu encer maka ditambahkan suspensi bakteri (Bonang & Koeswardono, 1982). Gambar dapat dilihat pada lampiran 6.

**1.2 Hasil identifikasi bakteri secara goresan.** Hasil goresan pada bakteri uji adalah positif karena ditunjukkan dengan adanya koloni berwarna putih dengan tepian koloni berwarna hijau transparan. Warna koloni pada media agar darah menunjukkan bahwa *S. mutans* ATCC 25175 bersifat alfa hemolisis, hal ini disebabkan karena lisisnya sel darah merah disebabkan terjadinya reduksi hemoglobin menjadi methemoglobin. Gambar dapat dilihat pada lampiran 6.

*Streptococcus* dibagi menjadi 3 kelompok berdasarkan hemolisis dalam agar darah yaitu alpha hemolisis (tidak komplit, hemolisis hijau), beta hemolisis (terang, lisis komplit sel darah), dan gamma hemolisis (tidak terjadi hemolisis) (Patterson, 1996).

Alpha hemolisis disebabkan reduksi zat besi dalam hemoglobin, menjadikan *Streptococcus* warna hijau dalam agar darah. Hemolisis beta adalah sel darah merah yang meluruh secara penuh, terang luas, daerah bersih sekitar koloni bakteri dalam agar darah. Gamma hemolisis merupakan jenis *Streptococcus* yang tidak mengalami hemolisis (Jawetz *et al.*, 1995).

**1.3 Identifikasi mikroskopis dengan pewarnaan Gram.** Pewarnaan Gram dilakukan untuk memastikan kebenaran bakteri yang diujikan atau memastikan bahwa bakteri yang akan diuji tidak terkontaminasi bakteri lain dan

mengelompokkan bakteri menjadi 2 yaitu bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Pada pewarnaan Gram, hasil yang didapat akan ditentukan dari komposisi dinding sel pada bakteri. Pada pewarnaan ini reagen yang digunakan adalah kristal violet dan safranin. Bakteri Gram positif akan mempertahankan warna ungu dari kristal violet sehingga ketika diamati dengan mikroskop akan menunjukkan warna ungu sedangkan bakteri Gram negatif tidak dapat mempertahankan warna ungu dari kristal violet tetapi zat warna safranin dapat terserap pada dinding sel sehingga pada saat dilihat menggunakan mikroskop akan memperlihatkan warna merah (Pratita & Putra, 2012). Hasil pewarnaan Gram pada penelitian ini menunjukkan bahwa *S. mutans* ATCC 25175 termasuk bakteri Gram positif yang ditandai dengan dapat dipertahankannya warna ungu dari kristal violet sehingga pengamatan dengan mikroskop dapat dilihat bahwa bakteri berwarna ungu, berbentuk bulat dan berderet-deret. Warna ungu pada bakteri Gram positif disebabkan karena dinding selnya terdiri dari satu lapis peptidoglikan yang tebal dan permeabilitas dinding sel kurang, sehingga warna ungu dari kristal violet dapat terikat kuat karena mempunyai pori dinding sel akibat dekolorisasi oleh alkohol dan dinding sel tetap menahan warna ungu.

*S. mutans* ATCC 25175 termasuk kelompok bakteri Gram positif. Bakteri Gram positif berwarna ungu disebabkan kompleks zat warna kristal violet-yodium tetap dipertahankan meskipun diberi larutan pemucat. Sebagian besar dinding sel bakteri Gram positif terdiri dari peptidoglikan, pada bakteri Gram positif akan terbentuk persenyawaan kompleks kristal violet yodium ribonukleat yang tidak larut dalam larutan pemucat. Pemberian larutan mordan atau yang digunakan adalah larutan lugol dimaksudkan untuk meningkatkan afinitas pengikatan zat warna oleh bakteri sehingga pengikatan zat warna oleh bakteri menjadi lebih kuat. Setelah penambahan larutan lugol zat warna akan lebih jelas terlihat dan zat warna lebih sulit dilarutkan. Penambahan zat warna kedua atau safranin tidak menyebabkan perubahan warna pada bakteri Gram positif, karena persenyawaan kompleks kristal violet-yodium tetap terikat pada dinding sel. Fungsi zat warna safranin hanyalah sebagai pembeda (kontras) terhadap zat warna kristal violet. Gambar dilihat pada lampiran 6.



**1.4 Tes katalase.** Uji katalase digunakan untuk mengetahui aktivitas katalase pada bakteri yang diuji. Kebanyakan bakteri memproduksi enzim katalase yang dapat memecah  $H_2O_2$  menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$ . Enzim katalase diduga penting untuk pertumbuhan aerobik karena akan memecah  $H_2O_2$  yang bersifat racun terhadap sel mikroba karena bahan ini menginaktivasi enzim dalam sel.  $H_2O_2$  terbentuk sewaktu metabolisme aerob, sehingga mikroorganisme yang tumbuh dalam lingkungan aerob harus menguraikan bahan toksik tersebut. Bakteri katalase negatif tidak menghasilkan gelembung-gelembung. Hal ini berarti  $H_2O_2$  yang diberikan tidak dipecah oleh bakteri katalase negatif, sehingga tidak menghasilkan oksigen, salah satunya adalah genus *Streptococcus*. Mekanisme enzim katalase memecah  $H_2O_2$  yaitu saat melakukan respirasi. Bakteri yang memiliki kemampuan memecah  $H_2O_2$  dengan enzim katalase maka segera membentuk suatu sistem pertahanan dari toksik  $H_2O_2$  yang dihasilkannya sendiri. Bakteri katalase positif akan memecah  $H_2O_2$  menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$  dimana parameter yang menunjukkan adanya aktivitas katalase tersebut adalah adanya gelembung-gelembung oksigen (Hart dan Shears, 1997).

Uji katalase diuji untuk membedakan *S. aureus* dengan *Streptococcus*, karena *Streptococcus* tidak dapat menghasilkan enzim katalase (Hadjoetomo 1985). Hasil uji katalase pada penelitian ini dibuktikan dengan membandingkan bakteri *S. mutans* ATCC 25175 dan *S. aureus* ATCC 25923 dimana *S. aureus* ATCC 25923 positif ditandai dengan adanya gelembung udara karena bakteri tersebut mempunyai enzim katalase dimana  $H_2O_2$  yang ditetaskan akan terurai menjadi  $H_2O$  (air) dan  $O_2$  (oksigen), sedangkan bakteri *S. mutans* ATCC 25175 menunjukkan katalase negatif, hal ini sesuai dengan teori yang ditandai dengan tidak terbentuknya gelembung udara ( $O_2$ ) (Kleyn *et al.*, 2001). Gambar dilihat pada lampiran 7.

**1.5 Tes koagulase.** Hasil dari koagulase bakteri *S. mutans* ATCC 25175 dilakukan dengan menggunakan plasma atau darah yang telah ditambahkan dengan sitrat, untuk mengetahui ada atau tidaknya gumpalan yang terbentuk. Pada pengujian ini terbentuk gumpalan sehingga menandakan bakteri tersebut adalah *S. mutans* ATCC 25175. Hal ini disebabkan karena bakteri *S. mutans* ATCC 25175

dapat menghasilkan enzim koagulase yang menyebabkan fibrin dalam plasma menjadi membeku. Gambar dilihat pada lampiran 7.

## **2. Hasil identifikasi jamur *C. albicans* ATCC 10231**

**2.1. Hasil suspensi jamur *C. albicans* ATCC 10231.** Pembuatan suspensi jamur *C. albicans* ATCC 10231 menggunakan media *Brain Heart Infusion* (BHI). Hasil suspensi disesuaikan dengan kekeruhan MC Farlan 0,5 yang menunjukkan konsentrasi kekeruhan bakteri sama dengan  $10^8$  CFU/ml. Jika suspensi terlalu keruh maka ditambahkan media. Jika suspensi terlalu encer maka ditambahkan suspensi bakteri (Bonang & Koeswardono, 1982). Dapat dilihat pada lampiran 13.

**2.2. Hasil identifikasi jamur secara goresan.** Jamur *C. albicans* ATCC 10231 diaktifkan terlebih dahulu dengan menggunakan serum. Serum disini adalah untuk menyuburkan jamur *C. albicans* ATCC 10231. Biakan murni *C. albicans* ATCC 10231 diinokulasi pada media *Sabouraud Glukosa Agar* (SGA), media ini selektif untuk pertumbuhan dan identifikasi jamur *C. albicans* ATCC 10231 yang mempunyai pH asam/pH 5,6. Hasil pertumbuhan jamur *C. albicans* ATCC 10231 pada media SGA terbentuk koloni-koloni lunak berwarna krem yang mempunyai bau seperti ragi. *C. albicans* ATCC 10231 meragikan glukosa dan maltosa, menghasilkan asam dan gas, asam dari sukrosa dan tidak bereaksi dengan laktosa. Peragian karbohidrat ini bersamaan dengan sifat-sifat koloni dan morfologi, membedakan *C. albicans* dari spesies *Candida* lainnya. Gambar inokulasi dapat dilihat pada lampiran 14.

**2.3. Identifikasi mikroskopis dengan pewarnaan *Lactofenol Cotton Blue* (LCB).** Identifikasi jamur *C. albicans* ATCC 10231 dilakukan secara mikroskopis dengan menggunakan cat *lactofenol cotton blue*. Pewarnan sel jamur dengan LCB adalah metode yang paling banyak digunakan dalam pewarnaan dan mengamati jamur, dengan teknik ini maka jamur yang diamati akan tampak berwarna hijau kebiru-biruan. Hal ini dikarenakan spora secara sederhana bisa dilihat sebagai badan intraseluler pada suspensi. Komposisi dari LCB yaitu kristal, cotton blue 0,075 gram berfungsi untuk memberikan warna pada sel kapang, asam laktat 20 ml yang berfungsi untuk menjernihkan latar belakang dan mempertajam struktur kapang, gliseril 40 ml berfungsi menjaga fisiologi sel dan menjaga sel

terhadap kekeringan, kristal fenol dan air panas 70°C untuk membunuh jamur, serta air suling 40 ml (Astrid *et al.*, 1999). Hasil uji mikroskopis jamur *C. albicans* ATCC 10231 tampak seperti ragi lonjong, yang memanjang menyerupai hifa, biakan mudah terbentuk tabung-tabung bening, pertumbuhan permukaan terdiri atas sel-sel bertunas yang lonjong. Pertumbuhan yang tertutup terdiri atas pseudomiselium yaitu berupa pseudohifa yang membentuk blastospora pada nodus-nodus dan kadang-kadang klamidospora pada ujung-ujungnya. Hasil mikroskop dapat dilihat pada lampiran 13.

**2.4. Hasil identifikasi biokimia.** Identifikasi biokimia dilakukan dengan uji fermentasi karbohidrat yaitu dengan glukosa broth. Hasil identifikasi biokimia tersebut pada media glukosa terdapat gelembung udara di dalam tabung durham, karena sifat jamur *C. albicans* ATCC 10231 yang mampu memfermentasi gula sehingga terbentuk gas. Sebagian besar mikroorganisme memperoleh energi dari substrat berupa karbohidrat yang selanjutnya difermentasi menghasilkan asam-asam organik (seperti asam laktat, format, asetat) dengan disertai atau tidak disertai pembentukan gas (Volk *et al.*, 1993). Hasil uji biokimia jamur *C. albicans* ATCC 10231 dapat dilihat pada lampiran 14.

### **3. Hasil pengujian aktivitas antimikroba terhadap bakteri *S. mutans* ATCC 25175 dan jamur *C. albicans* ATCC 10231 secara difusi**

Pengujian aktivitas antimikroba zat kimia murni SLS, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan triklosan terhadap bakteri *S. mutans* ATCC 25175 dan jamur *C. albicans* ATCC 10231 dilakukan dengan metode difusi. Konsentrasi zat kimia SLS, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan triklosan masing-masing adalah 3%, 6%, dan 12% dengan kontrol positif berupa antibiotik tetrasiklin dan antijamur ketokonazol, kontrol negatif berupa aquadest steril.

Prinsip uji dari metode difusi ini adalah menempatkan cakram kertas yang telah diberikan perlakuan senyawa antimikroba dengan konsentrasi tertentu pada media yang telah ditanami organisme yang akan diuji secara merata. Penentuan kepekaan atau aktivitas antimikroba dengan metode difusi dilakukan dengan mengukur diameter zona bening yang terbentuk disekitar cakram. Zona bening ini disebut sebagai zona hambat. Semakin besar diameter zona hambat, maka

semakin kecil nilai konsentrasi hambat minimum dari suatu senyawa (Soleha, 2015).

Daerah jernih disekitar cakram yang tidak ditumbuhi mikroba menunjukkan bahwa zat kimia SLS,  $H_2O_2$  dan triklosan memiliki daya hambat terhadap bakteri *S. mutans* ATCC 25175 dan jamur *C. albicans* ATCC 10231. Hasil luas daerah hambat dari zat kimia SLS,  $H_2O_2$  dan triklosan terhadap bakteri *S. mutans* ATCC 25175 dan jamur *C. albicans* ATCC 10231 dapat dilihat pada tabel 1 dan 2.

**Tabel 1. Hasil uji sensitivitas bakteri *S. mutans* ATCC 25175 terhadap antibakteri sodium lauril sulfat, hidrogen peroksida dan triklosan yang terkandung dalam pasta gigi metode difusi**

Konsentrasi	Sediaan uji	Diameter hambat (mm)			rata-rata (mm)	SD
		replikasi I	replikasi II	replikasi III		
12%	SLS	30	32	30	30,66	0,94
	Triklosan	18	17	18	17,66	0,47
	$H_2O_2$	14	13	13	13,33	0,47
6%	SLS	26	27	27	26,66	0,47
	Triklosan	14	14	14	14	0
	$H_2O_2$	11	11	12	11,33	0,47
3%	SLS	23	24	23	23,33	0,47
	Triklosan	15	16	16	15,66	0,47
	$H_2O_2$	10	10	9	9,66	0,47
	Tetrasiklin	45	45	43	44,33	0,94

**Tabel 2. Hasil uji sensitivitas jamur *C. albicans* terhadap antibakteri sodium lauril sulfat, hidrogen peroksida dan triklosan yang terkandung dalam pasta gigi metode difusi**

Konsentrasi	Sediaan uji	Diameter hambat (mm)			rata-rata (mm)	SD
		replikasi I	replikasi II	replikasi III		
12%	SLS	54	52	54	53,33	1,15
	Triklosan	26	24	24	24,66	1,15
	$H_2O_2$	30	31	30	30,33	0,57
6%	SLS	50	50	48	49,33	0,94
	Triklosan	14	15	13	14	0,81
	$H_2O_2$	25	24	24	24,33	0,47
3%	SLS	32	30	30	30,66	0,94
	Triklosan	10	10	10	10	0
	$H_2O_2$	22	20	20	20,66	0,94
	Ketokonazol	50	48	49	49	0,81

Berdasarkan masing-masing tabel menunjukkan hasil penelitian bahwa zat kimia sodium lauril sulfat (SLS) memiliki daya hambat yang lebih besar terhadap bakteri *S. mutans* ATCC 25175 dan jamur *C. albicans* ATCC 10231 dibandingkan zat kimia triklosan dan  $H_2O_2$ . Hasil rata-rata diameter hambat zat kimia SLS terhadap jamur *C. albican* ATCC 10231 dengan konsentrasi 12%, 6%, dan 3% adalah 53,33 mm, 49,33 mm, dan 30,66 mm, sedangkan hasil rata-rata diameter

hambat zat kimia SLS terhadap bakteri *S. mutans* ATCC 25175 dengan konsentrasi 12%, 6%, dan 3% adalah 30,66 mm, 26,66 mm, dan 23,33 mm. Hal ini dapat disebabkan karena dari ketiga zat kimia yang digunakan SLS, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan triklosan mempunyai mekanisme kerja yang berbeda sebagai antimikroba.

Mekanisme kerja triklosan adalah dengan cara menghambat biosintesis asam lemak pada bakteri serta menghambat kerja enzim atau dengan memasuki membran sel mikroorganisme dan mempengaruhi membran sitoplasma dan sintesis RNA, asam lemak dan protein (Wahyu, 2006). Aktivitas antimikroba dari triklosan terdapat pada konsentrasi 0,2-2 % bersifat bakteriostatik. Triklosan tidak memiliki efek karsinogenik, mutagenik serta teratogenik (loho *et al*, 2007).

Mekanisme kerja SLS adalah berperan dalam menghambat pertumbuhan sejumlah mikroorganisme melalui aksi adsorpsi dan penetrasi melalui pori-pori dinding sel, diikuti oleh interaksi dengan komponen sel membran, lipid dan protein. Penetrasi SLS ke dalam membran sel bakteri menyebabkan peningkatan permeabilitas membran sel bakteri, sehingga mengakibatkan kebocoran komponen intraseluler dan lisis sel (Nordstrom, 2009). Menurut studi Landa *et.al*, SLS bekerja dengan melakukan penetrasi ke dalam biofilm, sehingga dapat berperan sebagai antimikroba (Salzer, 2016).

Fungsi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sebagai antimikroba tergantung pada kemampuan oksidatifnya. Kemampuan untuk mengoksidasi menyebabkan perubahan tetap pada sistem enzim sel mikroba. Kemampuan bakterisidal dari H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> beragam tergantung pH, konsentrasi, suhu, waktu, dan tipe serta jumlah mikroorganisme. Pada kondisi tertentu spora bakteri ditemukan paling resistan terhadap H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, diikuti dengan bakteri gram positif. Bakteri yang paling sensitif terhadap H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> adalah bakteri Gram negatif (Davidson dan Branen, 1993). Hal ini sesuai dengan tabel difusi zat kimia SLS, triklosan dan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> lebih aktif dalam menghambat jamur *C. albicans* ATCC 10231 dibandingkan bakteri *S. mutans* ATCC 25175.

Kontrol positif yang dipakai dalam penelitian ini adalah ketokonazol dan tetrasiklin dimana ketokonazol merupakan salah satu antijamur yang memiliki mekanisme kerja dengan cara menghambat enzim *cytosome* P-450 14-

*demethylase*. Enzim ini merubah lanosterol jadi ergosterol yaitu komponen yang penting bagi integritas jamur sehingga terjadi kerusakan membrane (Daniswara, 2008), Kontrol positif (ketokonazol) terbukti efektif dalam menghambat pertumbuhan jamur *C. albicans* ATCC 10231 yang ditunjukkan dengan diameter hambat rata-rata paling besar dibandingkan dengan SLS yaitu sebesar 49 mm. Sedangkan tetrasiklin mekanisme kerjanya adalah menghambat sintesis protein dengan mencegah terikatnya tRNA di ribosom (Brooks *et al.*, 2001). Kontrol positif (tetrasiklin) juga terbukti efektif dalam menghambat bakteri *S. mutans* ATCC 25175 yaitu sebesar 44,33 mm. Hasil uji aktivitas antimikroba secara difusi dapat dilihat pada lampiran 15.

Pengujian aktifitas antimikroba secara difusi ini menggunakan kontrol negatif aquadest steril yang dalam pengujian ini tidak aktif dalam menghambat *C. albicans* ATCC 10231 dan *S. mutans* ATCC 25175. Zat kimia SLS dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans* ATCC 10231 dan *S. mutans* ATCC 25175 mempunyai aktifitas antimikroba yang terbesar dibandingkan zat kimia triklosan dan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Kuatnya aktifitas antimikroba disebabkan karena fungsi SLS ini adalah bekerja menurunkan tegangan permukaan dengan menghasilkan busa serta mikroemulsi (Roslan *et.al*, 2009). SLS pada umumnya ditambahkan ke dalam pasta gigi untuk memberikan efek berbusa. Selain memberikan efek berbusa pada pasta gigi, SLS juga menurunkan tegangan permukaan, sehingga dapat meningkatkan kemampuan air untuk membersihkan sisa-sisa makanan yang melekat pada permukaan gigi. Hal tersebut cukup memberikan efek antibakteri dan sifat penghambatan plak (Moore, 2008).

Hasil dari uji difusi dari tabel diatas diuji kebenarannya menggunakan uji *one way anova*. Uji ini digunakan untuk membandingkan sampel pada tiap konsentrasi. Data yang dianalisis dengan *one way anova* adalah konsentrasi 12%, 6% dan 3% dari zat kimia SLS, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan triklosan.

Hasil uji oneway anova pada tabel diameter hambat didapatkan hasil F= 820,781 jamur *C. albicans* ATCC 10231 dan F= 990,377 bakteri *S. mutans* ATCC 25175 dengan probabilitas 0,000<0,05 yang berarti dari tiap sampel uji terdapat perbedaan yang nyata dalam menghambat jamur *C. albicans* ATCC 10231 dan bakteri *S. mutans* ATCC 25175. Berdasarkan tabel Tukey menunjukan tanda (\*)

pada angka *Mean Difference*, yang artinya hasil diameter aktivitas antimikroba tersebut menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Apabila tidak terdapat tanda (\*) maka diameter hambat aktivitas antimikroba tidak signifikan yang berarti tidak memiliki signifikan. Tabel *Homogeneous Subsets* bertujuan untuk mencari kelompok mana saja yang memiliki perbedaan rata-rata yang tidak berbeda signifikan. Tabel *Homogeneous Subsets* jamur *C. albicans* ATCC 10231 terbagi dalam 7 subset, semakin arah kekanan semakin besar diameter hambatnya. Subset 1 terdapat triklosan 3% 10,00. Subset 2 terdapat triklosan 6% 14,00. Subset 3 terdapat hidrogen peroksida 3% 20,67. Subset 4 terdapat hidrogen peroksida 6% 24,33, triklosan 12% 24,67. Subset 5 terdapat hidrogen peroksida 12% 30,00, SLS 3% 30,67. Subset 6 terdapat SLS 6% 49,33, kontrol positif ketokonazol 49,00. Subset 7 terdapat SLS 12% 53,33. Diameter hambat diketahui dari subset 1-7 mempunyai beda nyata dalam penghambatan aktivitas antijamur *C. albicans* ATCC 10231, sedangkan Tabel *Homogeneous Subsets* bakteri *S. mutans* ATCC 25175 terbagi dalam 9 subset, semakin arah kekanan semakin besar diameter hambatnya. Subset 1 terdapat hidrogen peroksida 3% 9,67, hidrogen peroksida 6% 11,33. Subset 2 terdapat hidrogen peroksida 6% 11,33, hidrogen peroksida 12% 13,33. Subset 3 terdapat hidrogen peroksida 12% 13,33, triklosan 6% 14,00. Subset 4 terdapat triklosan 6% 14,00, triklosan 3% 15,67. Subset 5 terdapat triklosan 3% 15,67, triklosan 12% 17,67. Subset 6 terdapat SLS 3% 23,33. Subset 7 terdapat SLS 6% 26,67. Subset 8 terdapat SLS 12% 30,67. Subset 9 terdapat kontrol positif tetrasiklin 44,33. Diameter hambat diketahui dari subset 1-9 mempunyai beda nyata dalam penghambatan aktivitas antibakteri *S. mutans* ATCC 25175. Zat teraktif adalah SLS. Tabel *Homogeneous Subsets* dapat dilihat pada lampiran 25 dan 26.

Hasil uji statistik menunjukkan zat kimia SLS yang memiliki aktivitas antimikroba yang lebih optimal dalam membunuh bakteri *S. mutans* ATCC 25175 dan jamur *C. albicans* ATCC 10231 jika dibandingkan dengan zat kimia triklosan dan hidrogen peroksida. SLS memiliki zona hambat yang paling besar dibandingkan triklosan dan hidrogen peroksida karena SLS memiliki aktivitas antibakteri terutama terhadap bakteri Gram positif (Plumb, 2009). Rantai hidrofobik dari SLS dapat berikatan dengan bagian lipid pada membran sel yang

menyebabkan proses lisis dengan mekanisme menghilangkan molekul lipid atau dengan cara yang menyebabkan gangguan dari membran sel (Brown, 2010), sehingga semakin besar konsentrasi SLS dapat meningkatkan aktivitas antimikroba. SLS dengan rumus  $C_{12}H_{25}SO_4$  larut dalam air, methanol, dan etanol. SLS merupakan agen yang umum digunakan sebagai bahan pembersih. SLS merupakan molekul anion kuat yang memiliki afinitas tinggi terhadap molekul protein yang sekaligus dapat mendenaturasinya sehingga SLS juga sering digunakan untuk elektroporesis protein. Dengan ciri khas ekor hidrofobik SLS dapat mengikat protein dinding bakteri sehingga mengganggu perlekatan bakteri tersebut pada permukaan gigi yang secara tidak langsung dapat menurunkan pembentukan plak. Oleh karena itu SLS juga mempunyai efek antimikroba secara langsung. Efek antimikroba ini pada beberapa spesies bakteri, menghambat pertumbuhan banyak bakteri gram positif selain mempengaruhi sebagian besar gram negatif (Rochmawati *et al*, 2008). Namun demikian penggunaan antibiotik tetrasiklin dan antijamur ketokonazol sebagai kontrol positif masih lebih efektif digunakan dimasyarakat dibandingkan zat kimia SLS, triklosan, dan  $H_2O_2$  terhadap bakteri *S. mutans* ATCC 25175 dan jamur *C. albicans* ATCC 10231.

#### **4. Hasil pengujian aktivitas antimikroba terhadap bakteri *S. mutans* ATCC 25175 dan jamur *C. albicans* ATCC 10231 secara dilusi**

Pengujian aktifitas antimikroba *S. mutans* ATCC 25175 dan *C. albicans* ATCC 10231 dilakukan dengan metode dilusi untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM), dengan zat kimia yang teraktif dari pengujian difusi yaitu zat kimia sodium lauril sulfat (SLS). Konsentrasi yang dibuat yaitu dari konsentrasi 12%; 6%; 3%; 1,5%; 0,75%; 0,375%; 0,187%; 0,094%; 0,047%; 0,023%.

Aktifitas antimikroba dapat diketahui dari batas kekeruhan pada tabung percobaan, kemudian digoreskan pada media agar. Penelitian ini menggunakan metode dilusi atau seri pengenceran. Metode ini bermanfaat untuk mengetahui dosis minimal dari zat yang bersifat antimikroba. Konsentrasi hambat minimum adalah konsentrasi terendah dari zat kimia SLS,  $H_2O_2$  dan Triklosan yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)



ditentukan dengan mengamati kadar terkecil yang masih jernih yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri. Penentuan nilai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dilakukan dengan penggoresan larutan uji hasil nilai KHM pada media agar yang ditandai dengan ada atau tidaknya pertumbuhan mikroba pada media tersebut. Hasil pengujian zat kimia SLS dengan metode dilusi dapat dilihat pada tabel 3 dan 4.

**Tabel 3. Hasil uji sensitivitas *S. mutans* ATCC 25175 terhadap antibakteri sodium lauril sulfat yang terkandung dalam pasta gigi metode dilusi**

Konsentrasi (%)	Sodium Lauril Sulfat		
	I	II	III
12%	-	-	-
6%	-	-	-
3%	-	-	-
1,5%	-	-	-
0,75%	-	-	-
0,375%	+	+	+
0,187%	+	+	+
0,094%	+	+	+
0,047%	+	+	+
0,023%	+	+	+
(+)	+	+	+
(-)	-	-	-

→ KHM

**Tabel 4. Hasil uji sensitivitas *C. albicans* ATCC 10231 terhadap antibakteri sodium lauril sulfat yang terkandung dalam pasta gigi metode dilusi**

Konsentrasi (%)	Sodium Lauril Sulfat		
	I	II	III
12%	-	-	-
6%	-	-	-
3%	-	-	-
1,5%	-	-	-
0,75%	-	-	-
0,375%	-	-	-
0,187%	-	-	-
0,094%	+	+	+
0,047%	+	+	+
0,023%	+	+	+
(+)	+	+	+
(-)	-	-	-

→ KHM

Berdasarkan tabel di atas dapat dilihat bahwa uji aktivitas antimikroba terhadap bakteri *S. mutans* ATCC 25175 dan jamur *C. albicans* ATCC 10231

dilakukan tiga kali pengulangan dengan konsentrasi 12%; 6%; 3%; 1,5%; 0,75%; 0,375%; 0,187%; 0,094%; 0,047%; 0,023%. Pengujian aktivitas antimikroba dilakukan dengan menggunakan zat kimia teraktif yaitu sodium lauril sulfat (SLS). Hal ini dilakukan untuk mengetahui daya hambat yang paling baik dari SLS terhadap bakteri *S. mutans* ATCC 25175 dan jamur *C. albicans* ATCC 10231. Hasil tabel bakteri *S. mutans* ATCC 25175 menunjukkan bahwa pada konsentrasi 0,375%; 0,187%; 0,094%; 0,047%; 0,023% masih terdapat pertumbuhan bakteri dilihat dari kekeruhan pada media cair. Konsentrasi 12%; 6%; 3%; 1,5%; 0,75% sudah tidak terdapat pertumbuhan bakteri dilihat dari kejernihan pada media cair. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) zat kimia SLS terhadap bakteri *S. mutans* ATCC 25175 adalah 0,75%. Sedangkan dari hasil jamur *C. albicans* ATCC 10231 menunjukkan bahwa pada konsentrasi 0,094%; 0,047%; 0,023% masih terdapat pertumbuhan bakteri dilihat dari kekeruhan pada media cair. Konsentrasi 12%; 6%; 3%; 1,5%; 0,75%; 0,375%; 0,187% sudah tidak terdapat pertumbuhan jamur dilihat dari kejernihan pada media cair. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) zat kimia SLS terhadap jamur *C. albicans* ATCC 10231 adalah 0,187%.

Berdasarkan nilai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dapat dilihat pada media agar yang mana tidak terlihat pertumbuhan mikroba pada media agar tersebut. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa bakteri *S. mutans* ATCC 25175 yang telah disuspensi dan diinkubasi selama 24 jam menunjukkan tidak terlihat adanya pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 12%; 6%; 3%; 1,5%; 0,75%, sehingga nilai KBM yang didapat adalah konsentrasi 0,75%. Untuk hasil pengamatan pada jamur *C. albicans* ATCC 10231 yang telah disuspensi dan diinkubasi selama 48 jam menunjukkan tidak terlihat adanya pertumbuhan jamur pada konsentrasi 12%; 6%; 3%; 1,5%; 0,75%; 0,375%; 0,187%. Nilai KBM yang didapat adalah konsentrasi 0,187%. Semakin tinggi konsentrasi pada zat uji maka semakin tinggi pula kandungan zat aktif yang terdapat di dalamnya sehingga aktivitas antimikroba akan semakin bertambah. Zat uji yang memiliki konsentrasi bunuh minimum semakin kecil, menandakan semakin potensialnya zat tersebut sebagai antimikroba karena dengan konsentrasi kecil pada zat uji dapat membunuh mikroba. Konsentrasi bunuh minimum ditentukan dengan konsentrasi

paling rendah yang tidak ditumbuhi koloni mikroba pada media. Zat kimia SLS terbukti memiliki daya bunuh minimum terhadap aktivitas antimikroba, mungkin disebabkan karena adanya interaksi SLS terhadap mikroba serta adanya peningkatan kemurnian konsentrasi zat aktif antimikroba terhadap *S. mutans* ATCC 25175 dan *C. albicans* ATCC 10231. Hal ini terbukti bahwa aktivitas antimikroba SLS lebih optimal dalam menghambat pertumbuhan jamur *C. albicans* ATCC 10231 dibanding dengan bakteri *S. mutans* ATCC 25175, dimana SLS merupakan surfaktan yang mempunyai sifat amfifilik karena memiliki rantai C<sub>12</sub> (lipofilik) dan gugus sulfat (hidrofilik). Adanya dua gugus fungsi dalam satu molekul dalam SLS, menyebabkan SLS tersebut mampu berfungsi sebagai pembersih dan antimikroba (Buana, 2013). Fungsi SLS juga bekerja menurunkan tegangan permukaan dengan menghasilkan busa serta mikroemulsi. Senyawa ini bekerja dengan mengganggu ikatan non-kovalen di dalam protein, mengubah sifatnya dan menyebabkan molekul berubah dari bentuk aslinya. Membran protein *C. albicans* memiliki aktifitas enzim seperti khitin sintese, glukon sintese, ATPase dan protein yang mentransport fosfat. Terdapatnya membran sterol pada dinding sel jamur memegang peranan penting sebagai target menekan pertumbuhan dan perkembangan jamur (Toenjes *et al*, 2009). SLS masuk ke dalam sel jamur dengan mengganggu metabolisme di dalam sel jamur sehingga akan mengakibatkan matinya sel jamur. Pada penelitian ini konsentrasi SLS yang digunakan adalah 12%, 6% dan 3% yang mana konsentrasi 12% dan 6% merupakan konsentrasi tertinggi daripada di pasaran, dan merupakan aktivitas antimikroba yang lebih optimal dalam membunuh bakteri *S. mutans* ATCC 25175 dan jamur *C. albicans* ATCC 10231, tetapi untuk konsentrasi 3% SLS juga masih memiliki aktivitas sebagai antimikroba. Hasil KBM pada media agar untuk bakteri *S. mutans* ATCC 25175 dan jamur *C. albicans* ATCC 10231 dapat dilihat pada lampiran 11 dan 18.

Namun beberapa penelitian menunjukkan bahwa SLS merupakan denaturasi yang berbahaya bagi jaringan mulut dan dapat mengiritasi epidermis. Denaturasi akibat penggunaan SLS dapat menyebabkan perubahan struktur protein transmembran sehingga mengakibatkan perubahan sensitivitas rasa (Upayakti

2008), apabila konsentrasi yang digunakan terlalu besar. SLS ditemukan pada 99% pasta gigi (Nadhia *et al* 2009). Saat ini jumlah deterjen (SLS) yang digunakan bervariasi antara 1,5-5% dari total berat pasta gigi. Batas toleransi SLS dalam komposisi pasta gigi yang dapat diterima adalah 0,0001 %. Penggunaan SLS yang melebihi batas toleransi dapat menyebabkan efek negatif pada mukosa mulut dan kulit (Upayakti 2008).

Konsentrasi  $H_2O_2$  adalah: 3-3,5% (kadar farmasi) sediaan dengan konsentrasi ini banyak dijual di apotek, toko obat dan supermarket. Menurut *code of federal regulation*, konsentrasi  $H_2O_2$  terbagi atas: <8% tidak berbahaya. Digunakan sebagai *baking soda* pasta gigi, sterilisasi kontak lens, deterjen dan lain-lain; 8-27,5%. Sediaan ini mengandung sejumlah stabilisator, seperti asetanilid, fenol, natrium stanat dan tetranatrium fosfat yang bersifat toksik, sehingga tidak direkomendasikan untuk pemakaian dalam tubuh dengan konsentrasi tinggi.  $H_2O_2$  adalah suatu senyawa yang iritan terhadap mata, membran mukosa dan kulit. Paparan singkat pada mata dapat mengakibatkan rasa perih dan mata berair, walaupun dengan konsentrasi 1-3%. Kontak kulit akan menyebabkan pemutihan kulit sementara. Inhalasi pada kadar yang tinggi akan menyebabkan iritasi yang berat pada hidung dan saluran napas. Bila tertelan, maka akan terjadi iritasi sampai kerusakan berat pada saluran cerna. Keracunan sistemik akan menyebabkan sakit kepala, pusing, muntah, diare, tremor, mati rasa, kejang, edema paru, kehilangan kesadaran sampai syok (Sumilat, 2009).

Triklosan merupakan golongan fenol yang memiliki keuntungan sendiri dibandingkan dengan derivat fenol lainnya yaitu triklosan tidak mengiritasi dibandingkan dengan derivat fenol lainnya. Oleh karena itu, triklosan digunakan sebagai antiseptik pada kulit dan pada membran mukosa. Kadar triklosan sebagai antiseptik adalah 0,05%-2%. Triklosan 0,3% tunggal dalam pasta gigi dapat menghambat akumulasi plak, tetapi aktivitas antiplaknya hanya derajat sedang sehingga harus digabung dengan antibakteri lain (Wahyu, 2006).

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, maka diperoleh hasil bahwa :

Pertama, zat kimia SLS, triklosan dan hidrogen peroksida mempunyai aktifitas antimikroba terhadap *S. mutans* ATCC 25175 dan *C. albicans* ATCC 10231.

Kedua, zat kimia yang paling aktif terhadap *S. mutans* ATCC dan *C. albicans* ATCC 10231 adalah SLS

Ketiga, SLS lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan jamur *C. albicans* ATCC 10231 dibanding terhadap bakteri *S. mutans* ATCC 25175.

Keempat, nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan nilai Konsentrasi bunuh minimum (KBM) zat kimia SLS terhadap bakteri *S. mutans* ATCC 25175 adalah 0,75%, dan jamur *C. albicans* ATCC 10231 adalah 0,187%.

#### **B. Saran**

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut secara in vivo sebagai kelanjutan secara in vitro.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas antimikroba zat kimia SLS, triklosan dan hidrogen peroksida terhadap *S. mutans* ATCC dan *C. albicans* ATCC 10231 dengan kombinasi ketiga zat tersebut.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdurahman, D. 2008. *Biologi Kelompok Pertanian dan Kesehatan*. Bandung: Grafindo Media Pratama. Halaman 63.
- 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.)* 38(1): 45–47.
- Agustina A, Tjahajani A, Auerkari E. 2007. *Pengaruh Pasta Gigi Mengandung Xylitol Terhadap Pertumbuhan Streptococcus mutans Serotip C In vitro. Indonesia journal of dentistry*; 14(3): 204-209.
- Akpan A. Dan Morgan R. 2002. Review Oral Candidiasis. *Postgrad Med J*, 78:455-495.
- Amani T, N.2003. *Daya Anti Bakteri Pasta Gigi yang Mengandung Triclosan, Zinc Citrat dan Enzim terhadap Pertumbuhan Koloni Bakteri Saliva*. Skripsi. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Ariani, Sri Retno Dwi., VH. Elfi Susanti., Susilawati, Endang, 2004. *Analisis Fitokimia Minyak Atsiri Rimpang Temu Glenyeh (Curcuma soloensis Val) dari daerah Karanganyar serta Pengaruhnya Terhadap Jamur Penyebab Utama Dematofitoris dan Kandidiasis*. Lembaga Penelitian Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Aslim, F. 2014. *“Daya Hambat Xylitol terhadap Pertumbuhan Mikroorganisme Rongga Mulut (Streptococcus mutans, Staphylococcus aureus, dan Candida albicans) Studi In Vitro”*. Skripsi. Makassar : FKG Universitas Hasanuddin.
- Bonang G & Koeswardono ES. 1982. *Mikrobiologi Kedokteran untuk Laboratorium dan Klinik*. Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran. Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya. Yogyakarta: Gramedia. Hal 65-68.
- Brooks, G.F., Butel, J. S., & Morse, S. A. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*. Terjemahan Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Salemba Medika. Jakarta.
- Brooks, G.F., Butel, J. S., & Morse, S. A. 2004. *Mikrobiologi Kedokteran*, Jawetz, Melnick, & Adelberg Ed 23. Jakarta: ECG.
- Brooks, G.F., Carroll K.C., Butel J.S., Morse S.A., 2007. *Jawetz, Melnick & Adleberg's Medical Microbiology*. Edisi 24. Boston : Mc GrawHill. Pp :161-5,253-4.

- Brown T.A. 2010. *Gene Cloning and DNA Analysis: An Introduction*. Sixth Edition. Wiley Blackwell Publishing. Oxford.
- Brunton, LL., Lazo, J.S., dan Parker, K.L. 2006. *Goodman & Gilman's The Pharmacologi Basis of Therapeutics*. Ed 11. New York : McGraw Hill.
- Buana, E.S., 2013. *Pengaruh Penambahan Surfaktan Anionik Sodium Dodesil Sulfat Terhadap Karakteristik Membran Selulosa Asetat*. Retrieved from : <http://repository.unej.ac.id/bitstream/handle/123456789/4146/Eka%20Sur%20Buana%20-%2020071810301040.pdf?sequence=1>.
- Carranza, F.A., Newman, M. G. 2002. *Clinical Periodontology 9th Ed*. Philadelphia Wb, Saunders.
- Daniswara N. 2008. Perbandingan Efektivitas Air Perasan Buah Nanas (*Ananas comosus L Merr*) 100%, Zinc Pyrithione 1% Dan Ketokonazol 1% Secara Invitro Terhadap Pertumbuhan *Pityrosporum ovale* [Skripsi]. Semarang: Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro.
- Darmadi. 2008. *Infeksi Nosokomial: Problematika dan Pengendaliannya*. Jakarta; Salemba Medika.
- Davidson, P. M. dan A. L. Branen. 1993. *Antimicrobial in Food*. 2nd Edition. Resised and Expanded. Marcel Dekker Inc., New York.
- Depkes RI. 1979. *Farmakope Indonesia*. Edisi III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dewi, R. 2011. *Pengaruh Pasta Gigi Dengan Kandungan Buah Apel (Pyrus Malus) Terhadap Pembentukan Plak Gigi*. Artikel Ilmiah. Semarang: Program Pendidikan Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Duggal, M., Cameron, A and Toumba, J., 2014. *At a Glance Kedokteran Gigi Anak (terj.)*, Jakarta : Penerbit Erlangga., pp : 31.
- Djide. M. N, Sartini. 2008, *Dasar-Dasar Mikrobiologi Farmasi*. Makassar : Lembaga Penerbit Unhas.
- Enda F. 2012. *Pengaruh Pemberian Larutan Ekstrak Jeruk Nipis (Citrus aurantifolia) terhadap Pembentukan Plak Gigi* [Skripsi]. Semarang. Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro.
- Ghassemi A, Vorwerk L, Hooper W. *A Four-Week Clinical Study to Evaluate and Compare the Effectiveness of a Baking Soda Dentifrice and an Antimicrobial Dentifrice in Reducing Plaque*. *J Clin Dent* ; 2008 (19) : 5-6

- Hadioetomo, S.G. 1985. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek*. Institut Pertanian. Bogor.
- Haqiqi R. 2013. “*Uji Minimum Inhibitory Concentration dan Minimum Bactericidal Concentration Ekstrak Polyphenol Biji Kakao (Theobroma cacao L) Terhadap Streptococcus mutans*”. Skripsi. Jember : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
- Hart T dan Sheart P. 1997. *Atlas Berwarna Mikrobiologi Kedokteran*, 73, 76, 80, 82, 93, 111, Jakarta, Penerbit Hipokrates
- Houwink, B.1993.*Ilmu Kedokteran Gigi Pencegahan*. Yogyakarta : Gajah Mada University Press
- Jamilah. 2010. “*Pengaruh Ekstrak Daun Sirih yang Dicampurkan Pada Pasta Gigi Terhadap Pertumbuhan Streptococcus mutans*”. Tidak Diterbitkan. Skripsi. Medan : Universitas Sumatra Utara.
- Jannata RH, Gunadi A, Ermawati T. 2014. *Daya Antibakteri Ekstrak Kulit Apel Manalagi (Malus sylvestris Mill.) Terhadap Pertumbuhan Streptococcus mutans*. e-Jurnal Pustaka Kesehatan 2(1): 23-28.
- Jawetz E, Melnick J, Adelberg E. 1986. *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan*. Edisi XVI. Diterjemahkan oleh dr. Bonang,G. Jakarta: EGC Press. Halaman 366-384.
- Jawetz E, Melnick J, Adelberg E. 1995. *Mikrobiologi Kedokteran* Edisi 20. Jakarta:EGC.
- Jawetz E, Melnick J, Adelberg E. 2007. *Medical Microbiology*. Ed. Elferina NR. Penerjemah: Jakarta.
- Kleyn J, Bicknell M. 2001. *Microbiology Experiments: A Health Science Perspective*, Third Edition, 40, 199-202, 323, New York, McGraw-Hill.
- Komariah, Sjam R. 2012. *Kolonisasi Candida dalam Rongga Mulut*. Majalah Kedokteran FK UKI XXVIII(1): 1-9.
- Lestari, N. N., 2014. *Pengaruh Jumlah Daun Rebusan Sirih Merah dan Daun Rebusan Sirih Kuning Terhadap Pertumbuhan Bakteri Streptococcus mutans (Kajian in vitro)*. [Skripsi]. Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- Loho Tonny dan Utami Lidya., 2007. *Uji Efektifitas Antiseptik Triclosan 1% Terhadap Staphylococcus Aureus, Escherichia Coli, Enterococcus Faecalis Dan Pseudomonas Aeruginosa*. 57(6): 171-178.



- Maghfirah, Ifa. 2014. "Aktivitas Mikrobisida Sel Monosit dan Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Terhadap Jumlah Koloni *S. mutans*". Skripsi. Jember : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
- Marsh, P., 2006, Dental Plaque as a Biofilm and a Microbial Community – Implications for Health and Disease, *BMC Oral Health*, 6 (Suppl 1), 514.
- Mayer, F. L., Duncan, W., dan Bernhard, H. 2013. *Candida albicans Pathogenicity Mechanisms. Virulence*. 4(2): 119-128.
- Moore, C., Addy, M and Moran, J., 2008. Toothpaste detergents: a potential source of oral soft tissue damage?, *International Jurnal Dental Hygiene*, 6:193-198.
- Nadhia BR, jenny, S & Anis, I 2009. *Penurunan Sensitivitas Rasa Manis Akibat Pemakaian Pasta Gigi yang Mengandung Sodium Lauryl Sulfat 5%*. Jurnal PDGI. Vol 58. No1.25.
- Nishimura, Saito, Yoneyama, Bai, Okumera, and Isogai. 2012. Biofilm formation by *S.mutans* and related bacteria. *Advanced in Microbiology*. 2: 208-7.
- Nordstrom, A., Mystikos, C., Ramberg, P and Birkhed, D., 2009. *Effect on de novo plaque formation of rinsing with toothpaste slurries and water solution with a high fluoride toothpaste on the development of plaque and gingivitis. Journal Oral Science*. 177(5):563-567.
- Nugraha, A. W. 2007. *Streptococcus mutans, Plak Dimana-Mana*. Yogyakarta : Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta.
- Osman , 2007. A Copper Determination Method Based on the Reaction between 2-(5-Nitro-2-Pyridylazo)-5-(N-Propyl-NSulfopropylamino) Phenol (Nitro-PAPS) and Copper for Use in Urine Copper Measurement and Application to Automation. *Turkish Jurnal Medical Science*. Vol 37(2): 83-86
- Pambudi, S. dan S. B. Widjanarko. 2015. *Pengaruh Proporsi Natrium Bikarbonat dan Ammonium Bikarbonat sebagai Bahan Pengembang terhadap Karakteristik Kue Bagiak*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Vol 3. Hal 61-67.
- Patterson, MJ. 1996. *Streptococcus*.<http://en.wikipedia.org/wiki/Streptococcus>[05 Januari 2010].
- Plumb, P. 2009. Sodium Lauryl Sulfate, Dalam Rowe R.C. Sheskey P.J. And Quinn M.E. eds. *Handbook of Pharmaceutical Excipients Sixth Edition*. Pharmaceutical Press. London,P. 651-653.

- Prahasanti, C. 2000. *Pengaruh Pasta Gigi yang Mengandung Ekstrak Daun Sirih terhadap Pertumbuhan Plak Gigi*. *Majalah Kedokteran Gigi*, vol.33 No.4.
- Pratama, R, N. 2014. *Efek Antibakteri Pasta Gigi yang Mengandung Baking Soda dan Pasta Gigi yang Mengandung Fluor terhadap Pertumbuhan Bakteri Plak* [Skripsi]. Makasar: Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hasanuddin.
- Pratita MYE, Putra SR. 2012. *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Termofilik dari Sumber Mata Air Panas Di Songgoriti Dua Hari Inkubasi*. *Jurnal Teknik Pomits*. Volume 1 (1).
- Pratiwi R. 2005. *Perbedaan Daya Hambat terhadap Streptococcus mutans dari Beberapa Pasta Gigi yang Mengandung Herbal*. *Maj. Ked. Gigi*. (Dent. J.) 38(2): 64–67.
- Pratiwi, ST., 2008, *Mikrobiologi Farmasi*, Erlangga, Jakarta.
- Putra, T. 2002. *Pasta Gigi yang Mengandung Flour Sebagai Salah Satu Bahan untuk Mencegah Terjadinya Stomatitis Gigi Tiruan*. *Jurnal PDGI*., Edisi Khusus Th ke-52:330.
- Radji M. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Penerbit Buku Kedokteran EKG. Jakarta.
- Randal, L.P. 2006. *Triclosan Information*. Available at: <http://www.cibasc.com/ind-pc-triclosan.htm>. [04 Maret 2006]
- Rusdimin. 2003. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek*. Jakarta: Pt Gramedia.
- Riana C. 2006. *“Karakteristik Candida albicans”*. Jakarta: Staf Pengajar Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Roberson, T.M., Heyman, H.O., dan Swift, E.J. 2007. *Studevant’s Art & Science of Operative Dentistry 4th edition*. USA: Mosby
- Rochmawati M., Irmawati A., Sunariani J. 2008. *Perbedaan Derajat Keasaman (pH) Saliva Akibat Pemakaian Jangka Panjang Pasta Gigi Berdeterjen Sodium Lauryl Sulphate 5% dengan Pasta Gigi Nondeterjen*. *Majalah Ilmu Faal Indonesia*, Vol 8/1/3-4. FKG Universitas Airlangga. Surabaya.
- Roeslan, B. U. 2001. *“Hambatan terjadinya Karies Gigi Setelah Diimunisasi dengan Glukosiltransferase Streptococcus mutans INA99 yang diaplikasikan pada Mukosa Rongga Mulut” (Disertasi)*. Jakarta: Universitas Indonesia

- Roslan, A.N.B., Sunariani, J and Irmawati A., 2009. *Penurunan Sensitivitas Rasa Manis Akibat Pemakaian Pasta Gigi yang Mengandung Sodium Lauryl Sulphate 5%. Jurnal PDGI*, 58 (2): 10-13.
- Sabir, A., 2005. *Aktivitas Antibakteri Flavonoid Propolis Trigona sp Terhadap Bakteri Streptococcus mutans (in vitro). Majalah Kedokteran Gigi*, Vol 38 No. 3 Hal 135, FKG Universitas Hasanudin, Makasar.
- Salzer, S., Rosema, N.A.M., Martin, E.C.J., Slot, D.E., Timmer, C.J., Dorfer, C.E and Weijden, G.A.V.D., 2016. *The effectiveness of dentifrices without and with sodium lauryl sulfate on plaque, gingivitis and gingival abrasion, Clinical Oral Invest.* 20:443-450.
- Samad, F, 2008, *Karies Gigi*, Pekanbaru, FK-UNRI
- Samit W A, Handoko E. 2009. *Metabolisme Hidrogen Peroksida dan Peranannya Pada Infeksi Telinga*. Fakultas Kedokteran. Universitas Brawijaya, Malang
- Sasmita, Pertiwi, I., dan Halim, A. 2007. *Gambaran Efek Pasta Gigi yang Mengandung Herbal Terhadap Penurunan Indeks Plak. Jurnal PDGI*., Edisi Khusus PIN IKGA II:37-41.
- Silhacek K, Taake K. *Sodium Bicarbonat and Hidrogen Peroxide The Effect on The Growth of Streptococcus mutans. JDent Health*; 2005(79):2-6
- Simatupang, M. 2009. "*Candida albicans*". USU Repository. Sumatra Utara : Fakultas Kedokteran Universitas Sumatra Utara.
- Simon, L. *The role of Streptococcus mutans and oral ecology in formation of dental caries. Lethbridge Undergraduate Research Journal*. Vol 2. 2007 : 1-7.
- Soleha, T. U. 2015. *Uji Kepekaan terhadap Antibiotik*. Jurnal Kesehatan Unila, Vol. 5, No. 9: 119 – 123.
- Suriawiria, U. 1986. *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Bandung : Penerbit Angkasa.
- Suriawiria, U. 2005. *Mikrobiologi Dasar*. Jakarta: Tapas Sinar Sinanti.
- Surono, I. 2004. *Probiotik, Susu Fermentasi dan Kesehatan*. PT Tri Cipta Karya, Jakarta.
- Suryana, F. 2013. *Analisa Kualitas Air Sumur Dangkal di Kecamatan Biringkanaya Kota Makasar*. Skripsi. Makassar: Universitas Hasanuddin.

- Sriyanti DP, Wijayanti A. 2008. *Teknik Kultur Jaringan*. Cetakan ke-9. Yogyakarta: Penerbit Kanisius. Halaman 86.
- Syahrurachman A. 1994. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Binarupa Aksara.
- Sweetman, S. 2009. Martindale 36th. The Pharmaceutical, Press, London.
- Thifal G. 2016. Pengaruh Pasta Gigi Ekstrak Daun Sukun (*Artocarpus altilis* (Park). Fosbreg). Terhadap Hambatan Pertumbuhan *Streptococcus mutans* [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Muhammadiyah.
- Tjampakasari, C.R. 2006. *Karakteristik Candida albicans Cermin Dunia Kedokteran*. <http://www.smallcrab.com/kesehatan/415-karakteristik-candida-albicans>. [diakses 10 februari 2010].
- Tjitrosoepomo, G. 1994. *Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)*. Cetakan VII. Yogyakarta. Gadjah Mada University Press. Hal 4-20.
- Toenjes, K.A, et al. 2009. *Inhibitors of Cellular Signalling are Cytotoxic or Block The Budded-to-Hyphal Transition In The Pathogenic Yeast Candida albicans*. *J Med Microbiologi*. 58(Pt 6): 779-790.
- Upayakti, I. 2008. *Perbandingan Sensitivitas Rasa Asam Akibat Pemakaian Pasta Gigi Berdeterjen Sodium Lauryl Sulfat dan Pasta Gigi Nondeterjen*. Sekripsi. FKG Airlangga. Surabaya.
- Verawati. 2016. *Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Etanol Kulit dan Biji Petai (Parkia speciosa Hassk) Terhadap Bakteri Escherichia coli*. *Jurnal Akademi Farmasi Prayoga*, 1 (1), 8-12. Padang.
- Volk and Wheeler. 1993. *Analisis Praktikum Mikrobiologi Umum Untuk Perguruan Tinggi*. UGM Press, Yogyakarta.
- Wahyu T. 2006. *Uji Daya Antiseptik Sediaan Hand Sanitizer Gel Mengandung Etanol dan Triklosan*. [Skripsi]. Surabaya: Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga.
- Waluyo, L. 2007. *Mikrobiologi Umum*. Hal 46, 47, 55. Surabaya : Penerbit Universitas Muhammadiyah Malang
- Zaenab. 2004. *Uji Antibakteri Siwak (Salvadora Persica Linn.) terhadap Streptococcus mutans (ATC31987) dan Bacteroides Melaninogenicus*. Makalah kesehatan; 8(2):h.37-40. [serial online] <http://journal.ui.ac.id/health/article/download/287/283>. Diakses pada 16 Mei 2015.

L

A

M

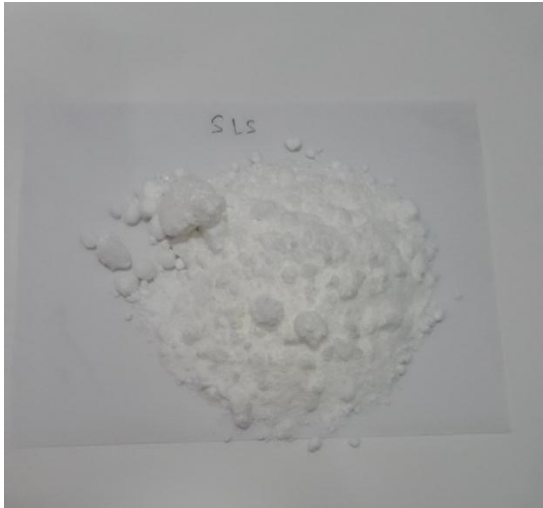
P

I

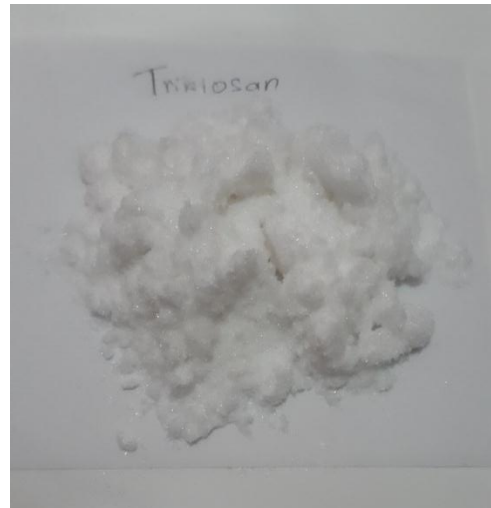
R

A

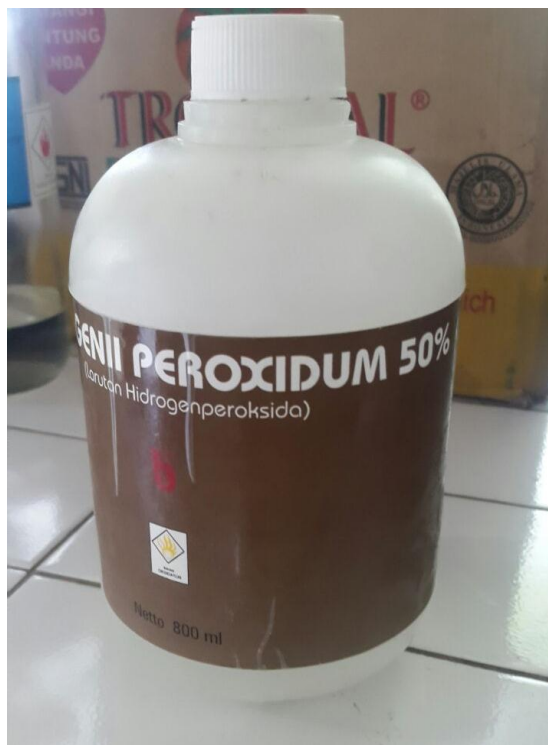
N

**Lampiran 1. Foto bahan kimia**

Serbuk Sodium lauryl sulfat



Serbuk triklosan

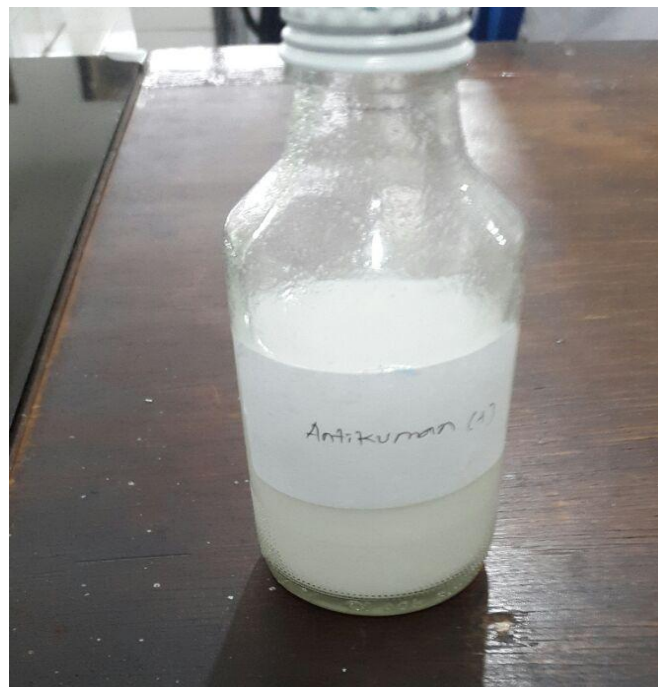


Hidrogen peroksida

## Lampiran 2. Foto antimikroba

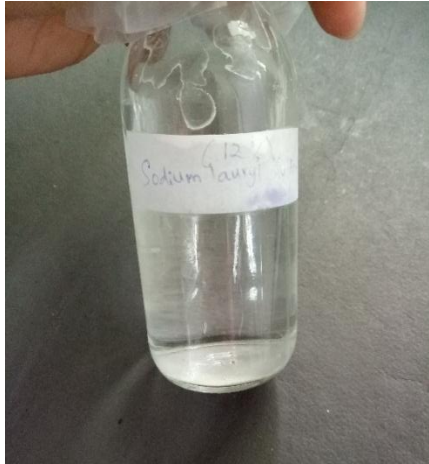


Antibiotik tetrasiklin

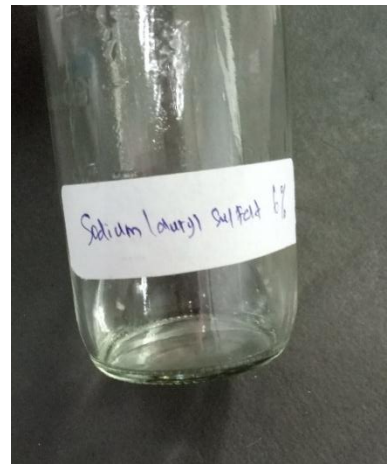


Antijamur ketokonazol

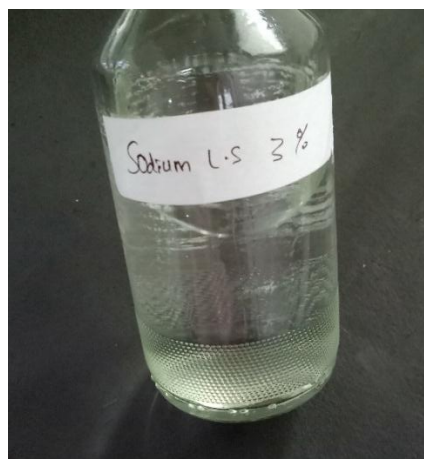
**Lampiran 3. Foto pengenceran zat kimia sodium lauril sulfat**



Sodium lauril sulfat 12%



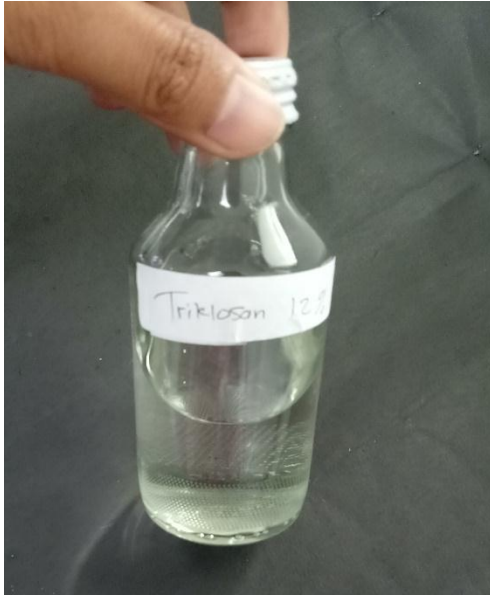
Sodium lauril sulfat 6%



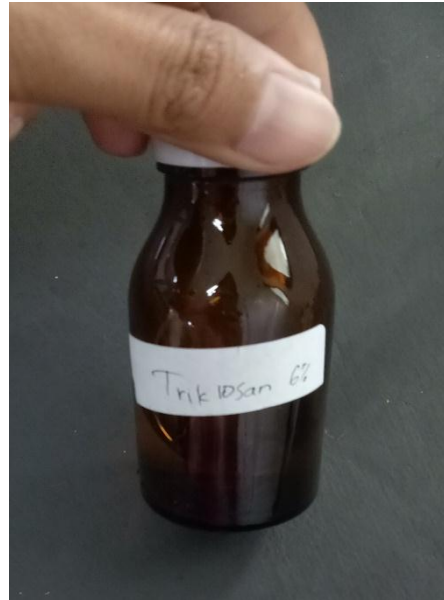
Sodium lauril sulfat 3%



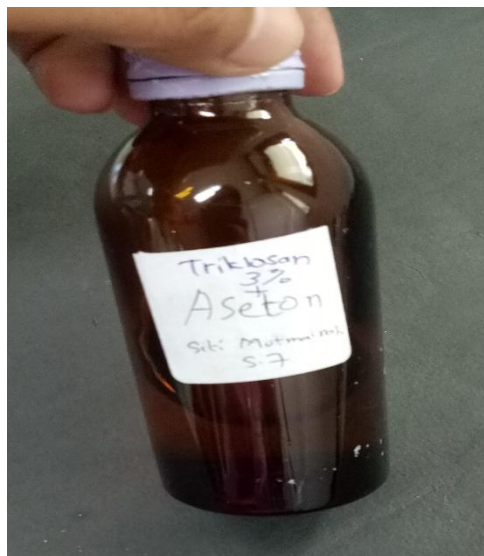
**Lampiran 4. Foto pengenceran zat kimia triklosan**



Triklosan 12%

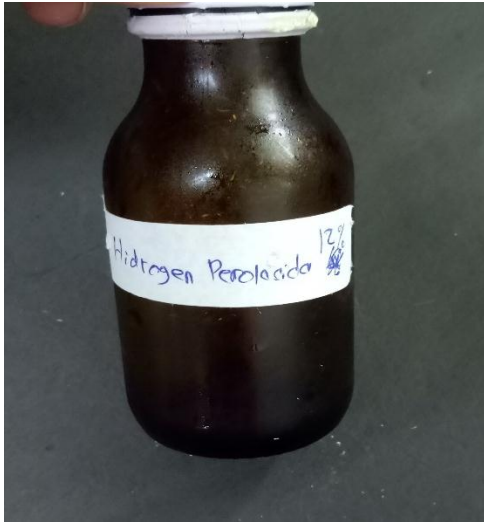


Triklosan 6%

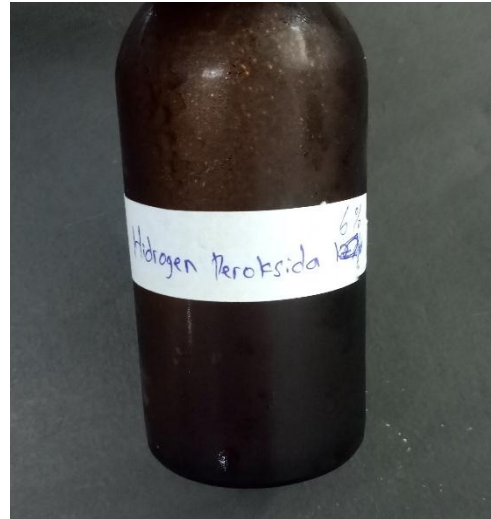


Triklosan 3%

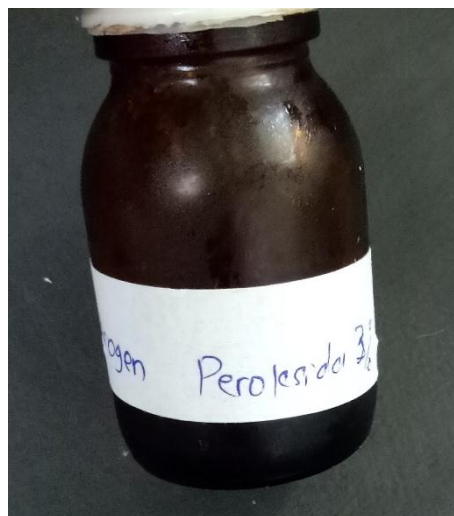
**Lampiran 5. Foto pengenceran zat kimia hidrogen peroksida**



Hidrogen Peroksida 12%



Hidrogen Peroksida 6%

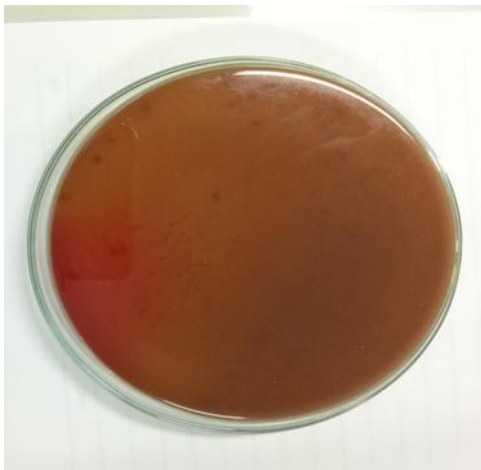


Hidrogen Peroksida 3%

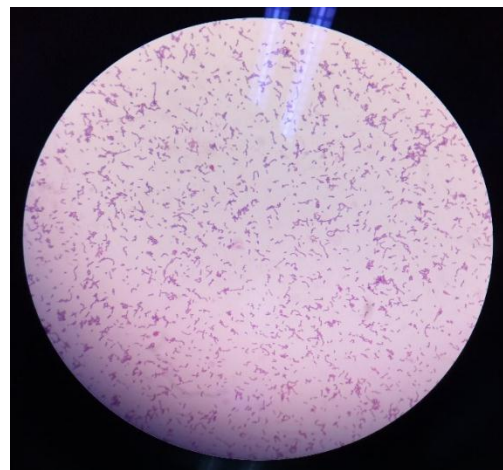
**Lampiran 6. Foto suspensi bakteri *S. mutans* ATCC 25175 dan identifikasi bakteri dengan pewarnaan Gram**



Suspensi bakteri pada media BHI

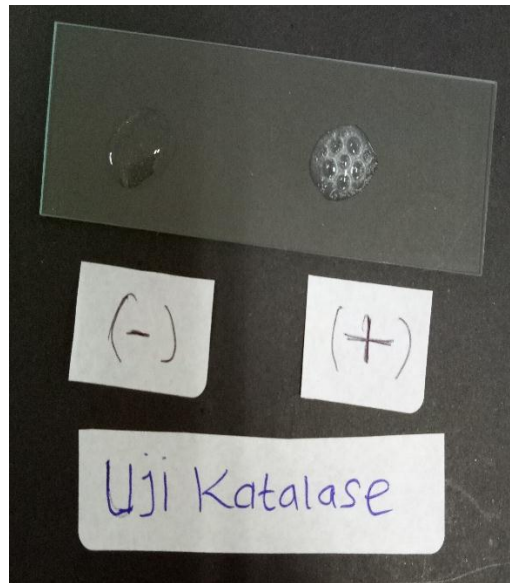


Identifikasi morfologi pada media  
MHA darah

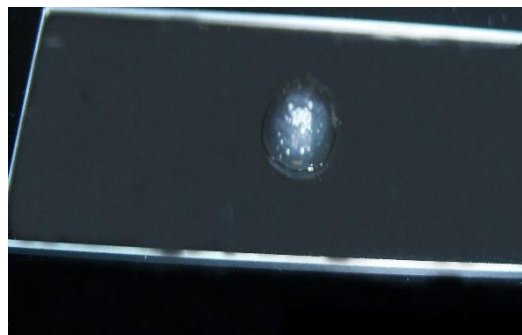


Identifikasi secara mikroskopis

**Lampiran 7. Foto identifikasi bakteri *S. mutans* ATCC 25175 secara biokimia dengan membandingkan bakteri *S. aureus* ATCC 25923**

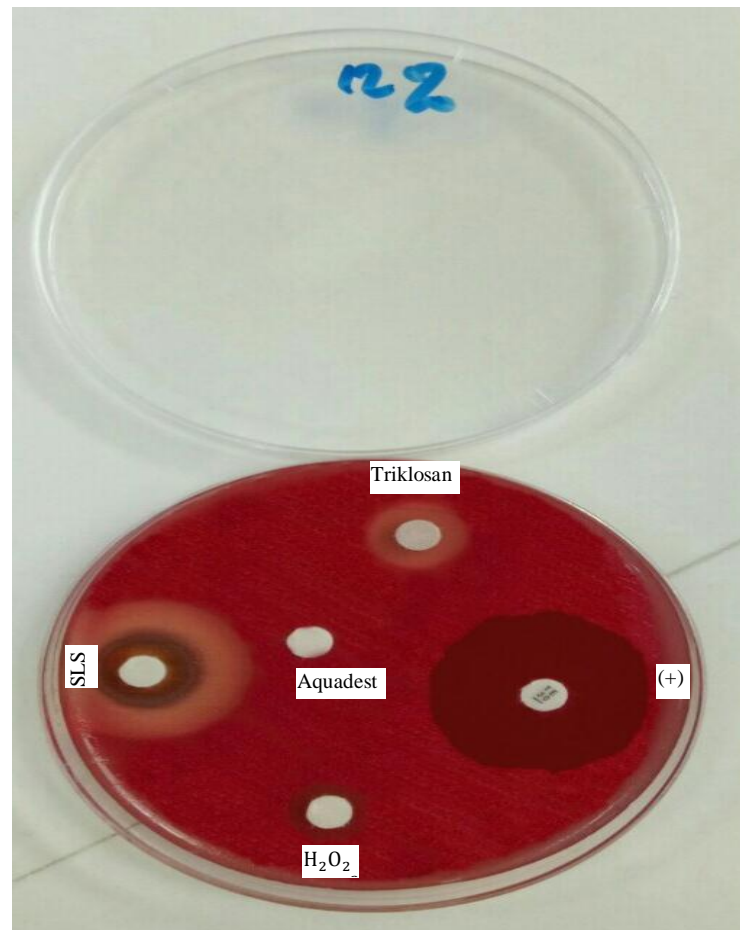


Uji katalase *S. mutans* ATCC 25175

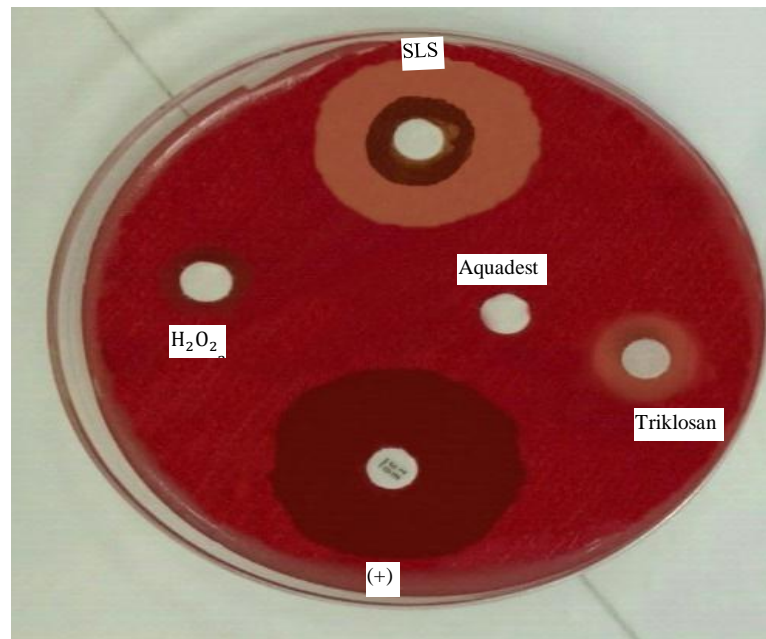


Uji koagulase *S. mutans* ATCC 25175

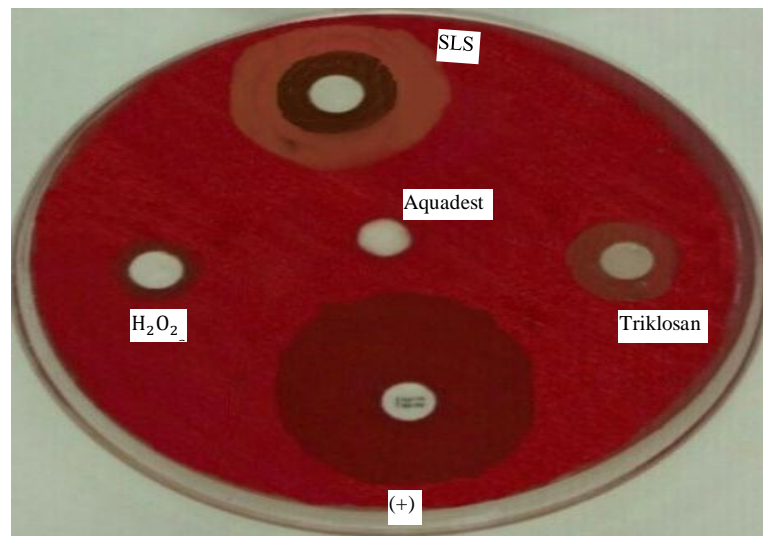
**Lampiran 8. Foto hasil uji antibakteri sodium lauril sulfat, triklosan dan hidrogen peroksida terhadap *S. mutans* ATCC 25175 konsentrasi 12%**



Replikasi I



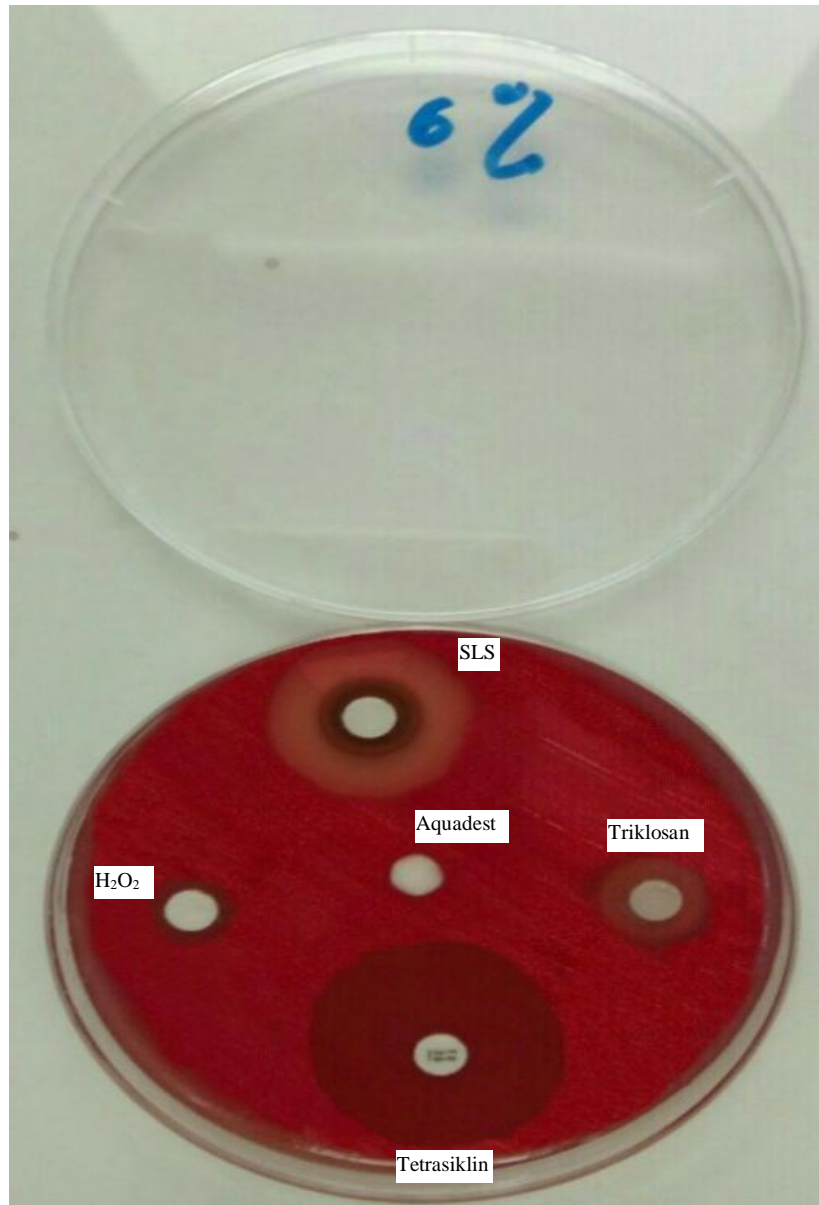
Replikasi II



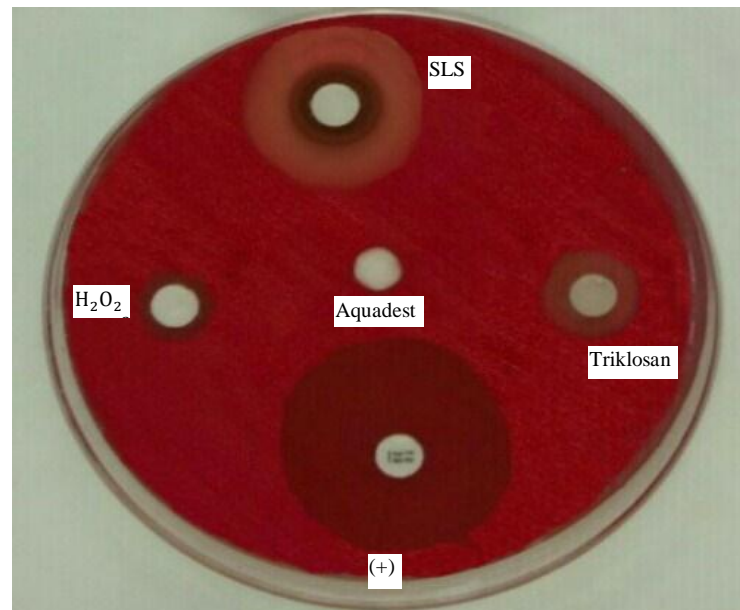
Replikasi III



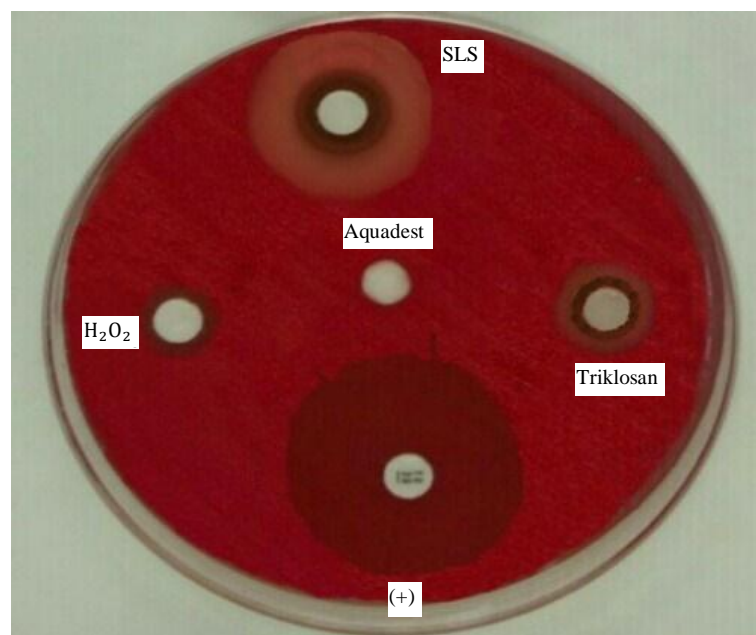
**Lampiran 9. Foto hasil uji antibakteri sodium lauril sulfat, triklosan dan hidrogen peroksida terhadap *S. mutan* ATCC 25175 konsentrasi 6%**



Replikasi I



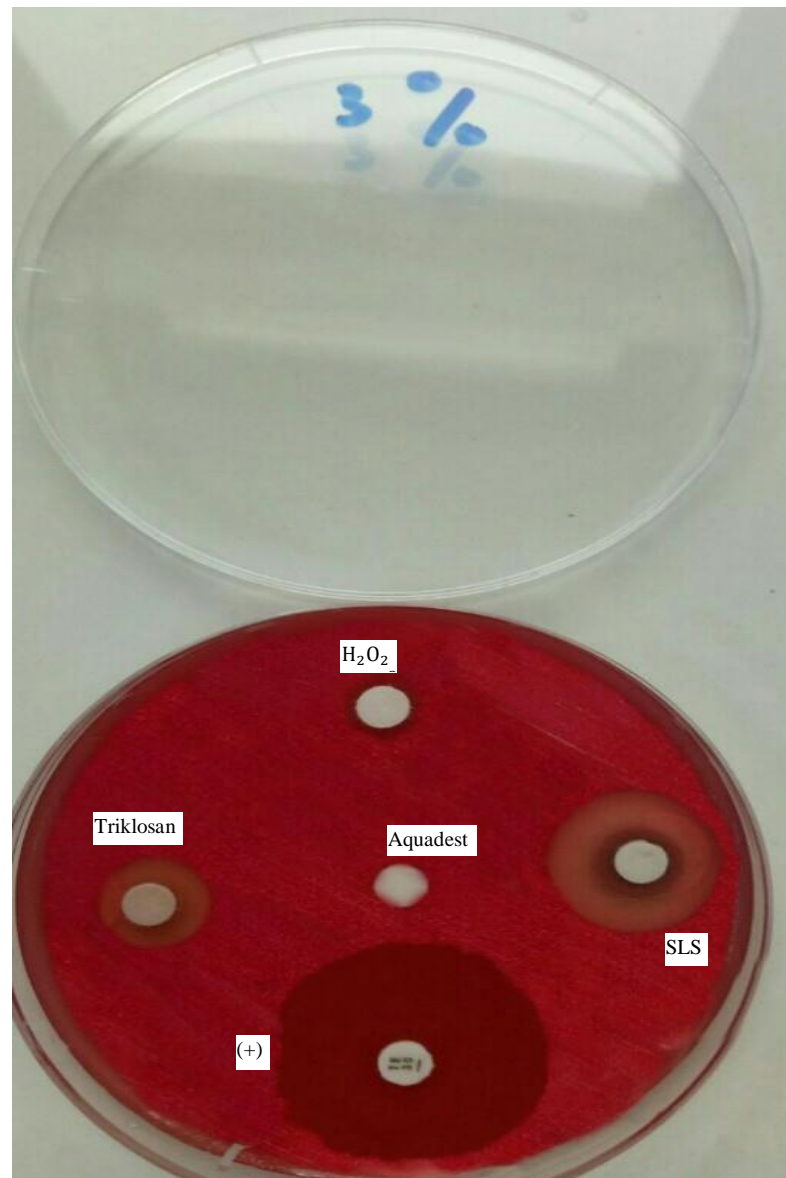
Replikasi II



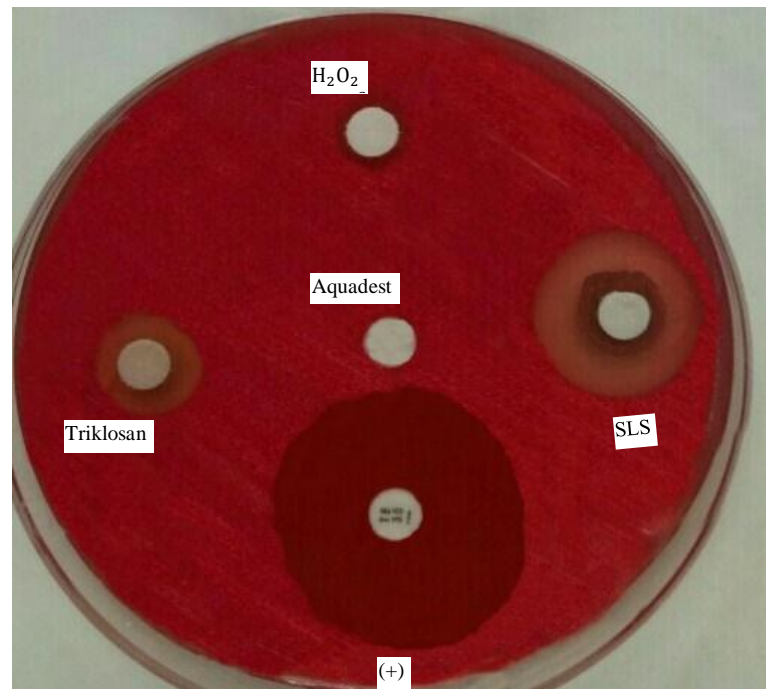
Replikasi III



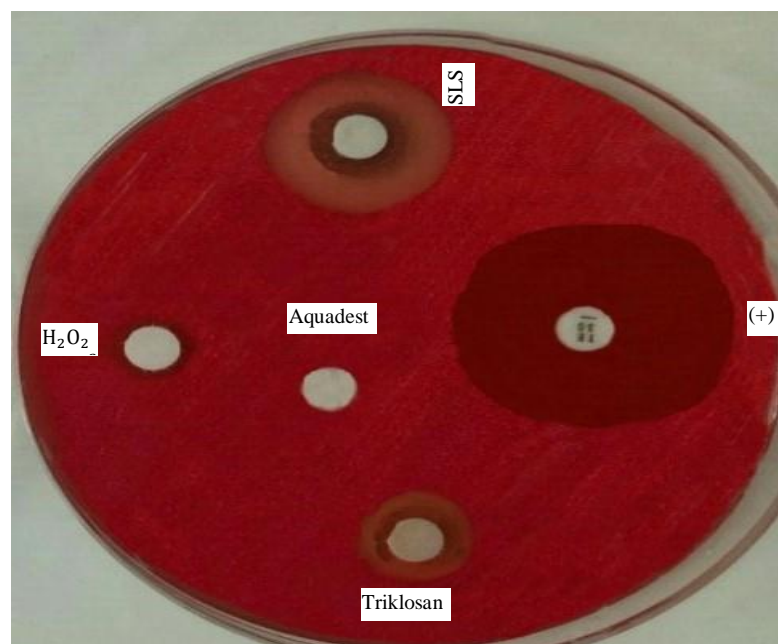
**Lampiran 10. Foto hasil uji antibakteri sodium lauril sulfat, triklosan dan hidrogen peroksida terhadap *S. mutan* ATCC 25175 konsentrasi 3%**



Replikasi I

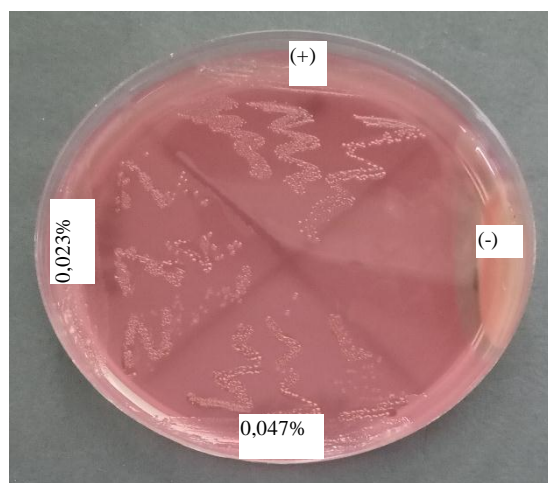
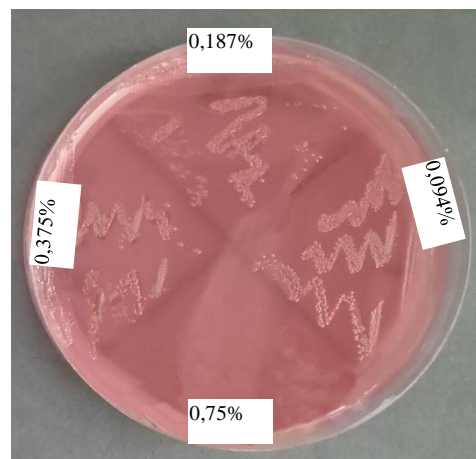
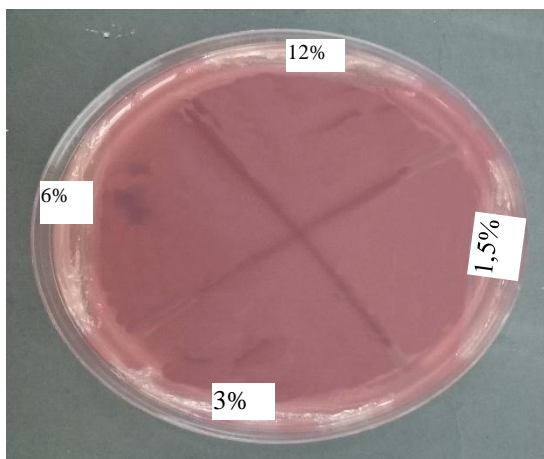
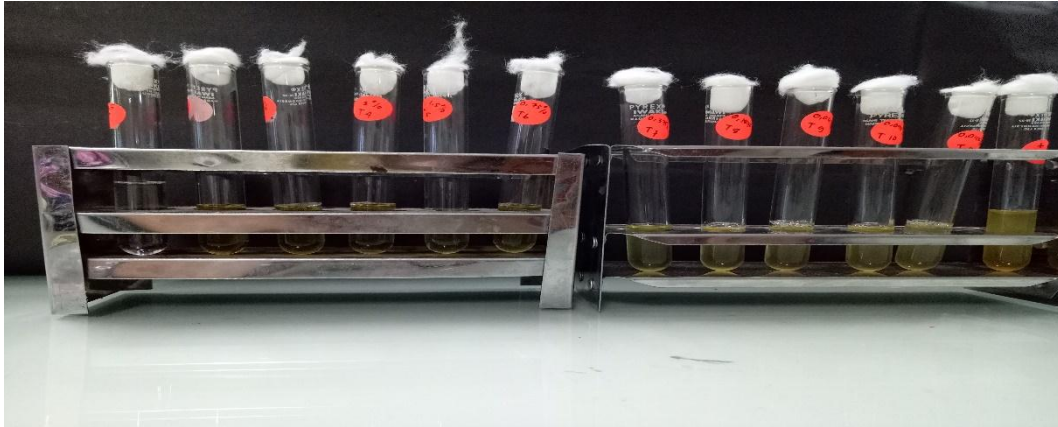


Replikasi II

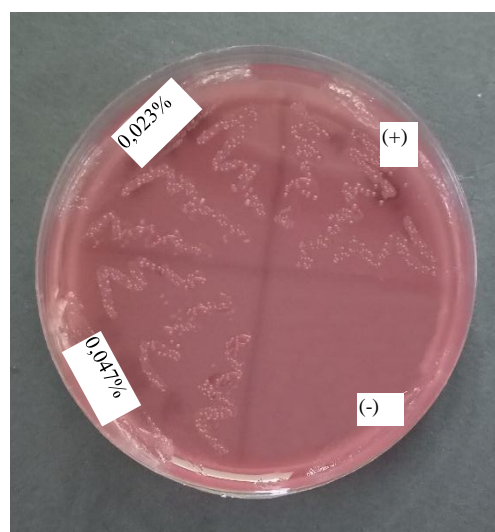
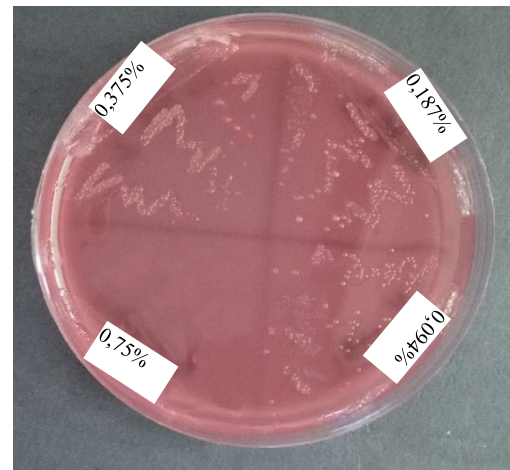
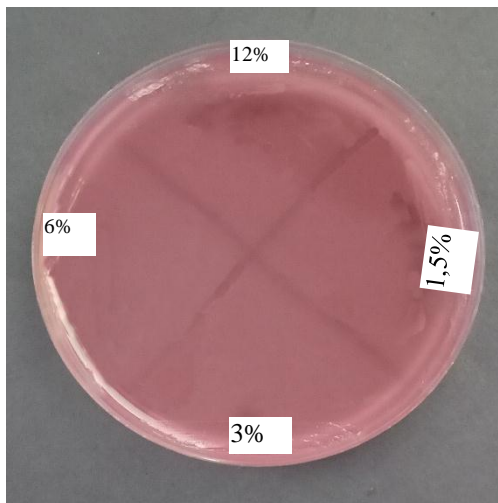
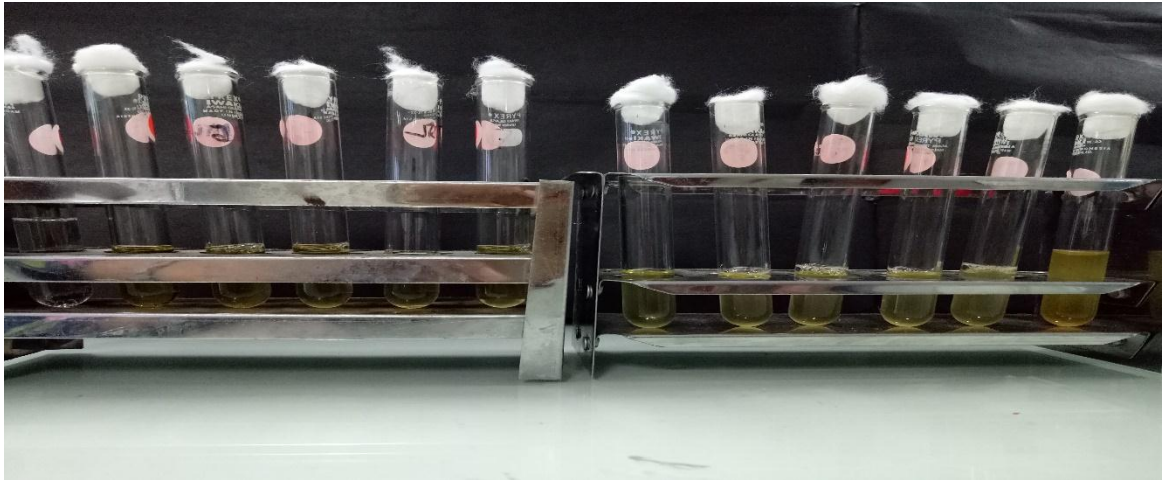


Replikasi III

**Lampiran 11. Foto hasil dilusi dan inokulasi sodium lauril sulfat terhadap *S. mutans* ATCC 25175**

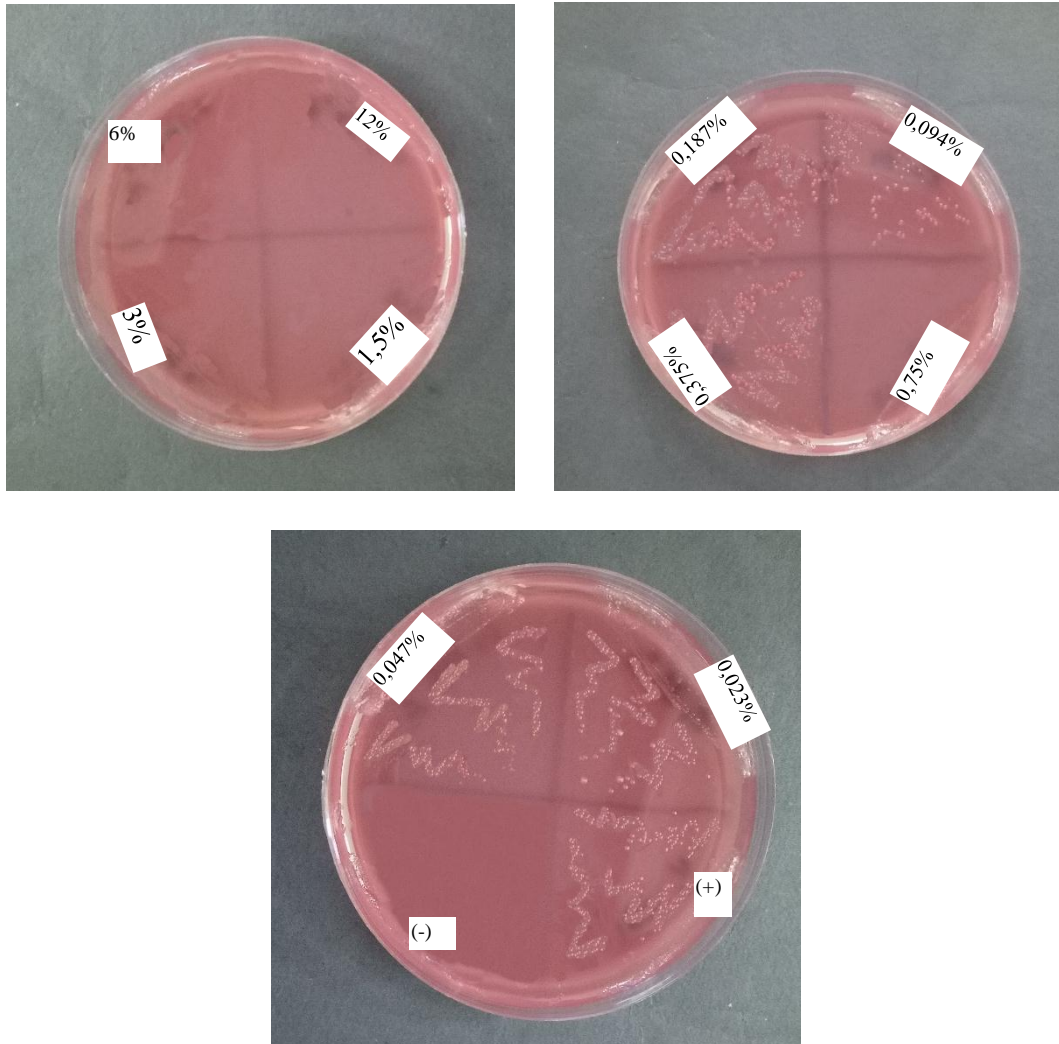


**Replikasi I**



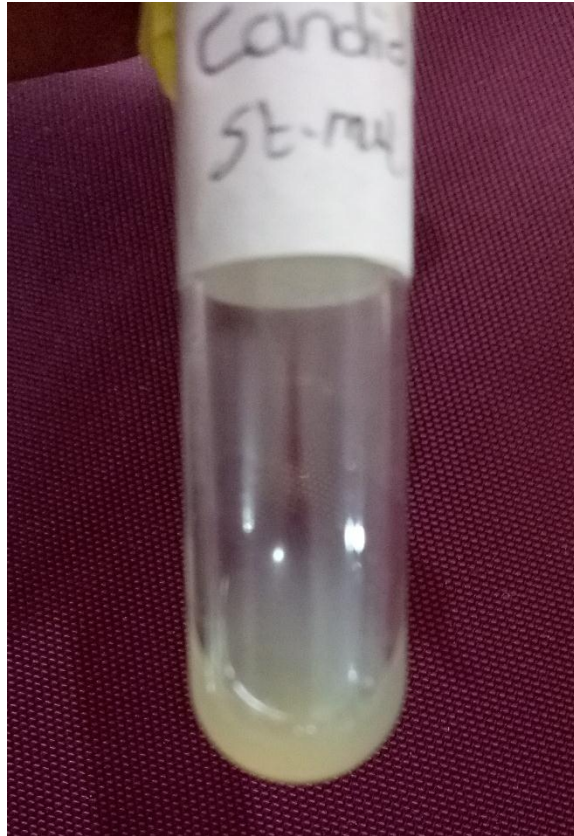
Replikasi II





Replikasi III

**Lampiran 12. Foto serum untuk penyuburan jamur *C. albicans* ATCC 10231**

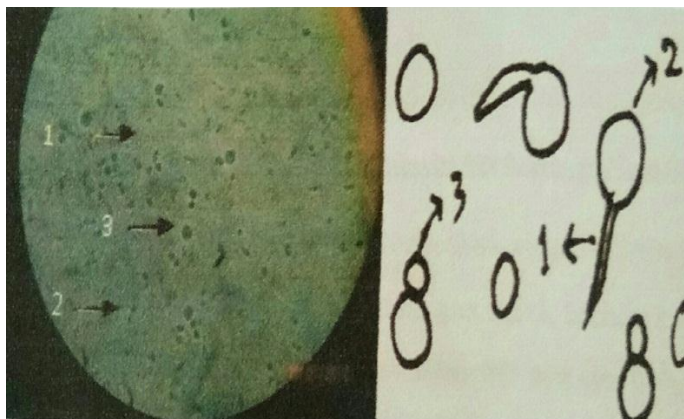


**Serum**

**Lampiran 13. Foto suspensi jamur *C. albicans* ATCC 10231 dan identifikasi mikroskop**



Suspensi *C. albicans* ATCC 10231



Keterangan :

1. Tabung benih
2. Sel vegetative
3. Blastospora

Identifikasi secara mikroskopis

**Lampiran 14. Foto hasil inokulasi dan identifikasi biokimia *C. albicans* ATCC 10231**

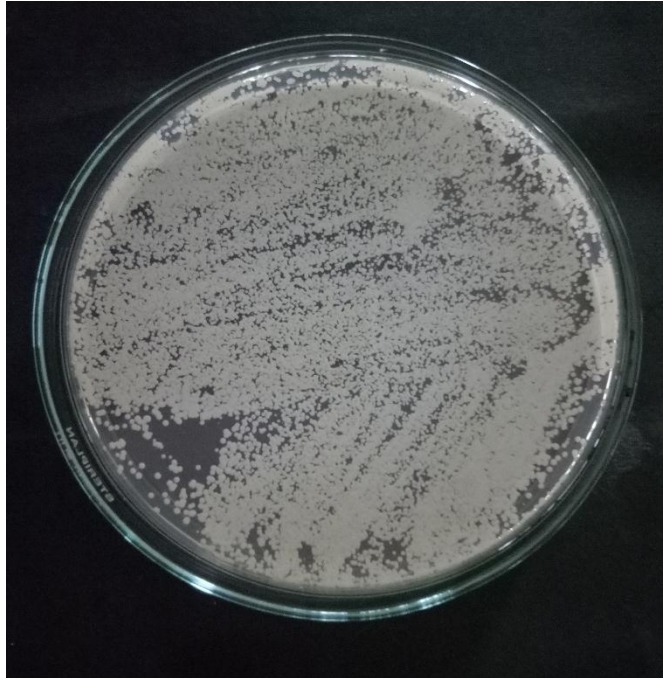
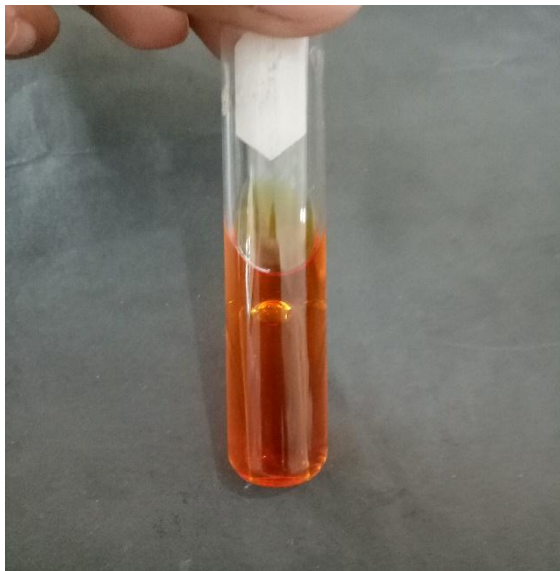


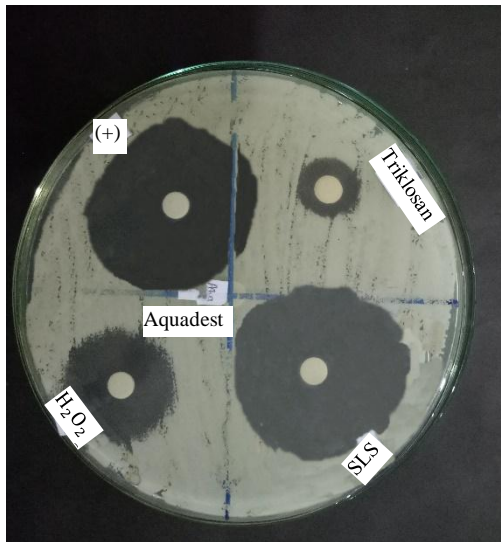
Foto inokulasi *C. albicans* ATCC



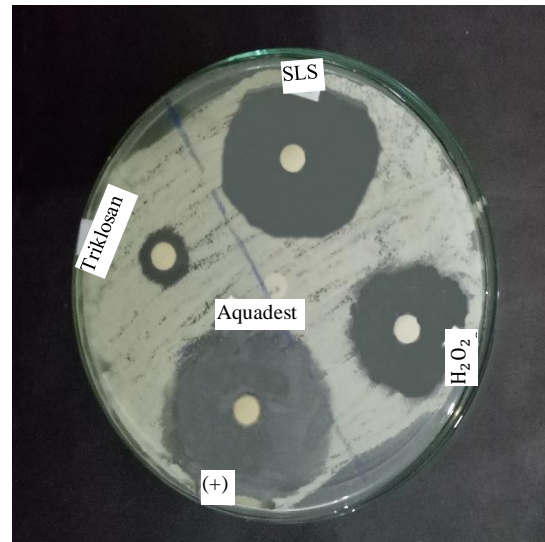
Uji biokimia *C. albicans* ATCC 10231



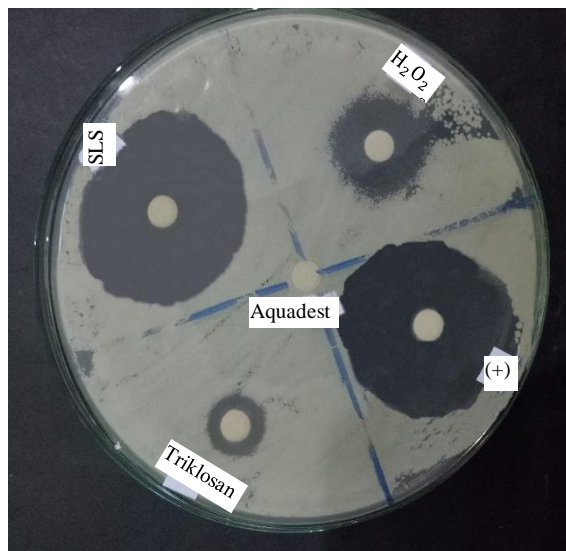
**Lampiran 15. Foto hasil uji antijamur sodium lauril sulfat, triklosan dan hidrogen peroksida terhadap *C. albicans* ATCC 10231 konsentrasi 12%**



Replikasi I

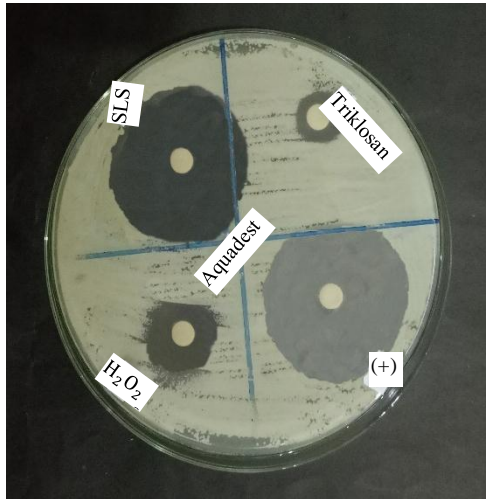


Replikasi II

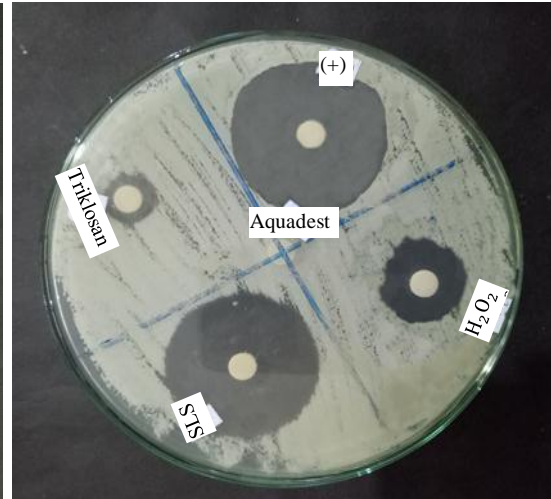


Replikasi III

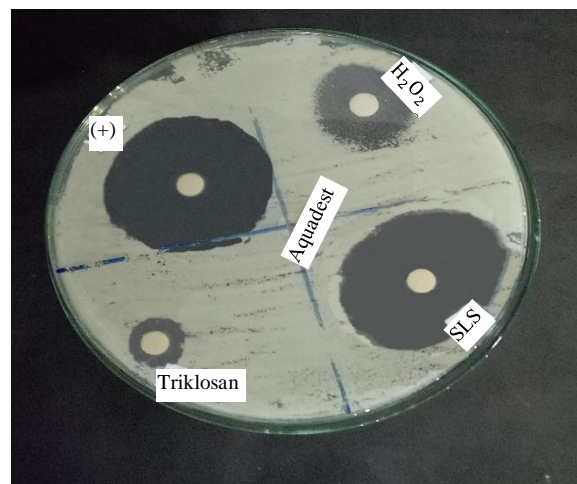
**Lampiran 16. Foto hasil uji antijamur sodium lauril sulfat, triklosan dan hidrogen peroksida terhadap *C. albicans* ATCC 10231 konsentrasi 6%**



Replikasi I

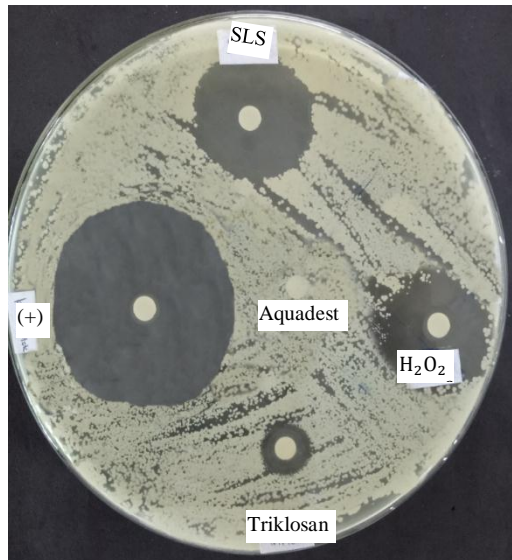


Replikasi II

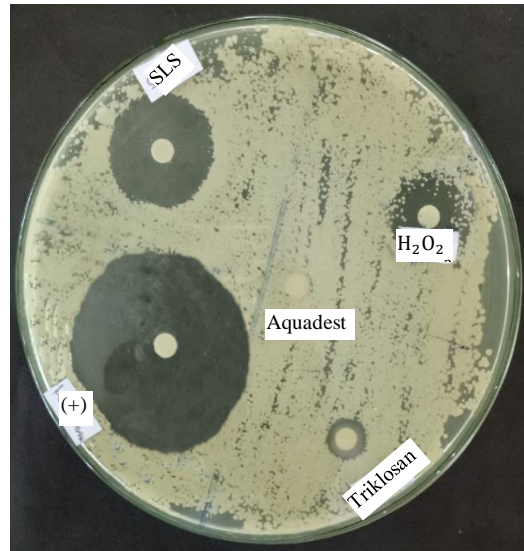


Replikasi III

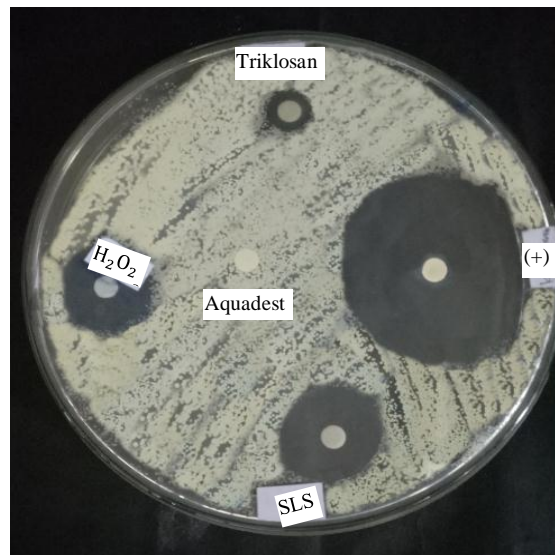
**Lampiran 17. Foto hasil uji antijamur sodium lauril sulfat, triklosan dan hidrogen peroksida terhadap *C. albicans* ATCC 10231 konsentrasi 3%**



Replikasi I



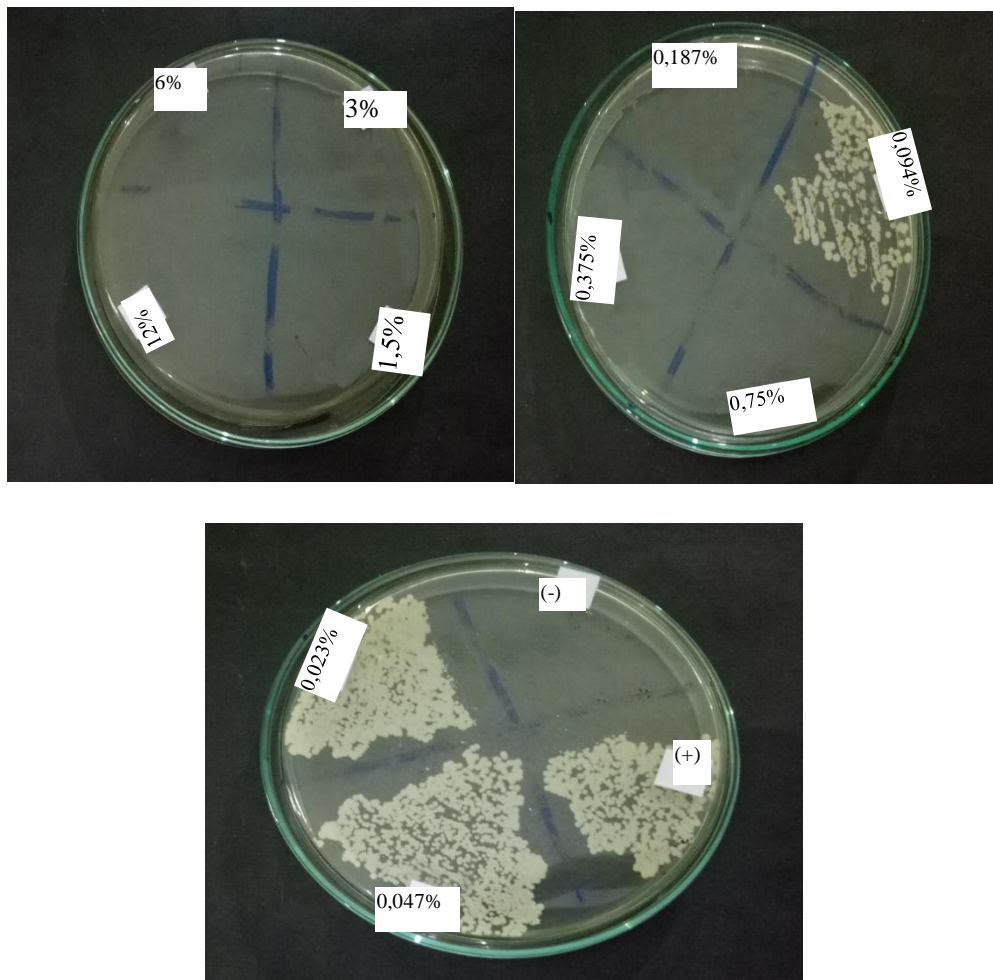
Replikasi II



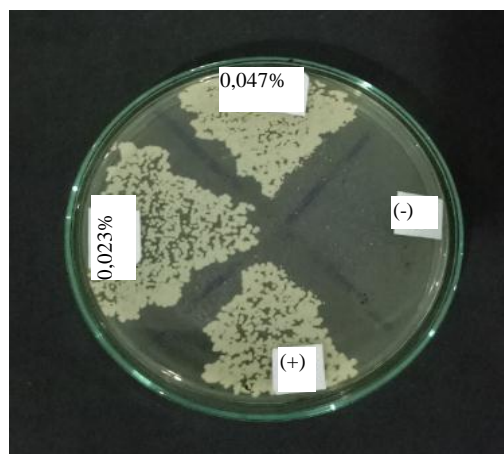
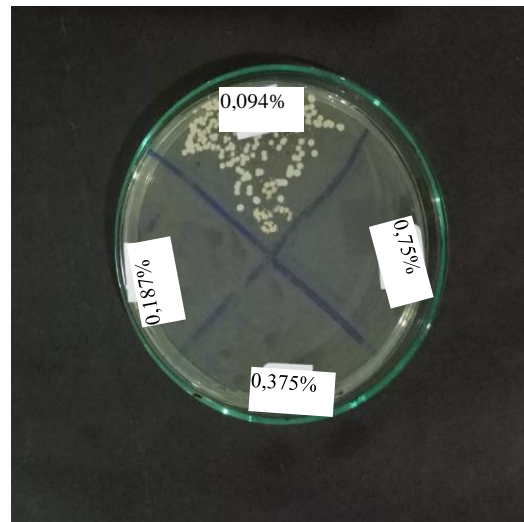
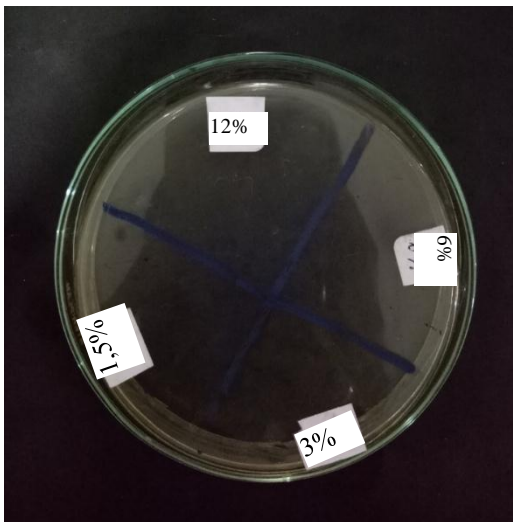
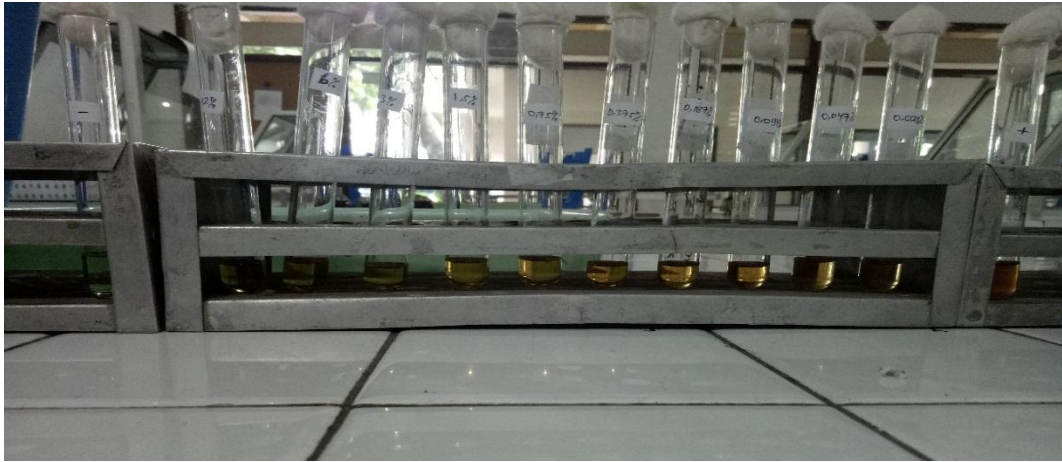
Replikasi III



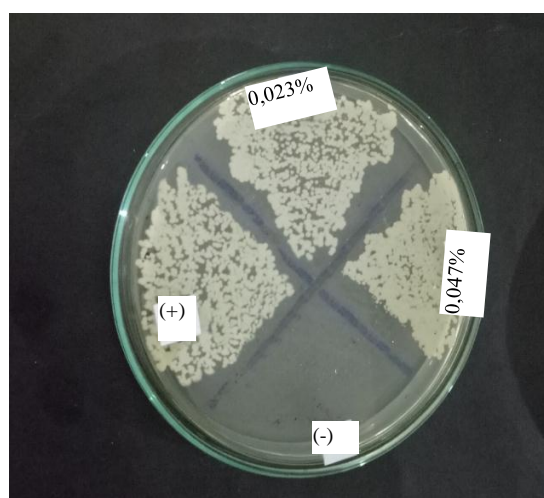
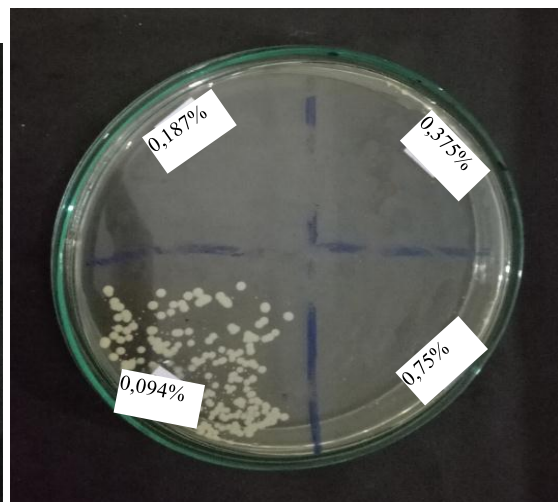
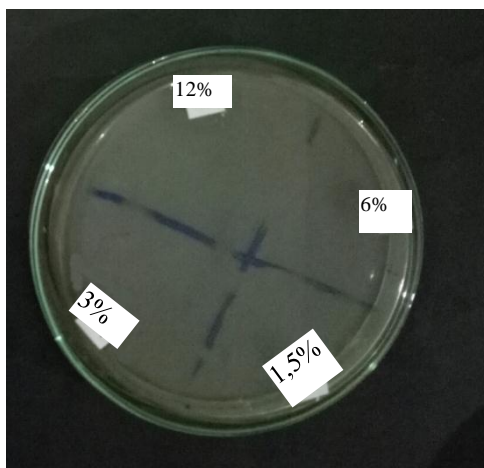
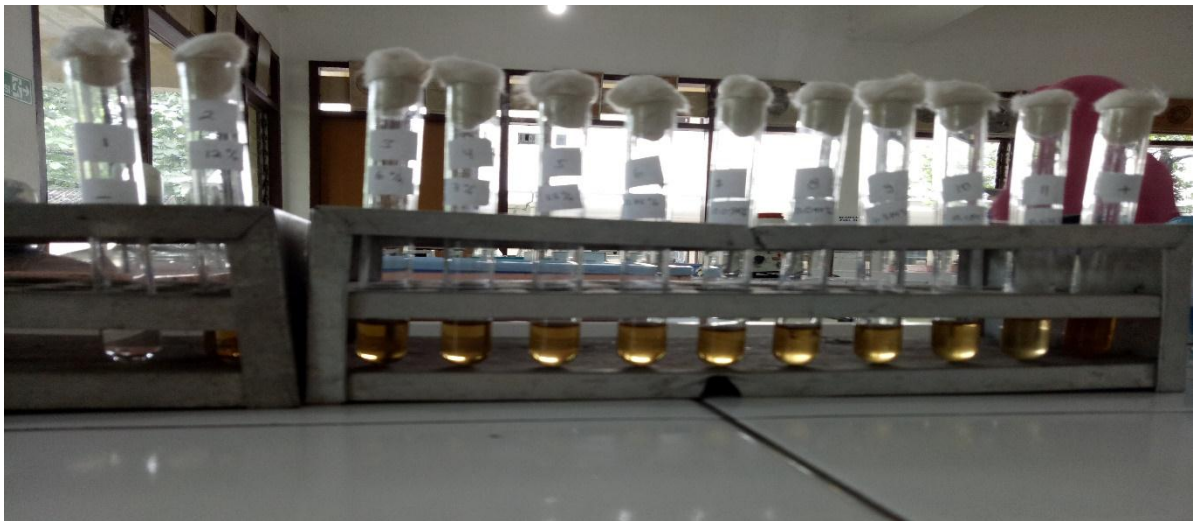
**Lampiran 18. Foto hasil dilusi dan inokulasi sodium lauril sulfat terhadap *C. albicans* ATCC 10231**



Replikasi I



Replikasi II



Replikasi III



### Lampiran 19. Gambar Alat



Autoklaf



Inkubator



Oven



Vortex



Timbangan



Mikroskop



**Lampiran 20. Foto pewarnaan untuk identifikasi jamur *C. albicans* ATCC 10231 dan *S. mutans* ATCC 25175**



Cat lactofenol cotton blue identifikasi *C. albicans* ATCC 10231



Pewarnaan ABCD untuk identifikasi *S. mutans* ATC 25175

**Lampiran 21. Perhitungan pengenceran zat kimia sodium lauril sulfat (SLS)**

Pengenceran SLS 12%      = 12 gram SLS + aquadest steril ad 100 ml

Pengenceran SLS 6%      =  $V_1 \times M_2 = V_2 \times M_2$   
=  $V_1 \times 12\% = 15 \text{ ml} \times 6\%$   
=  $V_1 = \frac{90}{12}$   
=  $V_1 = 7,5 \text{ ad } 15 \text{ ml}$

Pengenceran SLS 3%      =  $V_1 \times M_2 = V_2 \times M_2$   
=  $V_1 \times 6\% = 15 \text{ ml} \times 3\%$   
=  $V_1 = \frac{45}{6}$   
=  $V_1 = 7,5 \text{ ad } 15 \text{ ml}$

**Lampiran 22. Perhitungan pengenceran zat kimia triklosan**

Pengenceran triklosan 12% = 12 gram triklosan + aseton ad 100ml

$$\begin{aligned}\text{Pengenceran triklosan 6\%} &= V_1 \times M_2 = V_2 \times M_2 \\ &= V_1 \times 12\% = 15 \text{ ml} \times 6\% \\ &= V_1 = \frac{90}{12} \\ &= V_1 = 7,5 \text{ ad } 15 \text{ ml}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Pengenceran triklosan 3\%} &= V_1 \times M_2 = V_2 \times M_2 \\ &= V_1 \times 6\% = 15 \text{ ml} \times 3\% \\ &= V_1 = \frac{45}{6} \\ &= V_1 = 7,5 \text{ ad } 15 \text{ ml}\end{aligned}$$

**Lampiran 23. Perhitungan pengenceran zat kimia hidrogen peroksida**

$$\begin{aligned}\text{Pengenceran hidrogen peroksida 12\%} &= V_1 \times M_2 = V_2 \times M_1 \\ &= V_1 \times 50\% = 20 \text{ ml} \times 12\% \\ &= V_1 = \frac{240}{50} \\ &= V_1 = 4,8 \text{ ad } 20 \text{ ml}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Pengenceran hidrogen peroksida 6\%} &= V_1 \times M_2 = V_2 \times M_1 \\ &= V_1 \times 12\% = 20 \text{ ml} \times 6\% \\ &= V_1 = \frac{120}{12} \\ &= V_1 = 10 \text{ ad } 20 \text{ ml}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Pengenceran hidrogen peroksida 3\%} &= V_1 \times M_2 = V_2 \times M_1 \\ &= V_1 \times 6\% = 20 \text{ ml} \times 3\% \\ &= V_1 = \frac{60}{6} \\ &= V_1 = 10 \text{ ad } 20 \text{ ml}\end{aligned}$$

## Lampiran 24. Pembuatan media

### 1. Pembuatan media *Brain Heart Infusion* (BHI)

- ❖ Infus dari otak sapi 12,5 gram
- ❖ Infus dari hati sapi 5 gram
- ❖ Protease peptone 10 gram
- ❖ Glukosa 2 gram
- ❖ Sodium chloride 5 gram
- ❖ Di-sodium fosfat 2,5 gram
- ❖ Ph  $7,4 \pm 0,2$

Reagen diatas ditimbang sebanyak 37 gram dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml dipanaskan sampai larut sempurna, dituang dalam tabung reaksi steril kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit.

### 2. Pembuatan media MH darah

- ❖ Meat infusion 300 gram
- ❖ Amilum 1,5 gram
- ❖ Kasein hydrolysate 17,5 gram
- ❖ Agar 17 gram
- ❖ pH  $7,3 \pm 0,1$
- ❖ Darah domba 5 %

Menimbang 34 gram MHA dilarutkan 1 liter aquadest, di disterilkan dengan autoklaf pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit, ditunggu ruam-ruam kemudian ditambahkan darah domba 5% (50ml) secara aseptis.

### 3. Pembuatan media *Sabouraud Glukosa Agar* (SGA)

- ❖ SGA 65 g/L
- ❖ Aquadest 1 L
- ❖ Kloramfenikol 400 mg/L

Menimbang 65 gram SGA, dilarutkan dalam 1 liter aquadest, dipanaskan sampai larut sempurna, tambahkan kloramfenikol 400 mg.

Pindahkan kedalam tabung masing-masing 10 ml tutup dengan kapas, kemudian disterilkan dengan autoklaf selama 1 jam. Dinginkan hasil sterilisasi, pindah kedalam cawan petri besar @60 ml

#### 4. Pembuatan media *Sabouroud Glukosa Cair* (SGC) sebanyak 1000 ml

- ❖ Pepton 10 g
- ❖ Glukosa 30 g
- ❖ Kloramfenikol 75 mg

Menimbang 10 g pepton, 30 g ditambah Glukosa, dan 75 mg kloramfenikol, kemudian dilarutkan didalam air suling sampai 1000 ml. Diperiksa pHnya (pH = 5,4-5,8) kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

#### 5. Pembuatan kontrol positif (ketokonazole)

Perhitungan:

Berat tablet ketokonazol = 330 mg (mengandung 200 mg ketokonazol)

$$\text{Tablet yang diperlukan} = \frac{a}{b} \times c$$

a = berat ketokonazol yang diperlukan

b = ketokonazol tiap tablet

c = berat rata-rata ketokonazol

$$\frac{200 \text{ mg}}{200 \text{ mg}} \times 330 \text{ mg} = 330 \text{ mg}$$

$$2 \% = 2 \text{ gram}/100 \text{ ml}$$

$$= 2000 \text{ mg}/100 \text{ ml}$$

Pembuatan ketokonazol 2% = tablet ketokonazol digerus halus kemudian dilarutkan dengan aquadest steril 100 ml.

#### 6. Perhitungan konsentrasi sodium lauril sulfat untuk uji dilusi

- **Konsentrasi 12%**

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 12\% = 1 \text{ ml} \times 6\%$$

$$V_1 = \frac{1 \times 6\%}{12\%}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

- **Konsentrasi 6%**

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 6\% = 1 \text{ ml} \times 3\%$$

$$V_1 = \frac{1 \times 3\%}{6\%}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

- **Konsentrasi 3%**

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 3\% = 1 \text{ ml} \times 1,5\%$$

$$V_1 = \frac{1 \times 1,5\%}{3\%}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

- **Konsentrasi 1,5%**

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 1,5\% = 1 \text{ ml} \times 0,75\%$$

$$V_1 = \frac{1 \times 0,75\%}{1,5\%}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

- **Konsentrasi 0,75%**

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 0,75\% = 1 \text{ ml} \times 0,375\%$$

$$V_1 = \frac{1 \times 0,375\%}{0,75\%}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

- **Konsentrasi 0,375%**

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 0,375\% = 1 \text{ ml} \times 0,187\%$$

$$V_1 = \frac{1 \times 0,187\%}{0,375\%}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

- **Konsentrasi 0,187%**

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 0,187\% = 1 \text{ ml} \times 0,094\%$$

$$V_1 = \frac{1 \times 0,094\%}{0,187\%}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

- **Konsentrasi 0,094%**

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 0,094\% = 1 \text{ ml} \times 0,047\%$$

$$V_1 = \frac{1 \times 0,047\%}{0,094\%}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

- **Konsentrasi 0,047%**

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 0,047\% = 1 \text{ ml} \times 0,023\%$$

$$V_1 = \frac{1 \times 0,023\%}{0,047\%}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

- **Konsentrasi 0,023%**

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 0,023\% = 1 \text{ ml} \times 0,012\%$$

$$V_1 = \frac{1 \times 0,023\%}{0,012\%}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

Kontrol negatif (-) berisi 1 ml SLS

Kontrol positif (+) berisi 1 ml suspensi bakteri/jamur



**Lampiran 25. Analisis data uji anova antara zat kimia SLS, triklosan, hidrogen peroksida konsentrasi 12%, 6%, 3% pada bakteri *S. mutans* ATCC 25175**

**Oneway**

**Descriptives**

Konsentrasi

					95% Confidence Interval for Mean	
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound
SLS 12%	3	30.67	1.155	.667	27.80	33.54
triklosan 12%	3	17.67	.577	.333	16.23	19.10
hidrogen 12%	3	13.33	.577	.333	11.90	14.77
tetrasiklin	3	44.33	1.155	.667	41.46	47.20
SLS 6%	3	26.67	.577	.333	25.23	28.10
triklosan 6%	3	14.00	.000	.000	14.00	14.00
hidrogen 6%	3	11.33	.577	.333	9.90	12.77
tetrasiklin	3	45.33	.577	.333	43.90	46.77
SLS 3%	3	23.33	.577	.333	21.90	24.77
triklosan 3%	3	15.67	.577	.333	14.23	17.10
hidrogen 3%	3	9.67	.577	.333	8.23	11.10
tetrasiklin	3	44.33	1.155	.667	41.46	47.20
Total	36	24.69	13.164	2.194	20.24	29.15

**Descriptives**

Konsentrasi

	Minimum	Maximum
SLS 12%	30	32
triklosan 12%	17	18
hidrogen 12%	13	14
tetrasiklin	43	45
SLS 6%	26	27
triklosan 6%	14	14
hidrogen 6%	11	12
tetrasiklin	45	46
SLS 3%	23	24
triklosan 3%	15	16
hidrogen 3%	9	10
tetrasiklin	43	45
Total	9	46

### Test of Homogeneity of Variances

Konsentrasi

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.200	11	24	.008

### ANOVA

Konsentrasi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6052.306	11	550.210	990.377	.000
Within Groups	13.333	24	.556		
Total	6065.639	35			

### Post Hoc Tests

#### Multiple Comparisons

Dependent Variable: konsentrasi

						95% Confidence Interval	
			Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
(I) sampel	(J) sampel						
Tukey HSD	SLS 12%	triklosan 12%	13.000 <sup>+</sup>	.609	.000	10.81	15.19
		hidrogen 12%	17.333 <sup>+</sup>	.609	.000	15.14	19.53
		tetrasiklin	-13.667 <sup>+</sup>	.609	.000	-15.86	-11.47
		SLS 6%	4.000 <sup>+</sup>	.609	.000	1.81	6.19
		triklosan 6%	16.667 <sup>+</sup>	.609	.000	14.47	18.86
		hidrogen 6%	19.333 <sup>+</sup>	.609	.000	17.14	21.53
		tetrasiklin	-14.667 <sup>+</sup>	.609	.000	-16.86	-12.47
		SLS 3%	7.333 <sup>+</sup>	.609	.000	5.14	9.53
		triklosan 3%	15.000 <sup>+</sup>	.609	.000	12.81	17.19
		hidrogen 3%	21.000 <sup>+</sup>	.609	.000	18.81	23.19
		tetrasiklin	-13.667 <sup>+</sup>	.609	.000	-15.86	-11.47
	triklosan 12%	SLS 12%	-13.000 <sup>+</sup>	.609	.000	-15.19	-10.81
		hidrogen 12%	4.333 <sup>+</sup>	.609	.000	2.14	6.53
		tetrasiklin	-26.667 <sup>+</sup>	.609	.000	-28.86	-24.47
		SLS 6%	-9.000 <sup>+</sup>	.609	.000	-11.19	-6.81
		triklosan 6%	3.667 <sup>+</sup>	.609	.000	1.47	5.86
		hidrogen 6%	6.333 <sup>+</sup>	.609	.000	4.14	8.53
		tetrasiklin	-27.667 <sup>+</sup>	.609	.000	-29.86	-25.47
		SLS 3%	-5.667 <sup>+</sup>	.609	.000	-7.86	-3.47
		triklosan 3%	2.000	.609	.097	-.19	4.19
		hidrogen 3%	8.000 <sup>+</sup>	.609	.000	5.81	10.19

	tetrasiklin	-26.667	.609	.000	-28.86	-24.47
hidrogen 12%	SLS 12%	-17.333	.609	.000	-19.53	-15.14
	triklosan 12%	-4.333	.609	.000	-6.53	-2.14
	tetrasiklin	-31.000	.609	.000	-33.19	-28.81
	SLS 6%	-13.333	.609	.000	-15.53	-11.14
	triklosan 6%	-.667	.609	.992	-2.86	1.53
	hidrogen 6%	2.000	.609	.097	-.19	4.19
	tetrasiklin	-32.000	.609	.000	-34.19	-29.81
	SLS 3%	-10.000	.609	.000	-12.19	-7.81
	triklosan 3%	-2.333	.609	.030	-4.53	-.14
	hidrogen 3%	3.667	.609	.000	1.47	5.86
	tetrasiklin	-31.000	.609	.000	-33.19	-28.81
tetrasiklin	SLS 12%	13.667	.609	.000	11.47	15.86
	triklosan 12%	26.667	.609	.000	24.47	28.86
	hidrogen 12%	31.000	.609	.000	28.81	33.19
	SLS 6%	17.667	.609	.000	15.47	19.86
	triklosan 6%	30.333	.609	.000	28.14	32.53
	hidrogen 6%	33.000	.609	.000	30.81	35.19
	tetrasiklin	-1.000	.609	.876	-3.19	1.19
	SLS 3%	21.000	.609	.000	18.81	23.19
	triklosan 3%	28.667	.609	.000	26.47	30.86
	hidrogen 3%	34.667	.609	.000	32.47	36.86
	tetrasiklin	.000	.609	1.000	-2.19	2.19
SLS 6%	SLS 12%	-4.000	.609	.000	-6.19	-1.81
	triklosan 12%	9.000	.609	.000	6.81	11.19
	hidrogen 12%	13.333	.609	.000	11.14	15.53
	tetrasiklin	-17.667	.609	.000	-19.86	-15.47
	triklosan 6%	12.667	.609	.000	10.47	14.86
	hidrogen 6%	15.333	.609	.000	13.14	17.53
	tetrasiklin	-18.667	.609	.000	-20.86	-16.47
	SLS 3%	3.333	.609	.001	1.14	5.53
	triklosan 3%	11.000	.609	.000	8.81	13.19
	hidrogen 3%	17.000	.609	.000	14.81	19.19
	tetrasiklin	-17.667	.609	.000	-19.86	-15.47
triklosan 6%	SLS 12%	-16.667	.609	.000	-18.86	-14.47
	triklosan 12%	-3.667	.609	.000	-5.86	-1.47
	hidrogen 12%	.667	.609	.992	-1.53	2.86
	tetrasiklin	-30.333	.609	.000	-32.53	-28.14
	SLS 6%	-12.667	.609	.000	-14.86	-10.47
	hidrogen 6%	2.667	.609	.009	.47	4.86
	tetrasiklin	-31.333	.609	.000	-33.53	-29.14

	SLS 3%	-9.333	.609	.000	-11.53	-7.14
	triklosan 3%	-1.667	.609	.267	-3.86	.53
	hidrogen 3%	4.333	.609	.000	2.14	6.53
	tetrasiklin	-30.333	.609	.000	-32.53	-28.14
hidrogen 6%	SLS 12%	-19.333	.609	.000	-21.53	-17.14
	triklosan 12%	-6.333	.609	.000	-8.53	-4.14
	hidrogen 12%	-2.000	.609	.097	-4.19	.19
	tetrasiklin	-33.000	.609	.000	-35.19	-30.81
	SLS 6%	-15.333	.609	.000	-17.53	-13.14
	triklosan 6%	-2.667	.609	.009	-4.86	-.47
	tetrasiklin	-34.000	.609	.000	-36.19	-31.81
	SLS 3%	-12.000	.609	.000	-14.19	-9.81
	triklosan 3%	-4.333	.609	.000	-6.53	-2.14
	hidrogen 3%	1.667	.609	.267	-.53	3.86
	tetrasiklin	-33.000	.609	.000	-35.19	-30.81
tetrasiklin	SLS 12%	14.667	.609	.000	12.47	16.86
	triklosan 12%	27.667	.609	.000	25.47	29.86
	hidrogen 12%	32.000	.609	.000	29.81	34.19
	tetrasiklin	1.000	.609	.876	-1.19	3.19
	SLS 6%	18.667	.609	.000	16.47	20.86
	triklosan 6%	31.333	.609	.000	29.14	33.53
	hidrogen 6%	34.000	.609	.000	31.81	36.19
	SLS 3%	22.000	.609	.000	19.81	24.19
	triklosan 3%	29.667	.609	.000	27.47	31.86
	hidrogen 3%	35.667	.609	.000	33.47	37.86
	tetrasiklin	1.000	.609	.876	-1.19	3.19
SLS 3%	SLS 12%	-7.333	.609	.000	-9.53	-5.14
	triklosan 12%	5.667	.609	.000	3.47	7.86
	hidrogen 12%	10.000	.609	.000	7.81	12.19
	tetrasiklin	-21.000	.609	.000	-23.19	-18.81
	SLS 6%	-3.333	.609	.001	-5.53	-1.14
	triklosan 6%	9.333	.609	.000	7.14	11.53
	hidrogen 6%	12.000	.609	.000	9.81	14.19
	tetrasiklin	-22.000	.609	.000	-24.19	-19.81
	triklosan 3%	7.667	.609	.000	5.47	9.86
	hidrogen 3%	13.667	.609	.000	11.47	15.86
	tetrasiklin	-21.000	.609	.000	-23.19	-18.81
triklosan 3%	SLS 12%	-15.000	.609	.000	-17.19	-12.81
	triklosan 12%	-2.000	.609	.097	-4.19	.19
	hidrogen 12%	2.333	.609	.030	.14	4.53
	tetrasiklin	-28.667	.609	.000	-30.86	-26.47

	SLS 6%	-11.000 <sup>*</sup>	.609	.000	-13.19	-8.81
	triklosan 6%	1.667	.609	.267	-.53	3.86
	hidrogen 6%	4.333 <sup>*</sup>	.609	.000	2.14	6.53
	tetrasiklin	-29.667 <sup>*</sup>	.609	.000	-31.86	-27.47
	SLS 3%	-7.667 <sup>*</sup>	.609	.000	-9.86	-5.47
	hidrogen 3%	6.000 <sup>*</sup>	.609	.000	3.81	8.19
	tetrasiklin	-28.667 <sup>*</sup>	.609	.000	-30.86	-26.47
hidrogen 3%	SLS 12%	-21.000 <sup>*</sup>	.609	.000	-23.19	-18.81
	triklosan 12%	-8.000 <sup>*</sup>	.609	.000	-10.19	-5.81
	hidrogen 12%	-3.667 <sup>*</sup>	.609	.000	-5.86	-1.47
	tetrasiklin	-34.667 <sup>*</sup>	.609	.000	-36.86	-32.47
	SLS 6%	-17.000 <sup>*</sup>	.609	.000	-19.19	-14.81
	triklosan 6%	-4.333 <sup>*</sup>	.609	.000	-6.53	-2.14
	hidrogen 6%	-1.667	.609	.267	-3.86	.53
	tetrasiklin	-35.667 <sup>*</sup>	.609	.000	-37.86	-33.47
	SLS 3%	-13.667 <sup>*</sup>	.609	.000	-15.86	-11.47
	triklosan 3%	-6.000 <sup>*</sup>	.609	.000	-8.19	-3.81
	tetrasiklin	-34.667 <sup>*</sup>	.609	.000	-36.86	-32.47
tetrasiklin	SLS 12%	13.667 <sup>*</sup>	.609	.000	11.47	15.86
	triklosan 12%	26.667 <sup>*</sup>	.609	.000	24.47	28.86
	hidrogen 12%	31.000 <sup>*</sup>	.609	.000	28.81	33.19
	tetrasiklin	.000	.609	1.000	-2.19	2.19
	SLS 6%	17.667 <sup>*</sup>	.609	.000	15.47	19.86
	triklosan 6%	30.333 <sup>*</sup>	.609	.000	28.14	32.53
	hidrogen 6%	33.000 <sup>*</sup>	.609	.000	30.81	35.19
	tetrasiklin	-1.000	.609	.876	-3.19	1.19
	SLS 3%	21.000 <sup>*</sup>	.609	.000	18.81	23.19
	triklosan 3%	28.667 <sup>*</sup>	.609	.000	26.47	30.86
	hidrogen 3%	34.667 <sup>*</sup>	.609	.000	32.47	36.86

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

## Homogeneous Subsets

		konsentrasi					
			Subset for alpha = 0.05				
sampel		N	1	2	3	4	5
Tukey HSD <sup>a</sup>	hidrogen 3%	3	9.67				
	hidrogen 6%	3	11.33	11.33			
	hidrogen 12%	3		13.33	13.33		
	triklosan 6%	3			14.00	14.00	
	triklosan 3%	3				15.67	15.67
	triklosan 12%	3					17.67
	SLS 3%	3					
	SLS 6%	3					
	SLS 12%	3					
	tetrasiklin	3					
	tetrasiklin	3					
	tetrasiklin	3					
Sig.			.267	.097	.992	.267	.097

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

		konsentrasi			
		Subset for alpha = 0.05			
sampel		6	7	8	9
Tukey HSD <sup>a</sup>	SLS 3%	23.33			
	SLS 6%		26.67		
	SLS 12%			30.67	
	tetrasiklin				44.33
	tetrasiklin				44.33
	tetrasiklin				45.33
	Sig.	1.000	1.000	1.000	.876

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

**Lampiran 26. Analisis data uji anova antara zat kimia SLS, triklosan, hidrogen peroksida konsentrasi 12%, 6%, 3% pada jamur *C. albicans* ATCC 10231**

**Oneway**

**Descriptives**

Konsentrasi

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error
SLS 12%	3	53.33	1.155	.667
Triklosan 12%	3	24.67	1.155	.667
Hidrogen 12%	3	30.00	.000	.000
ketokonazol 12%	3	49.67	.577	.333
SLS 6%	3	49.33	1.155	.667
triklosan 6%	3	14.00	1.000	.577
hidrogen 6%	3	24.33	.577	.333
ketokonazol	3	49.33	1.155	.667
SLS 3%	3	30.67	1.155	.667
triklosan 3%	3	10.00	.000	.000
hidrogen 3%	3	20.67	1.155	.667
ketokonazol	3	49.00	1.000	.577
Total	36	33.75	15.163	2.527

**Descriptives**

Konsentrasi

	95% Confidence Interval for Mean			
	Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum
SLS 12%	50.46	56.20	52	54
Triklosan 12%	21.80	27.54	24	26
Hidrogen 12%	30.00	30.00	30	30
ketokonazol 12%	48.23	51.10	49	50
SLS 6%	46.46	52.20	48	50
triklosan 6%	11.52	16.48	13	15
hidrogen 6%	22.90	25.77	24	25
ketokonazol	46.46	52.20	48	50
SLS 3%	27.80	33.54	30	32
triklosan 3%	10.00	10.00	10	10
hidrogen 3%	17.80	23.54	20	22
ketokonazol	46.52	51.48	48	50
Total	28.62	38.88	10	54

### Test of Homogeneity of Variances

Konsentrasi

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.545	11	24	.027

### ANOVA

Konsentrasi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8025.417	11	729.583	820.781	.000
Within Groups	21.333	24	.889		
Total	8046.750	35			

## Post Hoc Tests

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: konsentrasi

						95% Confidence Interval	
			Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
(I) sampel	(J) sampel						
Tukey HSD	SLS 12%	Triklosan 12%	28.667	.770	.000	25.89	31.44
		Hidrogen 12%	23.333	.770	.000	20.56	26.11
		ketokonazol 12%	3.667	.770	.003	.89	6.44
		SLS 6%	4.000	.770	.001	1.22	6.78
		triklosan 6%	39.333	.770	.000	36.56	42.11
		hidrogen 6%	29.000	.770	.000	26.22	31.78
		ketokonazol	4.000	.770	.001	1.22	6.78
		SLS 3%	22.667	.770	.000	19.89	25.44
		triklosan 3%	43.333	.770	.000	40.56	46.11
		hidrogen 3%	32.667	.770	.000	29.89	35.44
		ketokonazol	4.333	.770	.000	1.56	7.11
	Triklosan 12%	SLS 12%	-28.667	.770	.000	-31.44	-25.89
		Hidrogen 12%	-5.333	.770	.000	-8.11	-2.56
		ketokonazol 12%	-25.000	.770	.000	-27.78	-22.22
		SLS 6%	-24.667	.770	.000	-27.44	-21.89
		triklosan 6%	10.667	.770	.000	7.89	13.44
		hidrogen 6%	.333	.770	1.000	-2.44	3.11
		ketokonazol	-24.667	.770	.000	-27.44	-21.89



	SLS 3%	-6.000	.770	.000	-8.78	-3.22
	triklosan 3%	14.667	.770	.000	11.89	17.44
	hidrogen 3%	4.000	.770	.001	1.22	6.78
	ketokonazol	-24.333	.770	.000	-27.11	-21.56
Hidrogen 12%	SLS 12%	-23.333	.770	.000	-26.11	-20.56
	Triklosan 12%	5.333	.770	.000	2.56	8.11
	ketokonazol 12%	-19.667	.770	.000	-22.44	-16.89
	SLS 6%	-19.333	.770	.000	-22.11	-16.56
	triklosan 6%	16.000	.770	.000	13.22	18.78
	hidrogen 6%	5.667	.770	.000	2.89	8.44
	ketokonazol	-19.333	.770	.000	-22.11	-16.56
	SLS 3%	-.667	.770	.999	-3.44	2.11
	triklosan 3%	20.000	.770	.000	17.22	22.78
	hidrogen 3%	9.333	.770	.000	6.56	12.11
	ketokonazol	-19.000	.770	.000	-21.78	-16.22
ketokonazol 12%	SLS 12%	-3.667	.770	.003	-6.44	-.89
	Triklosan 12%	25.000	.770	.000	22.22	27.78
	Hidrogen 12%	19.667	.770	.000	16.89	22.44
	SLS 6%	.333	.770	1.000	-2.44	3.11
	triklosan 6%	35.667	.770	.000	32.89	38.44
	hidrogen 6%	25.333	.770	.000	22.56	28.11
	ketokonazol	.333	.770	1.000	-2.44	3.11
	SLS 3%	19.000	.770	.000	16.22	21.78
	triklosan 3%	39.667	.770	.000	36.89	42.44
	hidrogen 3%	29.000	.770	.000	26.22	31.78
	ketokonazol	.667	.770	.999	-2.11	3.44
SLS 6%	SLS 12%	-4.000	.770	.001	-6.78	-1.22
	Triklosan 12%	24.667	.770	.000	21.89	27.44
	Hidrogen 12%	19.333	.770	.000	16.56	22.11
	ketokonazol 12%	-.333	.770	1.000	-3.11	2.44
	triklosan 6%	35.333	.770	.000	32.56	38.11
	hidrogen 6%	25.000	.770	.000	22.22	27.78
	ketokonazol	.000	.770	1.000	-2.78	2.78
	SLS 3%	18.667	.770	.000	15.89	21.44
	triklosan 3%	39.333	.770	.000	36.56	42.11
	hidrogen 3%	28.667	.770	.000	25.89	31.44
	ketokonazol	.333	.770	1.000	-2.44	3.11
triklosan 6%	SLS 12%	-39.333	.770	.000	-42.11	-36.56
	Triklosan 12%	-10.667	.770	.000	-13.44	-7.89
	Hidrogen 12%	-16.000	.770	.000	-18.78	-13.22

	ketokonazol 12%	-35.667	.770	.000	-38.44	-32.89
	SLS 6%	-35.333	.770	.000	-38.11	-32.56
	hidrogen 6%	-10.333	.770	.000	-13.11	-7.56
	ketokonazol	-35.333	.770	.000	-38.11	-32.56
	SLS 3%	-16.667	.770	.000	-19.44	-13.89
	triklosan 3%	4.000	.770	.001	1.22	6.78
	hidrogen 3%	-6.667	.770	.000	-9.44	-3.89
	ketokonazol	-35.000	.770	.000	-37.78	-32.22
hidrogen 6%	SLS 12%	-29.000	.770	.000	-31.78	-26.22
	Triklosan 12%	-.333	.770	1.000	-3.11	2.44
	Hidrogen 12%	-5.667	.770	.000	-8.44	-2.89
	ketokonazol 12%	-25.333	.770	.000	-28.11	-22.56
	SLS 6%	-25.000	.770	.000	-27.78	-22.22
	triklosan 6%	10.333	.770	.000	7.56	13.11
	ketokonazol	-25.000	.770	.000	-27.78	-22.22
	SLS 3%	-6.333	.770	.000	-9.11	-3.56
	triklosan 3%	14.333	.770	.000	11.56	17.11
	hidrogen 3%	3.667	.770	.003	.89	6.44
	ketokonazol	-24.667	.770	.000	-27.44	-21.89
ketokonazol	SLS 12%	-4.000	.770	.001	-6.78	-1.22
	Triklosan 12%	24.667	.770	.000	21.89	27.44
	Hidrogen 12%	19.333	.770	.000	16.56	22.11
	ketokonazol 12%	-.333	.770	1.000	-3.11	2.44
	SLS 6%	.000	.770	1.000	-2.78	2.78
	triklosan 6%	35.333	.770	.000	32.56	38.11
	hidrogen 6%	25.000	.770	.000	22.22	27.78
	SLS 3%	18.667	.770	.000	15.89	21.44
	triklosan 3%	39.333	.770	.000	36.56	42.11
	hidrogen 3%	28.667	.770	.000	25.89	31.44
	ketokonazol	.333	.770	1.000	-2.44	3.11
SLS 3%	SLS 12%	-22.667	.770	.000	-25.44	-19.89
	Triklosan 12%	6.000	.770	.000	3.22	8.78
	Hidrogen 12%	.667	.770	.999	-2.11	3.44
	ketokonazol 12%	-19.000	.770	.000	-21.78	-16.22
	SLS 6%	-18.667	.770	.000	-21.44	-15.89
	triklosan 6%	16.667	.770	.000	13.89	19.44
	hidrogen 6%	6.333	.770	.000	3.56	9.11
	ketokonazol	-18.667	.770	.000	-21.44	-15.89
	triklosan 3%	20.667	.770	.000	17.89	23.44

	hidrogen 3%	10.000	.770	.000	7.22	12.78
	ketokonazol	-18.333	.770	.000	-21.11	-15.56
triklosan 3%	SLS 12%	-43.333	.770	.000	-46.11	-40.56
	Triklosan 12%	-14.667	.770	.000	-17.44	-11.89
	Hidrogen 12%	-20.000	.770	.000	-22.78	-17.22
	ketokonazol 12%	-39.667	.770	.000	-42.44	-36.89
	SLS 6%	-39.333	.770	.000	-42.11	-36.56
	triklosan 6%	-4.000	.770	.001	-6.78	-1.22
	hidrogen 6%	-14.333	.770	.000	-17.11	-11.56
	ketokonazol	-39.333	.770	.000	-42.11	-36.56
	SLS 3%	-20.667	.770	.000	-23.44	-17.89
	hidrogen 3%	-10.667	.770	.000	-13.44	-7.89
	ketokonazol	-39.000	.770	.000	-41.78	-36.22
hidrogen 3%	SLS 12%	-32.667	.770	.000	-35.44	-29.89
	Triklosan 12%	-4.000	.770	.001	-6.78	-1.22
	Hidrogen 12%	-9.333	.770	.000	-12.11	-6.56
	ketokonazol 12%	-29.000	.770	.000	-31.78	-26.22
	SLS 6%	-28.667	.770	.000	-31.44	-25.89
	triklosan 6%	6.667	.770	.000	3.89	9.44
	hidrogen 6%	-3.667	.770	.003	-6.44	-.89
	ketokonazol	-28.667	.770	.000	-31.44	-25.89
	SLS 3%	-10.000	.770	.000	-12.78	-7.22
	triklosan 3%	10.667	.770	.000	7.89	13.44
	ketokonazol	-28.333	.770	.000	-31.11	-25.56
ketokonazol	SLS 12%	-4.333	.770	.000	-7.11	-1.56
	Triklosan 12%	24.333	.770	.000	21.56	27.11
	Hidrogen 12%	19.000	.770	.000	16.22	21.78
	ketokonazol 12%	-.667	.770	.999	-3.44	2.11
	SLS 6%	-.333	.770	1.000	-3.11	2.44
	triklosan 6%	35.000	.770	.000	32.22	37.78
	hidrogen 6%	24.667	.770	.000	21.89	27.44
	ketokonazol	-.333	.770	1.000	-3.11	2.44
	SLS 3%	18.333	.770	.000	15.56	21.11
	triklosan 3%	39.000	.770	.000	36.22	41.78
	hidrogen 3%	28.333	.770	.000	25.56	31.11

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

## Homogeneous Subsets

		konsentrasi					
sampel			Subset for alpha = 0.05				
		N	1	2	3	4	5
Tukey HSD <sup>a</sup>	triklosan 3%	3	10.00				
	triklosan 6%	3		14.00			
	hidrogen 3%	3			20.67		
	hidrogen 6%	3				24.33	
	Triklosan 12%	3				24.67	
	Hidrogen 12%	3					30.00
	SLS 3%	3					30.67
	ketokonazol	3					
	SLS 6%	3					
	ketokonazol	3					
	ketokonazol 12%	3					
	SLS 12%	3					
	Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	.999

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

		konsentrasi	
		Subset for alpha = 0.05	
sampel		6	7
Tukey HSD <sup>a</sup>	ketokonazol	49.00	
	SLS 6%	49.33	
	ketokonazol	49.33	
	ketokonazol 12%	49.67	
	SLS 12%		53.33
	Sig.	.999	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.