

**KARAKTERISASI BAKTERI PEMBENTUK PLAK GIGI
SUPRAGINGIVA PADA ORANG DEWASA**

Oleh :

**Paridah
H411 00 020**

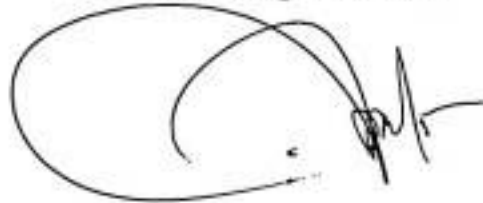
Disetujui Oleh :

Pembimbing Utama



**DR. Hj. Dirayah R. Husain, DEA
Nip. 131 570 872**

Pembimbing Pertama



**Drg. Asdar Gani, M.Kes
Nip. 132 166 477**

Pada Tanggal:.....



KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah Subhanahu Wata'ala, atas berkat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyusun dan menyelesaikan tugas akhir ini, yang merupakan persyaratan yang harus dipenuhi untuk menyelesaikan studi di Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin.

Selama menyusun dan menyelesaikan tugas akhir yang berjudul "Karakterisasi Bakteri Pembentuk Plak Gigi Supragingiva Pada Orang Dewasa", penulis mendapat bimbingan petunjuk dan dorongan dari berbagai pihak. Oleh karenanya perkenankanlah penulis menyampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada:

1. Ibu Dr. Hj. Dirayah R. Husain, DEA selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin.
2. Ibu Dr. Hj. Dirayah R. Husain, DEA selaku Pembimbing Utama yang dengan sabar membimbing penulis mulai dari konsep perencanaan awal sampai selesainya tugas akhir ini.
3. Bapak Drg. Asdar Gani, M.Kes, selaku Pembimbing Pertama yang telah memberikan petunjuk, saran dan waktunya dalam penulisan tugas akhir ini.
4. Seluruh Staff Laboratorium Biologi Molekuler dan Immunologi bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar.
5. Ibu Dra. Markarma, M.Si Ibu Nurhaedar, S.Si, M.Si, Ibu Dra. Elis Tambaru, M.Si, Bapak Ir. Slamet Santosa dan Bapak Drs.Muh. Ruslan Umar, M.Si selaku Penguji dalam ujian sarjana biologi.

6. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin atas bimbingan dan arahan yang telah diberikan selama ini.
7. Kepada kedua orang tua tercinta Ayahanda H. Tamma Runtuk dan Ibunda Hj. Dalwiah dan Adik-adik yang telah memberikan bantuan materil, doa dan dorongan semangat kepada penulis.
8. Kepada suamiku Ruslan, ST yang tiada lelah membantu dalam penulisan tugas akhir ini, mendoakan dan memberikan dorongan semangat kepada penulis.
9. Teman-teman Angkatan 2000 yang telah memberikan bantuan dan dorongan semangat kepada penulis.

Bersama dengan selesainya tugas akhir ini penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun, untuk menyempurnakan penulisan semacam ini di masa mendatang. Semoga tugas akhir ini dapat bermanfaat bagi kita semua. Amin.

Makassar, Agustus 2004

Penulis

ABSTRAK

Telah dilakukan karakterisasi bakteri pembentuk plak supragingiva pada orang dewasa. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui beberapa karakter morfologi, fisiologi dan biokimiawi dari berbagai isolat bakteri pembentuk plak supragingiva pada orang dewasa.

Hasil penelitian menunjukkan karakteristik morfologi secara makroskopik pada medium NA cawan memperlihatkan dua bentuk pertumbuhan yaitu bentuk *irregular* dan *circular*. Karakteristik morfologi secara makroskopik pada medium NA miring memperlihatkan lima bentuk pertumbuhan yaitu *Effuse*, *Rhizoid*, *Echinulate*, *Beaded* dan *Arborecent*. Pada pengecatan gram, 11 isolat termasuk bakteri gram negatif, dan 11 isolat lainnya gram positif. Semua isolat mampu membentuk kapsul, sedangkan yang membentuk spora hanya 5 isolat. Antibiotik yang paling efektif terhadap isolat adalah *Doxycycline Hydrochloride*. Pada uji adhesivitas terbukti isolate dengan penambahan saliva akan mengalami peningkatan nilai adhesivitas.

Kata kunci : Karakterisasi, bakteri , plak supragingiva

ABSTRACT

It had been characterized the bacteria that formed supragingiva plaque at adult. The aim of this research is to know about some morphology, physiology, and biochemical characters of some bacterial isolate that formed supragingiva plaque at adult people.

The result of this research shown that characteristic morphology with macroscopy methods at plate NA medium shown two growth form they are *irregular* and *circular*. The characteristic morphology isolate at aslant NA medium shown five growth form they are *Effuse*, *Rhizoid*, *Echinulate*, *Beaded*, and *Arborecent*. At gram coloration there are eleven isolate included gram negative bacteria and eleven others included gram positive bacteria. All isolate can formed capsul, while only five isolate can formed spore. The most effective antibiotic is *Doxycycline Hydrochloride*. At adhesivity test, proved that isolat with increase saliva will have raising they adhesivity value.

Key words : *Characterized, bacteria, supragingiva plaque*

DAFTAR ISI



Halaman

KATA PENGANTAR	iv
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
I.1 Latar Belakang.....	1
I.2 Tujuan Penelitian.....	2
I.3 Manfaat Penelitian.....	2
I.4 Waktu Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
II.1. Tinjauan Umum Mulut dan Gigi	4
II.1.1 Mulut.....	4
II.1.2 Gigi.....	4
II.2 Tinjauan Umum Plak Gigi.....	6
II.2.1 Defenisi Plak Gigi.....	6
II.2.2 Klasifikasi plak gigi.....	7
II.2.3 Komposisi Cairan Plak.....	10
II.3 Karakteristik Bakteri Pembentuk Plak Supragingiva.....	11
II.3.1 Streptococcus.....	11
	viii

II.3.2 Actinomyces.....	11
II.3.3 Veilonella.....	12
II.3.4 Haemophilus.....	12
II.3.5 Fusobacterium.....	12
II.3.6 Bacteroides.....	13
II.4 Plak Gigi dan Biofilm Mikroorganisme.....	13
II.5 Mekanisme Pembentukan Plak.....	15
II.6 Perkembangan Plak Gigi.....	18
II.7 Hubungan Plak dan Penyakit Pada Rongga Mulut.....	19
II.7.1 Radang Gusi (Gingivitis)	19
II.7.2 Periodontitis.....	20
II.7.3 Karies.....	24
II.7.4 Kalkulus.....	24
II.8 Antibiotik.....	24
BAB III METODE PENELITIAN.....	27
III.1 Alat.....	27
III.2 Bahan.....	27
III.3 Cara Kerja.....	28
III.3.1 Sterilisasi alat.....	28
III.3.2 Pembuatan medium.....	28
III.3.3 Peremajaan isolat-isolat bakteri pembentuk plak supragingiva.....	31

III.3.4 Pengamatan secara makroskopik karakteristik morfologi isolat bakteri pembentuk plak supragigiva.....	31
III.3.5 Pengamatan secara mikroskopik karakteristik komposisi dinding sel isolat bakteri pembentuk plak supragingiva.....	32
III.3.6 Uji Karakteristik fisiologi isolat bakteri pembentuk plak supragingiva.....	33
III.3.6.1 Uji IMVIC.....	33
III.3.6.2 Uji TSIA (Triple Sugar Iron Agar).....	34
III.3.6.3 Uji Fermentasi Karbohidrat.....	35
III.3.6.4 Uji Oksidasi.....	35
III.3.6.5 Uji Katalase.....	35
III.3.6.6 Uji Motilitas.....	35
III.3.6.7 Uji Produksi H ₂ S.....	36
III.3.7 Uji Haemolisis Darah.....	36
III.3.8 Uji Sensitivitas.....	36
III.3.9. Uji Adhesivitas.....	37
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	38
IV.1 Pengamatan Morfologi Secara Makroskopik dan Mikroskopik	
Isolat Bakteri.....	38
IV.1.1. Pengamatan Morfologi Secara Makroskopik Isolat	
Bakteri.....	38
IV.1.1.1 Pengamatan Makroskopis pada NA Cawan.....	38
IV.1.1.2 Pengamatan Makroskopis pada NA Miring.....	40

IV.1.2. Pengamatan Struktur Dinding Sel Isolat Bakteri Secara	
Mikroskopik.....	42
IV.1.2.1 Pengecatan Gram.....	43
IV.1.2.2 Pengecatan Kapsul.....	45
IV.1.2.3 Pengecatan Spora.....	45
IV.2. Pengamatan Uji Fisiologis Isolat Bakteri.....	46
IV.2.1 Uji TSIA.....	48
IV.2.2 Uji IMVIC.....	48
IV.2.3 Uji Fermentasi Karbohidrat	51
IV.2.4 Uji Oksidase.....	53
IV.2.5 Uji Katalase.....	54
IV.3. Uji Motilitas.....	54
IV. 4. Uji Sensitivitas.....	55
IV.5 Uji Haemolisis Darah.....	59
IV.6 Uji Adhesivitas.....	61
BAB V Kesimpulan Dan Saran.....	66
V.1 Kesimpulan.....	66
V.2. Saran.....	66
Daftar Pustaka.....	67

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Ukuran zona beberapa disk antimikroba.....	26
2. Karakteristik morfologi isolat bakteri pada medium NA cawan.....	39
3. Karakteristik morfologi isolat bakteri pada medium NA miring.....	41
4. Morfologi isolat bakteri secara mikroskopik melalui pengecatan gram kapsul dan spora.....	43
5. Pengamatan uji fisiologi isolat bakteri.....	47
6. Uji motilitas isolat bakteri pada medium SIMA.....	55
7. Uji sensitivitas isolat bakteri terhadap beberapa jenis antibiotik.....	56
8. Uji hemolisis isolat bakteri pada cawan agar darah.....	60
9. Hasil uji adhesivitas isolat bakteri tanpa penambahan saliva (kontrol).....	62
10. Hasil uji adhesivitas isolat bakteri dengan penambahan saliva.....	63

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur gigi.....	6
2. Mekanisme pembentukan plak gigi.....	17
3. Tahap perkembangan plak gigi	18
4. Gigi dan gusi penderita gingivitis.....	20
5. Salah satu akibat dari penyakit periodontitis.....	22
6. Salah satu akibat periodontitis.....	22
7. Tahapan penyakit gusi.....	23
8. Pengamatan morfologi secara makroskopik isolat bakteri pada Medium NA cawan.....	40
9. Pengamatan morfologi secara makroskopik isolat bakteri pada medium NA miring.....	42
10. Pengamatan uji Fisiologis bakteri.....	53
11. Uji Sensitivitas isolat Bakteri Terhadap Beberapa Jenis Antibiotik.....	58
12. Pengamatan uji adhesivitas tanpa perlakuan saliva.....	64
13. Pengamatan uji adhesivitas tanpa perlakuan saliva.....	65

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Plak gigi adalah suatu istilah yang biasa digunakan untuk suatu lapisan tipis yang senantiasa terbentuk pada permukaan yang keras di dalam mulut (gigi asli dan gigi tiruan) dan sering juga terdapat pada gingiva (gusi) dan lidah. Lapisan plak tidak dapat dilihat dengan mata kasar dan baru dapat dilihat apabila berkumur dengan menggunakan larutan pembuka misalnya pewarna makanan eritrosin yang dikenal secara umum sebagai FDC red no 3. Plak gigi terdiri atas campuran 70 % bakteri, saliva, glikoprotein, protein dan larutan gula. Ketebalan plak gigi yang terbentuk dapat mencapai 2 mm (Newburn, 1983; Huis, dkk, 1993; Philip, 2000).

Bakteri dapat melekat pada gigi dengan bantuan pelikel. Perlekatan antara bakteri dan pelikel dapat terjadi dalam beberapa jam dan selama beberapa hari populasi bakteri ini akan tumbuh dan menyebar keluar ke permukaan gigi (Freeman, 1985; Manson, 1993).

Plak dapat melekat pada gigi secara supragingiva dan subgingiva. Plak supragingiva terjadi pada *occlusal fissure*, *bucal* dan permukaan *lingual* email yang lembut dan di sela-sela gigi. Sedangkan plak subgingiva terbentuk pada sulkus gingiva (Freeman, 1985; Forrest, 1995).

Pembentukan plak supragingiva disebabkan oleh bakteri yang mempunyai kemampuan untuk membentuk polisakarida ekstraseluler yang memungkinkan bakteri melekat pada gigi dan saling berikatan. Koloni bakteri yang pertama adalah

Streptococcus mitior, *S. sanguis*, *Actinomyces viscosus* dan *A. naeslundii*. Sedangkan bakteri penyusun plak secara global terdiri atas *Streptococcus mitior*, *S. sanguis*, dan *Actinomyces viscosus*, *A. naeslundii*, *A. odontolyticus*, *A. israelii*, *Veillonella sp.*, *Neisseria sp.*, *Haemophilus spp.*, *Fusobacterium spp.* dan *Bacteroides sp.* (Newburn, 1983; Amerongen, 1991; Manson, 1993; Philip, 2000).

Bakteri yang terakumulasi pada plak gigi merupakan penyebab utama berbagai penyakit pada mulut misalnya kerusakan gigi (karies), radang gusi (gingivitis) dan penyakit periodontitis. Bakteri yang menyusun plak dapat menghasilkan produk metabolisme yang bersifat asam (*acidogenic*), asam ini dapat melarutkan lapisan luar gigi dan selanjutnya menyebabkan kerusakan pada gigi (Huis, dkk, 1993; Besford, 1996; Carranza, 2002).

Mengingat peranan bakteri yang sangat besar dalam menimbulkan berbagai penyakit didalam rongga mulut, antara lain gingivitis maka penting untuk mengetahui berbagai karakter, baik morfologi maupun fisiologinya.

I.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui beberapa karakter morfologi, fisiologi dan biokimiawi dari berbagai isolat bakteri pembentuk plak supragingiva pada orang dewasa.

I.3 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai karakteristik morfologi, fisiologi dan biokimia dari bakteri pembentuk plak supragingiva, sehingga

dapat dijadikan sebagai salah satu sumber informasi bagi penelitian-penelitian selanjutnya terutama dalam mengidentifikasi bakteri pembentuk plak supragingiva pada orang dewasa dan dalam menentukan bakterisida yang tepat dalam usaha pencegahan dan pengobatan berbagai penyakit pada rongga mulut.

I.4 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April hingga Juni 2005 di Laboratorium Biologi Molekuler dan Immunologi bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Tinjauan Umum Mulut dan Gigi

Pada permukaan tubuh manusia, baik itu pada permukaan luar maupun bagian dalam tubuh ditutupi oleh bakteri . Pada banyak daerah tubuh, bakteri ini tidak berbahaya dan dapat hidup berdampingan dengan sel-sel permukaan tubuh. Bahkan pada beberapa kasus, bakteri ini menguntungkan karena bakteri ini dapat melakukan persaingan dalam memperebutkan tempat dan makanan sehingga bakteri dan sel-sel tubuh ini dapat mencegah perlekatan dan pertumbuhan bakteri lain yang merugikan, yang selalu terdapat pada lingkungan sekitarnya. Tiap daerah didalam tubuh memiliki kondisi tertentu atau lingkungan mikro yang dapat mendukung bakteri tertentu untuk tetap tinggal (Besford, 1996).

II.1.1 Mulut

Rongga mulut dilapisi oleh membran mukosa dan didalamnya terdapat lidah, gigi dan kelenjar saliva. Kondisi mulut yang hangat, senantiasa basah dan kadang-kadang berisi makanan mendukung kehidupan berbagai jenis bakteri, dimana bakteri dapat memanfaatkan sisa makanan, protein dan glikoprotein dari saliva sebagai sumber energi dan bahan bangunan (Black, 1999; Grune, 2004).

II.1.2 Gigi

Struktur gigi tersusun atas tiga bagian dasar, yaitu mahkota atau korona, leher gigi dan akar gigi, ada juga yang hanya membagi bagian dasar gigi menjadi dua bagian yaitu mahkota dan akar. Mahkota ini ditutupi oleh email yang berada dibagian atas gusi.

Sedangkan akar ditutupi oleh cementum (semen) yang berada dibagian bawah gusi. Di bawah cementum dan email terdapat dentin, rongga pulpa dan terusan (kanal) akar yang merupakan tempat pembuluh darah dan saraf. Email ini, walaupun sifatnya sangat keras tetapi masih dapat diserang oleh mikroba yang memproduksi asam dan enzim, mikroba juga dapat menginfeksi gusi pada kantung infeksi yang terletak antara gigi dan gusi (Besford, 1996; Black, 1999).

Email yang merupakan bagian yang paling keras pada tubuh terdiri atas air, bahan organik, misalnya vitamin A dan bahan anorganik yang terdiri dari kalsium, fosfor, karbondioksida, magnesium, sodium, pollusium, khlorida, fluor, sulfur, besi dan seng. garam-garam mineral ini biasanya terbentuk pada gigi sebelum gigi tumbuh menembus gusi dalam mulut, sehingga gigi kuat menahan tekanan ketika terjadi pengunyahan (Huis, dkk, 1993, Besford, 1996).

Lapisan dentin adalah lapisan yang tidak terlalu keras pada sebelah dalam gigi (gading adalah dentin pada gajah dan mirip dengan dentin pada manusia). Dentin mendapatkan kekerasan dari kristal-kristal garam kalsium (terutama kalsium hidroksiapatit) yang diendapkan dalam serabut-serabut yang amat halus (Besford, 1996).

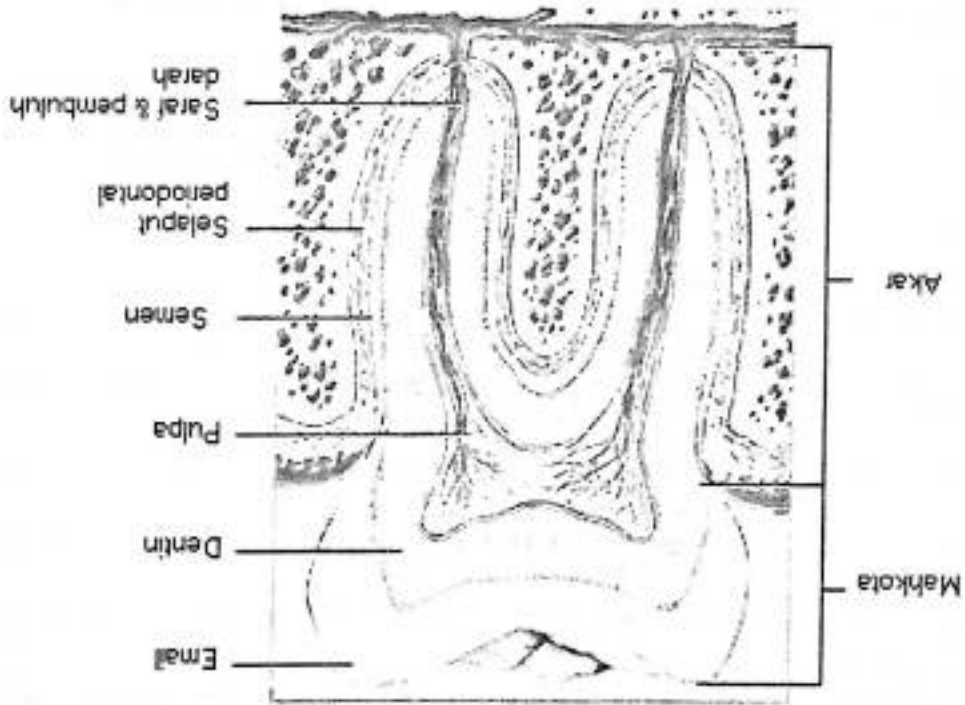
Gingiva atau gusi merupakan bagian dari lapisan mukosa mulut yang menutupi bagian alveolar pada rahang dan mengelilingi bagian leher dari gigi (Carranza, 2002).

Plak gigi adalah suatu istilah yang biasa digunakan untuk suatu lapisan tipis yang senantiasanya terbentuk pada permukaan gigi. Lapisan ini berwarna putih bening atau berwarna kekuning-kuningan dan tidak dapat dilihat dengan mata kasar. Ketebalan dari lapisan plak gigi dapat berubah-ubah, dimana ketebalannya dapat mencapai 2mm. Plak gigi terdiri atas campuran 70 % bakteri, air liur (saliva), glikoprotein dan larutan gula. Larutan ini baru dapat dilihat apabila berkumur dengan larutan pembuka misalnya pewarna makanan eritrosin yang disebut FDC (Newburn, 1983; Huis, dkk, 1993).

11.2 Tinjauan Umum Plak

11.2.1 Defenisi Plak Gigi

Gambar 1. Struktur gigi (Crest, 1993)



Struktur gigi beserta bagian - bagiannya dapat dilihat pada gambar 1.

Biasanya plak ditemukan berasosiasi dengan bagian pelindung dan bagian yang tergenang pada permukaan gigi, misalnya pada fisura bagian apoksimal dan sulkus gingiva (gusi). Jumlah plak sedikit pada sulkus gingiva karena anatomi yang terbatas dari sulkus gingiva, sedangkan pada bagian supragingiva apabila tidak dikontrol plak bisa menjadi sangat tebal. Plak melekat erat ada permukaan gigi dan tidak bisa dihilangkan hanya dengan cara berkumur (Newburn, 1983; Freeman, 1985; Philip, 2000).

II.2.2 Klasifikasi plak gigi

Berdasarkan tempat perlekatannya pada gigi maka plak gigi dapat dibagi menjadi dua macam yaitu plak supragingiva dan plak subgingiva (Forrest, 1995).

a. Plak Supragingiva

Plak supra gingiva adalah plak yang terjadi pada bagian *buccal* dan bagian *lingual* email yang halus, pada bagian *occlusal fisural* diantara gigi yang satu dengan gigi yang lain (Freeman, 1985).

Pembentukan plak supragingiva dipelopori oleh bakteri yang mempunyai kemampuan untuk membentuk polisakarida ekstraseluler yang memungkinkan bakteri melekat pada gigi dan saling berikatan. Koloni bakteri yang pertama pada plak gigi supragingiva adalah *Streptococcus mitior*, *S. sanguis*, *Actinomyces viscosus* dan *A. naeslundii*. Bila bakteri-bakteri ini dibiarkan tumbuh selama beberapa hari maka akan timbul inflamasi gingiva. Selama proses ini kondisi lingkungan secara perlahan-lahan akan berubah dan menyebabkan terjadinya pertumbuhan yang secara selektif dari bakteri dan bakteri yang sebelumnya bersifat aerob atau fakultatif anaerob akan mengalami pergeseran kejenis anaerob. Setelah hari pertama pertumbuhan plak, flora dalam mulut

akan bertambah kompleks, perbandingan *Streptococcus* meningkat menjadi 45 % dalam waktu 24 jam, sedangkan coccus anaerob gram negatif (*Veillonella*) meningkat sama kira-kira 2%. Spesies anaerob fakultatif dan obligat dari *Actinomyces* bertambah hingga 25 % setelah tiga hari, flora bakteri lain yang dapat tumbuh yaitu *Neisseria*, *haemophilus* dan *Fusobacterium* (Manson, 1993; Lindhe, 1995; Philip, 2000).

Untuk mendeskripsikan plak supragingiva, maka plak supragingiva dapat dipandang dari 4 sisi, yaitu : 1). Plak interfase gigi dan saliva, 2). Lapisan mikroba yang kental, 3). Badan plak dan 4). Plak permukaan (Newburn, 1983).

1. Plak Interfase Gigi dan Saliva

Pada daerah ini, bakteri dapat melekat pada daerah pelikel atau melekat langsung pada permukaan email, tetapi kebanyakan bakteri ditemukan melekat pada pelikel. Selain berisi sel-sel, pelikel yang dilekati bakteri juga berisi elektron yang padat. Pada saat bakteri melekat pada permukaan email yaitu pada kristal hidroksiapatit, maka pada permukaan gigi akan terbentuk garis yang bentuknya tidak rata yang dibentuk oleh bakteri. Kadang-kadang plak terbentuk dekat dengan margin gingiva, yang juga berdekatan dengan bahan sisa yang dikeluarkan oleh epitelium email (Newburn, 1983).

2. Lapisan Kental Mikroba

Suatu lapisan yang sangat kental dan terdiri atas sebagian besar sel yang berbentuk bulat yang mana ketebalannya dapat mencapai 3-20 mikro meter. Pada lapisan ini sel yang aktif membelah masih dapat dilihat walaupun sel bakteri pada lapisan ini memiliki tingkat multiplikasi yang rendah. Lapisan kental mikroba memiliki tingkat ketebalan yang berbeda-beda. Lapisan ini juga ditumbuhi oleh bakteri yang melekat pada pelikel, dimana bakteri ini memiliki tingkat pertumbuhan yang berbeda-

beda tetapi akhirnya bersatu. Koloni bakteri yang diamati pada lapisan ini menampakkan bentuk seperti gumpalan yang memanjang ke atas, hal ini menunjukkan adanya pembatasan pada pertumbuhan secara lateral, atau adanya persyaratan nutrisi yang menyebabkan bakteri tidak dapat tumbuh secara lateral, dan hanya pertumbuhan secara vertikal yang dapat terjadi (Newburn, 1983).

3. Badan Plak

Badan plak merupakan bagian yang memiliki proporsi plak terbesar. Badan plak terdiri atas bakteri dari berbagai spesies, yang tergabung dalam suatu kelompok, termasuk diantaranya bakteri yang berbentuk filamen yang menampakkan bentuk koloni yang tidak teratur. Koloni-koloni bakteri ini cenderung terbentuk pada bagian sudut kanan pada permukaan gigi pada palisade (Newburn, 1983).

4. Plak Permukaan

Lapisan plak pada bagian permukaan gigi atau pada bagian yang terbuka sangat bervariasi. Bakteri tersebut dapat berupa bakteri yang berbentuk bulat, batang atau bakteri yang membentuk formasi seperti tongkol jagung (corn cob), yang sekarang diidentifikasi sebagai bentuk interaksi adhesi (perlekatan) dari bakteri secara in-vivo (Newburn, 1983).

b. Plak Subgingiva

Plak subgingiva terbentuk pada sulkus gingiva. Kolonisasi bakteri dari sulkus gingiva dan kantung periodontal dimulai dengan adanya endapan plak supragingiva yang telah terjadi sebelumnya, sehingga komposisi bakteri dari plak subgingiva sebagian dipengaruhi oleh adanya bagian yang berbatasan dari endapan bakteri supragingiva. Pada pasien yang menderita penyakit gingivitis (radang gusi) ringan sampai sedang

(sekurang-kurangnya selama 2-3 bulan), maka jumlah *Streptococcus* yang terdapat pada plak subgingiva hanya sekitar 25% dari keseluruhan flora mikroba pada plak subgingiva. *S.mitis* dan *S. sanguis* adalah spesies yang utama, adapun spesies yang lain yaitu *Fusobacterium sp*, *Bacteroides sp*, *Selemonas sp* dan *Campylobacter sp* (Lindhe, 1995).

II.2.3 Komposisi Cairan Plak

Komposisi cairan plak terdiri atas sejumlah kecil sel-sel epitel, leukosit dan makrofag dari suatu matriks antar sel yang mengandung bahan perekat, jumlah lisosim laktoferin dan albumin pada cairan plak lebih besar dibandingkan pada saliva. Meskipun kecenderungan ini kebalikan untuk amilase. Jumlah enzim yang dihasilkan oleh bakteri dan inang dapat dideteksi pada cairan plak. Faktor sistem pertahanan spesifik juga ditemukan pada cairan plak, misalnya IgA (imunoglobulin A), IgG dan komplemen. IgG dan komplemen memiliki jumlah yang terbanyak. Faktor sistem imun spesifik ini kemungkinan didapatkan dari plak subgingiva (Manson, 1993; Philip, 2000).

Zat-zat organik dan anorganik yang terbentuk kira-kira 20 % dari plak. Kandungan organik plak meliputi karbohidrat 30 %, protein 30 % dan lipid 15 % yang terdapat dalam bentuk polisakarida ekstraseluler dan glikoprotein yang sama-sama membentuk matriks plak, jumlah protein pada cairan plak lebih tinggi dibandingkan yang terdapat pada saliva (Manson, 1993; Philip, 2000).

Kandungan anorganik plak merupakan 5- 10% berat kering dari plak gigi. Kandungan anorganik plak terdiri dari kalsium, florida, fosfor, magnesium, potassium dan sodium. Bagian gigi yang paling banyak mengandung garam-garam anorganik

adalah pada permukaan lingual insitivus bawah. Ion kalsium ikut membantu perlekatan antara bakteri dengan pelikel (Manson, 1993; Philip, 2000).

II.3 Karakteristik Bakteri Pembentuk Plak Supragingiva

Bakteri pembentuk plak supragingiva terdiri atas *S. mitior*, *S. sanguis*, *S. mitis*, *S. mutans* dan *S. oralis*, *Veilonella spp*, *Neisseria spp*, *A. naeslundii*, *A. israelli*, *Haemophilus spp*, *Fusobacterium spp* dan *Bacteroides spp* (Philip, 2000; Amerongen, 1991; Newburn, 1983).

II.3.1 Streptococcus

Streptococcus adalah bakteri yang berbentuk bulat (kokus) hingga lonjong, diameternya kurang lebih 2 mikro meter yang terdapat dalam bentuk berpasangan atau terdapat dalam bentuk rantai sedang atau pendek bila ditanam pada medium cair. Bersifat non motil, tetapi kadang bersifat galur motil pada kelompok serologis. Koloni bakteri ini berwarna opak, permukaannya menyerupai kaca baur. Bentuk koloni berbeda-beda tergantung pada medium kultur. Tipe metabolismenya adalah fermentatif anaerobik fakultatif, persyaratan nutrisi minimumnya biasanya kompleks (namun beragam) suhu optimum sekitar 37^o C , kandungan G + C DNA berkisar dari 33-42 mol % (Pelzar, 1986; Newburn, 1983).

II.3.2 Actinomyces

Actinomyces adalah bakteri yang tubuhnya berbentuk filamen dengan panjang dan percabangan yang beragam . Diameter sel adalah satu mikro meter atau kurang. Bentuk difreoid dan batang bercabang, bentuk yang umum dijumpai adalah bentuk V, T dan Y. Bersifat non motil dan tidak memiliki spora . Termasuk bakteri gram positif. Tipe metabolismenya adalah kemoorganotrof. Dapat memfermentasi karbohidrat dengan

menghasilkan asam tanpa gas. Nitrogen organik merupakan persyaratan bagi pertumbuhan anaerobik fakultatif (Pelzar, 1986; Newburn, 1983).

II.3.3 Veilonella

Sel Veilonella berbentuk kokus, merupakan bakteri gram negatif, non motil dan tidak membentuk spora. Merupakan organisme anaerobik. Persyaratan nutrisinya rumit dan membutuhkan karbondioksida, merupakan penghuni umum saluran pencernaan dan rongga mulut pada manusia dan hewan (Pelzar, 1986).

II.3.4 Haemophilus

Sel-selnya berbentuk cocobacillus hingga batang, berukuran kecil sampai sedang, kadang-kadang membentuk filamen dan dapat menunjukkan pleomorfisme yang nyata. Bersifat non-motil, termasuk bakteri gram negatif, parasit sejati membutuhkan faktor tumbuh yang berada dalam darah. Bersifat aerobik atau anaerobik fakultatif. Dapat bersifat patogenik atau tidak. Suhu optimum biasanya 37⁰ C. Kandungan G + C DNA pada species-species yang diteliti berkisar antara 38-42 mol % (Pelzar, 1986).

II.3.5 Fusobacterium

Merupakan bakteri berbentuk batang yang berbentuk gelendong bersifat non-motil, tidak memiliki spora memiliki flagellum peritrikus. Termasuk bakteri gram negatif yang bersifat anaerob obligat, dapat memetabolisme karbohidrat menjadi asam-asam organik. Dijumpai pada rongga tubuh manusia dan hewan Beberapa bersifat patogenik dan penginfeksi pada manusia (Pelzar, 1986).

II.3.6 Bacteroides

Merupakan bakteri yang berbentuk batang, tidak membentuk spora, bersifat non motil, atau motil dengan adanya flagella peritrikus. Termasuk bakteri gram negatif yang metabolismenya secara kemoorganotrof, dapat melakukan metabolisme karbohidrat dan pepton. Produk fermentasi karbohidrat meliputi kombinasi asam-asam suksinat laktat, asam asetat dan propionat. Hidup secara anaerob obligat, kandungan G + C berkisar dari 40-45mol %. Dijumpai dalam rongga tubuh manusia dan hewan, beberapa bersifat patogenik (Pelzar, 1986).

II.4 Plak Gigi dan Biofilm Mikroorganisme

Penelitian pada berbagai ekosistem yang berbeda menyatakan bahwa mayoritas organisme terdapat secara alami pada suatu permukaan. Biofilm merupakan istilah yang digunakan untuk menjelaskan suatu komunitas dari jasad renik yang menyerang suatu permukaan, mikroba tersebut biasanya tersusun dalam struktur tiga dimensi dan tertutup di dalam sebuah matriks dari materi ekstraseluler yang dapat berasal dari sel mikroba itu sendiri atau dari lingkungannya. Pada awalnya biofilm merupakan suatu lapisan yang padat, yang merupakan akumulasi dari sel mikroba. Penelitian telah membuktikan bahwa sel yang tumbuh membentuk suatu biofilm memiliki sifat yang unik, beberapa diantaranya memiliki arti klinis. Sebagai contoh, tidak dapat dipungkiri bahwa biofilm dapat 1000 kali lebih resisten terhadap beberapa agen antimikroba dibandingkan dengan sel yang ditumbuhkan pada kultur cair, sementara kemampuan untuk melekat (adhesi) dapat dengan cepat menekan gen tertentu, sehingga mengakibatkan sel-sel yang saling berdempetan memiliki fenotif yang baru (Phillip, 2000).

Sifat dari mikroorganisme dapat diubah di dalam biofilm lebih dari satu cara, perlekatan sel pada suatu permukaan dapat menyebabkan efek langsung, hal ini mungkin disebabkan oleh adanya sentuhan sensor yang cepat pada permukaan sel. Peningkatan ketahanan dari biofilm terhadap agen antimikroba dapat mengubah umur, struktur biofilm dan sifat kimia dari agen antimikroba. Selain itu perlekatan sel dapat menyebabkan (menekan) gen dari sel penyusun biofilm, sehingga menunjukkan ekspresi yang tidak biasa selama berada pada kultur cair. Gen-gen dapat mengubah fenotip dari sel sehingga sel-sel tersebut dapat lebih kebal (Phillip, 2000).

Biofilm dapat mengandung polimer ekstraseluler (kadang-kadang diibaratkan sebagai matriks atau glikokaliks), biofilm dan polimer ekstraseluler dapat membentuk suatu lapisan yang tebal, senantiasa terbentuk dan terhidrasi yang mengelilingi suatu sel. Sebuah matriks dapat menghalangi efek dari agen antimikroba tertentu, hal ini mungkin disebabkan oleh kombinasi dari interaksi ionik atau oleh efek samping molekul. Ikatan dari kutub positif antibiotik (misalnya aminoglycosides) masih dapat terjadi, meskipun efeknya dari agen antimikroba sangatlah kecil. Eksopolimer juga dapat mengikat, oleh karena itu enzim ekstraseluler misalnya β -laktamase, yang dapat menurunkan atau membuat efek dari antimikroba menjadi tidak aktif. Pada umumnya pertumbuhan bakteri lambat dalam biofilm, salah satu sebabnya adalah nutrisi yang terbatas atau kondisi yang tidak cocok dan fenotip sel sering bersifat lebih kebal terhadap agen antimikroba. Plak gigi mungkin biofilm pertama yang dipelajari sebagai istilah lain dari

komposisi mikroba atau mengenai sensitivitasnya terhadap agen antimikroba. Properti umum biofilm antara lain (Phillip, 2000):

1. Perlindungan melalui pertahanan inang dan predator
2. Perlindungan dari proses desikasi
3. Perlindungan dari agen antimikroba
 - Asosiasi fenotip pada permukaan
 - Pertumbuhan yang lambat
 - Kurangnya kemampuan melakukan penetrasi
 - Inaktivasi/netralisasi
4. Ekspresi baru dari gen dan fenotip
5. Adanya suatu sistem aliran yang terus-menerus
6. Adanya lingkungan yang renggang dan berbeda-beda
7. Adanya organisasi yang renggang dapat memfasilitasi interaksi metabolisme.
8. Peningkatan konsentrasi nutrisi.

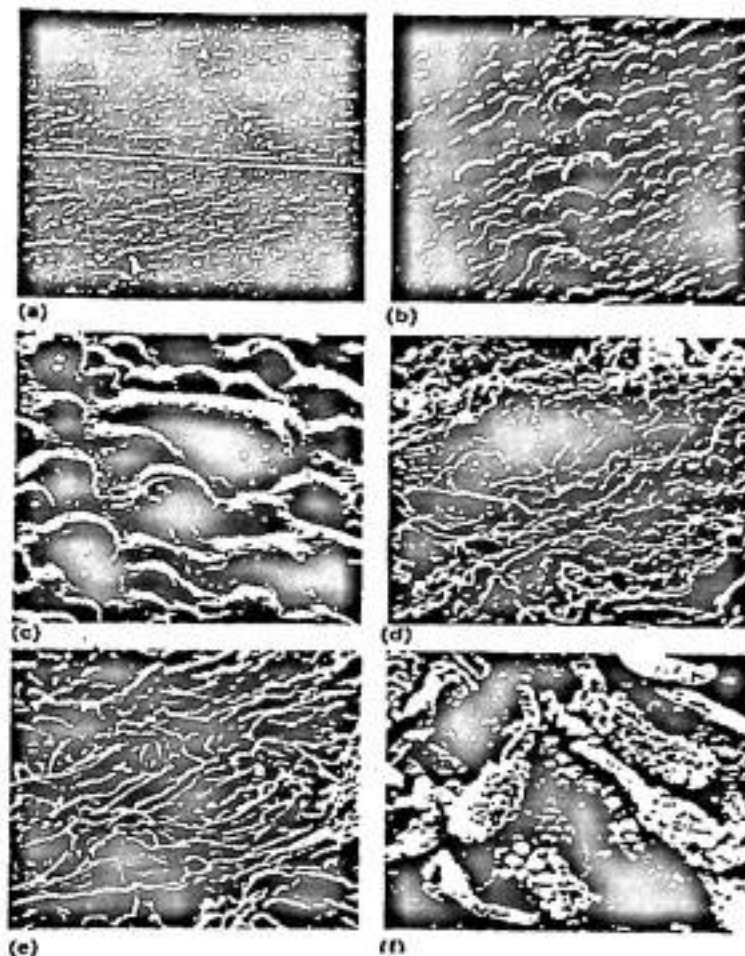
II.5 Mekanisme Pembentukan Plak

Perkembangan dari biofilm misalnya plak gigi dapat dibagi kedalam beberapa tahap. Selama bakteri mendekati suatu permukaan, sejumlah interaksi spesifik dan non-spesifik akan terjadi pada diantara sel dan lapisan di bawahnya yang kemudian akan melakukan perlekatan dan koloni akan mengambil tempat pada permukaan. Tahapan dari pembentukan plak meliputi (Phillip, 2000):

1. Terjadi absorpsi antara inang dan molekul bakteri dari pada permukaan gigi untuk membentuk suatu lapisan tipis (pelikel).
2. Pengangkutan mikroorganisme menuju pelikel yang melapisi permukaan gigi.
3. Interaksi fisika-kimia jarak panjang antara permukaan sel mikroba dan pelikel yang melapisi gigi. Pengaruh dari gaya tarik menarik Vander Waals dan gaya tolak meolak elektrostatis dapat menghasilkan suatu bidang yang lemah dari gaya tarik menarik suatu jaringan yang dapat memudahkan perlekatan yang dapat balik.
4. Interaksi jarak pendek menjadi spesifik. Terjadi interaksi kimia antara zat pelekat pada permukaan sel mikroba dan reseptor pada pelikel, interaksi ini biasanya dihasilkan pada proses adhesi yang tidak dapat balik.
5. Koagregasi dari mikroorganisme akan saling mengikatkan sel, tahap ini dihasilkan secara berbeda-beda pada plak mikroflora.
6. Terjadi perbanyakan dari organisme yang melekat untuk meneruskan pertumbuhan dan membentuk sebuah biofilm.
7. Pelepasan sel yang berasal dari biofilm menuju fase plankton (biasanya saliva), akan memudahkan kolonisasi bakteri pada tempat yang segar.

II.6 Perkembangan Plak Gigi

Gambaran dari tahap perkembangan plak gigi dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3: Perkembangan plak gigi dari permukaan yang bersih yang diamati dibawah mikroskop elektron dengan perbesaran 1150 kali (Philip, 2000)

Keterangan gambar:

- Bakteri berbentuk kokus mulai menyerang dan melekat pada pelikel yang terdapat pada permukaan email sebagai spesies pioner.
- Bakteri mulai melakukan multiplikasi untuk membentuk mikrokoloni
- Bakteri-bakteri ini kemudian dengan cepat melakukan pertumbuhan membentuk suatu biofilm yang berhubungan dengan matriks ekstraseluler yang dihasilkan oleh bakteri dan saliva
- Dengan bertambahnya waktu, keanekaragaman dari bakteri mengalami peningkatan oleh koloni dari bakteri berbentuk filamen dan yang berbentuk batang.
- Sarna dengan point d
- Pada puncak kolonisasi, banyak terbentuk asosiasi baru dari populasi bakteri yang berbeda, termasuk diantaranya adalah formasi bentuk tongkol jagung (corn-cob).

II.7 Hubungan Plak dan Penyakit Pada Rongga Mulut

Plak merupakan penyebab utama pada, berbagai penyakit pada rongga mulut, misalnya kerusakan pada gigi (karies), radang gusi (gingivitis) dan infeksi jaringan penyangga gigi (Periodontitis) (Carranza, 2002).

II.7.1 Radang Gusi (Gingivitis)

Gingivitis atau radang gusi adalah salah satu penyakit yang paling sering terjadi pada gusi. Radang hampir terjadi pada semua bentuk penyakit gusi, hal ini disebabkan karena bakteri pembentuk plak gigi sangat sering terdapat pada lingkungan gusi dan menyebabkan terjadinya radang, faktor iritasi dan mendukung akumulasi dari plak gigi. Radang tersebut disebabkan oleh plak gigi yang dapat meningkatkan hubungan yang merugikan, necrotic dan perubahan proliferasi pada jaringan gusi. Gingivitis ringan dan perkembangan plak dalam jumlah yang besar dapat terjadi pada mulut yang tidak dibersihkan selama empat belas hari, dimana kebersihan mulut sebelumnya sangat baik. Enzim dan produk metabolisme yang dikeluarkan oleh bakteri merupakan penyebab terjadinya radang pada inang (Freeman, 1985; ; Huis, dkk, 1993; Carranza, 2002).

Gejala klinis gingivitis antara lain (Huis, dkk, 1993):

- Kecenderungan untuk terjadinya pendarahan meningkat pada stadium awal
- Warna gingiva berubah dengan meningkatnya radang dari warna merah muda ke merah tua hingga ungu
- Bentuk gingiva berubah karena adanya pembengkakan
- Jaringan yang kuat dan kaku berubah menjadi gingiva yang lunak dan halus

- Pada stadium lebih lanjut terjadi pembentukan jaringan granulasi yang dianggap sebagai jaringan ikat muda dengan banyak fibroblas, banyak pembuluh darah dan agak sedikit serabut kolagen, sehingga ikut membantu terjadinya perubahan bentuk pada gingiva (gusi).
- Kadang-kadang dijumpai gejala rasa sakit ketika alat pengukur poket dimasukkan. Gambar gigi dan gusi dari penderita gingivitis dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Gambar gigi dan gusi penderita gingivitis (Sjuhada, 2001)

II.7.2 Periodontitis

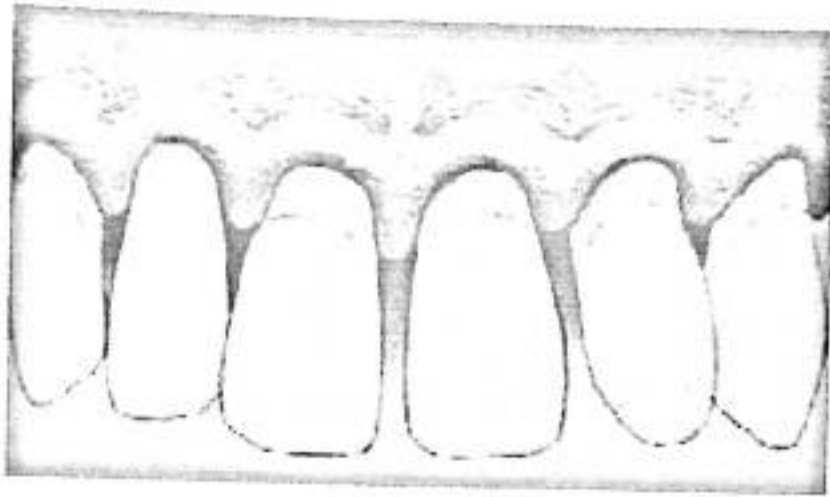
Periodontitis adalah penyakit yang paling sering terjadi pada penyakit periodontal. Periodontitis merupakan proses peradangan lanjutan dari gingivitis, yang terjadi pada jaringan penyangga gigi. Penyakit ini disebabkan oleh perluasan dari plak supragingiva menuju celah gingiva untuk membentuk plak subgingiva yang disertai oleh perubahan komposisi bakteri penyusun plak. Pada lingkungan yang relatif tergenang pada sulkus gingiva, bakteri gram negatif merupakan bakteri yang agak dominan, termasuk diantaranya *Bakteroides Fusobacterium* dan *Capnocytophaga*. Selama bakteri

plak berkembang biak, kedalaman sulkuspun bertambah, seiring dengan perusakan jaringan gingiva, serabut periodontal, dan tulang alveolar, akan berkembang menjadi periodontitis (Freeman, 1985; Carranza, 2002).

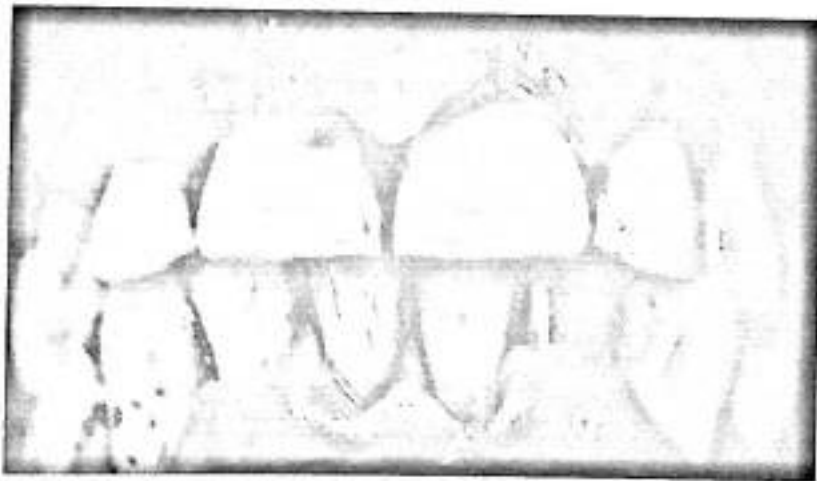
Bakteri yang berada pada kantung periodontal tidak akan menyerang jaringan yang berdempetan. Tampaknya produk bakteri yang dikumpulkan dan disebarkan pada jaringan sekitar akan mengakibatkan terjadinya radang berat. Diantara produk bakteri yang berasosiasi dengan zat yang bersifat patogen yaitu enzim (kolagenase, hyaluronidase, deoksiribonuklease dan proteinase), endotoksin dan produk metabolisme misalnya asam organik, amonia dan sulfid hidrogen. Produk bakteri dapat merangsang secara tidak langsung perusakan dari respon inang, misalnya dengan cara pengeluaran enzim endogenous dari lisosim dan merusak mekanisme perangsangan immunopatologi (Freeman, 1985; Carranza, 2002).

Gejala klinis periodontitis antara lain (Freeman, 1985; Huis, dkk, 1993):

- Hilangnya jaringan penyangga baik yang lembut maupun yang keras
- Terjadi pembengkakan gusi
- Mulut berbau
- Kadang-kadang terjadi pembentukan nanah
- Munculnya rasa sakit
- Perpindahan dan terbaliknya elemen gigi-geligi dan terjadi kegoyahan merupakan gejala periodontitis yang melanjut

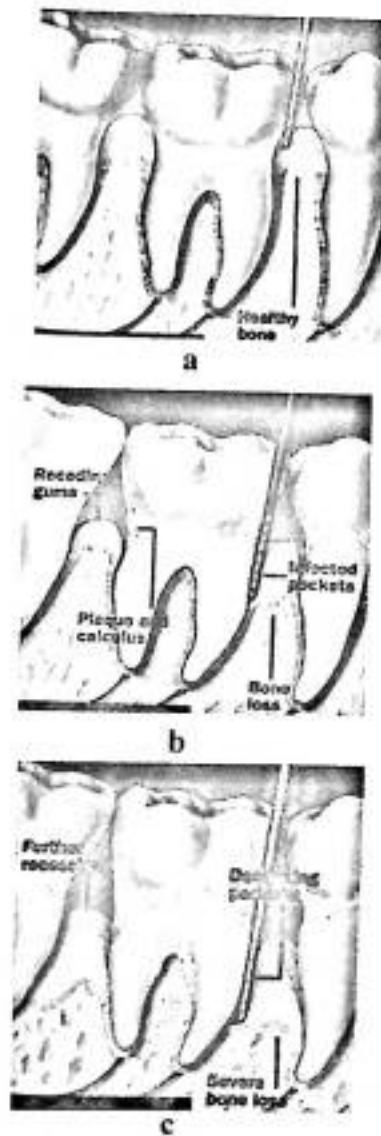


Gambar 5. Gambar menunjukkan salah satu akibat dari penyakit periodontitis, dimana terjadi pembengkakan gusi dan adanya ruang antar gigi (Sjuhada, 2001).



Gambar 6. Gambar menunjukkan salah satu akibat periodontitis, dimana terjadi pembengkakan gusi sehingga menutupi sebagian dari permukaan gigi (Sjuhada, 2001).

Gambar tahapan penyakit gusi dapat dilihat pada gambar 7:



Gambar 7. Tahapan penyakit gusi (Sjuhada, 2001)

Keterangan Gambar:

- a. Gambar ini adalah penampang gigi dan gusi yang sehat. Pada gusi yang sehat instrumen tidak dapat menembus ruang antara gigi-gusi.
- b. Pada gingivitis / radang gusi, terjadi pembengkakan gusi sehingga instrumen bisa menembus ruangan antara gigi-gusi sedalam beberapa milimeter.
- c. Bila telah terjadi periodontitis / infeksi jaringan penyangga gigi, kerusakan tulang telah terjadi. Jaringan gusi telah berkurang. Instrumen bisa menembus ruang antara gigi-gusi lebih dalam lagi. Karang gigi telah terbentuk pada permukaan akar gigi. Periodontitis yang melanjut akan mengakibatkan kerusakan tulang lebih luas. Gigi akan mengalami kegoyangan patologis, terjadi produksi nanah dan rasa sakit. Instrumen bisa menembus sampai ujung akar.

II.7.3 Karies

Masalah Kerusakan gigi yang sering terjadi adalah karies gigi. Karies gigi adalah suatu proses demineralisasi yang disebabkan oleh adanya suatu interaksi antara produk-produk mikroorganisme, ludah, sisa-sisa makanan dan email. Bakteri pada plak yang dapat mengubah gula yang berasal dari sisa-sisa makanan menjadi asam, asam ini akan menyerang email sehingga email mengalami suatu kavitas (Huis, dkk, 1993).

II.7.4 Kalkulus

Kalkulus adalah plak bakteri yang termineralisasi, tapi tidak semua plak termineralisasi. Plak bakteri yang termineralisasi ini akan membentuk suatu lapisan keras pada permukaan gigi, dan objek solid lainnya di dalam mulut, misalnya restorasi dan gigi tiruan yang tidak dibersihkan atau tidak terkena sikatan ketika dilakukan penyikatan gigi. Kalkulus memiliki hubungan dengan penyakit periodontal, dan kalsifikasi patologis yang lain misalnya batu ginjal, dan batu kandung kemih. Kalkulus dapat terbentuk pada bagian supragingiva maupun subgingiva (Manson, 1993).

Kalkulus jarang ditemukan pada gigi susu dan pada gigi permanen anak yang berusia muda. Meskipun demikian kalkulus sudah dapat ditemukan pada anak berusia 9 tahun, dan pada hampir seluruh rongga mulut orang dewasa (Manson, 1993).

II.8 Antibiotik

Kata antibiotik diberikan pada produk metabolik yang dihasilkan suatu mikroorganisme tertentu, yang dalam jumlah amat kecil bersifat merusak atau menghambat mikroorganisme lain (Pelzar & Chan, 1986).

Tetracyclin merupakan jenis antibiotik yang berspektrum antibakteri yang luas, yang mengeluarkan efek bakteriostatik pada banyak bakteri gram negatif dan beberapa gram positif kecuali mikobakteri (Pelzar & Chan, 1986; Volk & Wheeler, 1988).

Streptomycin adalah salah satu antibiotik aminoglikosida yang mengeluarkan pengaruh bakterisida pada sejumlah besar bakteri gram positif dan gram negatif (Pelzar & Chan, 1986).

Doxycycline Hydrochloride merupakan salah jenis antibiotik *Tetracyclin*. Perbedaan antibiotik ini dengan *Tetracyclin* antara lain, banyak bakteri *Streptococcus aureus* dan *Neisseria spp* resisten terhadap *Tetracyclin* tetapi sensitif terhadap *Doxycycline Hydrochloride* antibiotik ini juga efektif terhadap *Streptococcus pneumoniae* dan *S. pyogenes* (Istiantoro & Gan, 1995).

Penicillin merupakan antibiotik modern pertama, yang masih tergolong diantara yang paling bermanfaat, serta paling luas penggunaannya, *Penicillin (G)* merupakan salah satu jenis penicilin alamiah yang sangat efektif terhadap bakteri gram positif dan gram negatif, kekurangan dari antibiotik ini adalah antibiotik ini kurang efektif pada suasana asam (Pelzar & Chan, 1986; Istiantoro & Gan, 1995).

Ampicillin merupakan salah satu jenis dari *Tetracyclin* semisintesis, antibiotik ini efektif terhadap bakteri gram negatif disamping beberapa bakteri gram positif. *Ampicillin* bersifat sangat bakterisidal dan tidak beracun, tetapi tidak terhadap penisilidase, serta tidak stabil pada pH asam (Pelzar & Chan, 1986).

Eritromycin merupakan antibiotik yang efektif terhadap sebagian besar bakteri gram positif dan beberapa bakteri gram negatif (*Neisseria spp*, dan *Bordetella*

pertussis), dan spiroket patogenik. Dalam hal spektrum antibakterial dan kegunaan klinisnya, *Eritromycin* menyerupai *Penicillin* namun antibiotik ini juga aktif terhadap organisme yang menjadi resisten terhadap *Penicillin* dan *Streptomycin*. Antibiotik ini tidak stabil pada suasana asam, dan kurang stabil pada suhu kamar. Antibiotik ini seringkali diberikan kepada pasien yang alergi terhadap *Penicillin* (Pelzar & Chan, 1986).

Ukuran zona beberapa disk antimikroba dapat dilihat pada tabel 6:

Tabel 6. Ukuran Zona beberapa disk antimikroba (Madegan, 1997)

Antibiotik	Konsentrasi pada disk	Diameter zona hambatan (mm)		
		Resisten	Intermedit	Sensitif
<i>Tetracyclin</i>	30 µg	≤14	15 – 18	≥ 19
<i>Streptomycin</i>	10 µg	≤11	12 – 14	≥ 15
<i>Doxycycline Hydrochloride</i>	30 µg	≤12	13 – 15	≥ 16
<i>Ampicillin</i>	10 µg	≤11	12 – 13	≥ 14
<i>Eritromycin</i>	15 µg	≤13	14 – 17	≥ 18
<i>Penicillin (G)</i>	10 µg	≤11	12 – 21	≥ 22

BAB III

METODE PENELITIAN

III.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu : Tabung reaksi besar dan kecil (Pyrex), cawan Petri (Pyrex), Erlenmeyer (Pyrex), gelas ukur (Witeg), objek gelas/dek gelas(sail brand), kaca pembesar, ose bulat dan ose lurus, incubator (Memmert), shaker (Memmert), otoklaf (Webeca), oven (Memmert), neraca analitik (Ohaus), mikroskop (Nikon), lemari pendingin, bunsen, sentrifuge (heraeus), spektrofotometer, caliper (Shinwa), rak tabung (Memmert) dan water bath (Memmert).

III.2 Bahan

- Bahan-bahan yang digunakan untuk pengecatan gram adalah kristal violet 90%, alkohol 96%, lugol, fuchsin alkalis, dan aquades
- Bahan-bahan yang digunakan untuk pengecatan kapsul adalah tinta cina dan fuchsin alkalis
- Bahan-bahan yang digunakan untuk pengecatan spora adalah malachite green dan fuchsin alkalis
- Bahan-bahan yang digunakan untuk sensitifitas adalah NaCl 0,9%, antibiotik Doxycycline Hydrochloride, Tetracyclin, Ampicillin, Eritromycine, Streptomycin, Pennicillin dan medium GNA (Glukosa Nutrien Agar).
- Bahan-bahan yang digunakan untuk uji fisiologis secara umum adalah : Aquadest, Medium Nutrien Agar (Difco), Medium MR - VP (Merck), Medium gula-gula, yaitu : glukosa (Merck), laktosa (Merck), sukrosa (Merck), Manitol (Merck),

Medium Triple Sugar Iron Agar (Difco), Medium Suifite Indol Motility (Merck), Medium Trypton Broth (Merck), Medium Simmon Citrat Agar (Difco), Medium Brain Heart Infusion Broth (Merck) dan Glukosa Nutrien Agar (Merck).

- Bahan-bahan yang digunakan untuk uji adhesivitas adalah : saliva murni, larutan buffer, NaCl 0,9%.
- Bahan-bahan pendukung lainnya : korek api, xylol, NaCl, deterjen, kapas, kertas label, karet gelang, aluminium foil, alkohol 70%.

III.3 Cara Kerja

III.3.1 Sterilisasi alat

Alat-alat yang bersifat tahan panas seperti alat-alat gelas disterilkan dengan menggunakan oven pada suhu 180°C selama 2 jam, sedangkan alat-alat yang tidak tahan panas disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 15 psi.

III.3.2 Pembuatan medium

a. Medium Nutrien Agar (NA)

Komposisi medium dalam 1000 ml aquadest adalah : ekstrak daging 3 g, pepton 5 g, agar 15 g. Bahan ditimbang sebanyak yang dibutuhkan kemudian dilarutkan dalam aquadest dan diatur pHnya pada 6,8. Medium dimasukkan dalam erlenmeyer dan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 2 atm.

b. Medium MR - VP

Komposisi medium dalam 1000 ml aquadest adalah : polipepton 7,0 g, dekstroza 5,0 g, dikalium fosfat 5,0 g. Bahan-bahan ditimbang sebanyak yang dibutuhkan

kemudian dilarutkan dalam aquadest dan diatur pHnya pada 6,9. Medium dimasukkan dalam erlenmeyer dan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 2 atm.

c. Medium Triple Sugar Iron Agar (TSIA)

Komposisi medium dalam 1000 ml aquadest adalah : ekstrak khamir 3,0 g, ekstrak daging 3,0 g, pepton 15,0 g, proteosa pepton 5,0 g, laktosa 10,0g, sukrosa 10,0 g, dextrosa 1,0 g, ferrous sulfat 0,20 g, NaCl 5,0 g, natrium thiosulfat 0,3 g, phenol red 0,024 g, agar 12,0 g. Bahan ditimbang sebanyak yang dibutuhkan kemudian dilarutkan dalam aquadest dan diatur pHnya pada 7,4. Medium dimasukkan dalam erlenmeyer dan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 2 atm.

d. Medium Simmons Citrat Agar (SCA)

Komposisi medium dalam 1000 ml aquadest adalah : natrium sitrat 2,0 g, NaCl 5,0 g, magnesium sulfat 0,20 g, monoamonium fosfat 1,0 g , dikalium fosfat 1,0 g, agar 15,0 g, bromothymol blue 0,080 g. Bahan ditimbang sebanyak yang dibutuhkan kemudian dilarutkan dalam aquadest dan diatur pHnya pada 6,9. Medium dimasukkan dalam erlenmeyer dan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 2 atm.

e. Medium Sulfite Indole Motility (SIM)

Komposisi medium dalam 1000 ml aquadest adalah ekstrak daging 3,0 g, pepton 30,0 g, peptonized iron 0,2 g, natrium thiosulfat 0,025 g, agar 3,0 g. Bahan ditimbang sebanyak yang dibutuhkan kemudian dilarutkan dalam aquadest dan diatur pHnya pada 7,3. Medium dimasukkan dalam erlenmeyer dan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 2 atm.

f. Medium Tryptone Broth (TB)

Komposisi medium dalam 1000 ml aquadest adalah : tryptone 10 g. Bahan ditimbang sebanyak yang dibutuhkan kemudian dilarutkan dalam aquadest. Medium dimasukkan dalam erlenmeyer dan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 2 atm.

g. Medium Gula-gula: glukosa, sukrosa, laktosa, maltosa.

Komposisi medium dalam 1000 ml aquadest adalah : pepton 5,0 g, glukosa, sukrosa, laktosa, maltosa, peptosa, masing-masing 5 g. Bahan-bahan ditimbang sebanyak yang dibutuhkan kemudian dilarutkan dalam aquadest. Medium dimasukkan dalam erlenmeyer dan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 115°C selama 5 menit dengan tekanan 1,5 atm.

h. Medium Brain Heart Infusion Broth (BHIB)

Komposisi medium dalam 1000 ml aquadest adalah : infusi dari otak sapi 200 gr, infusi dari hati sapi 250 g, proteose peptone 10,0 g, dekstroza 2,0 g, NaCl 5.0 g, dinatrium sulfat 2,5 g, pH 7,4. Bahan ditimbang sebanyak yang dibutuhkan, kemudian dilarutkan dalam aquades. Medium dimasukkan dalam erlenmeyer dan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 2 atm.

i. Glukosa Nutrient Agar (GNA)

Komposisi medium dalam 1000 ml aquadest adalah : glukosa 10,0 g, ekstrak daging 5 g, pepton 10,0 g, NaCL 2,5 g, agar 15 g. Bahan yang ditimbang kemudian dilarutkan di dalam aquadest dan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 2 atm.

j. Medium Agar Darah (Blood Agar)

Komposisi medium dalam 1000 ml aquadest adalah : Lab. lamco powder 10,0 g, peptone 10,0 g, sodium chloride 5,0 g, agar 15,0 g. Bahan ditimbang sebanyak yang dibutuhkan, kemudian dilarutkan dalam aquades. Medium dimasukkan dalam erlenmeyer dan disterilkan dalam otoklaf pada suhu 121^o C selama 15 menit dengan tekanan 2 atm. Medium dibiarkan dingin hingga mencapai suhu 45-50^o C lalu ditambahkan darah domba steril bebas fibril 50-70 ml dan dicampur dengan baik.

III.3.3 Peremajaan isolat-isolat bakteri pembentuk plak supragingiva

Biakan murni masing-masing isolat bakteri diinokulasikan pada medium Brain Heart Infusion Broth (BHIB) dengan menggunakan ose bulat secara aseptis, lalu dinkubasi selama 24 jam pada suhu 37^o C.

III.3.4 Pengamatan secara makroskopik karakteristik morfologi isolat bakteri pembentuk plak supragingiva.

Setelah 24 jam, masing-masing sampel pada medium BHIB diinokulasikan di atas media NA cawan kemudian dinkubasi selama 2 x 24 jam pada suhu 37^o C. Setelah 2 x 24 jam dilakukan pengamatan morfologi koloni yang tumbuh pada media tersebut mengenai : warna koloni, bentuk, permukaan, tepi, dan konsistensi. Pengamatan dibantu dengan kaca pembesar. Koloni pada masing-masing cawan digoreskan pada medium NA miring untuk selanjutnya digunakan sebagai isolat bakteri uji dan dinkubasi selama 1 -2 x 24 jam pada suhu 37^o C.

III.3.5 Pengamatan secara mikroskopik karakteristik komposisi dinding sel isolat bakteri pembentuk plak supragingiva

a. Pengecatan Gram

Satu ose isolat uji yang berumur 24 jam dibuat preparat olesan dan difiksasi. Preparat ditetesi larutan gram A dan dibiarkan selama 1 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir. Selanjutnya ditetesi dengan larutan Gram B, dibiarkan selama 1 menit lalu dicuci dengan air mengalir dan dibiarkan mengering. Setelah itu preparat ditetesi dengan larutan gram C dan dibiarkan selama 30 detik. Kemudian dicuci dengan air mengalir dan dibiarkan mengering. Tahap akhir, preparat ditetesi dengan larutan gram D, dibiarkan selama 2 menit kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan dengan kertas isap. Selanjutnya diamati dibawah mikroskop. Warna ungu yang terbentuk pada preparat menunjukkan bakteri tersebut tergolong gram positif dan warna merah menunjukkan bakteri tersebut tergolong gram negatif.

b. Pengecatan Spora

Sebanyak satu ose isolat berumur 24 jam dibuat preparat olesan dan difiksasi. Selanjutnya olesan tipis tersebut ditetesi cat malachite green yang berlebih. Masuknya pewarna kedalam endospora dapat dibantu dengan cara memanaskannya langsung dengan api dari bunsen sampai mengeluarkan uap. Pemanasan diatur jangan sampai mendidih, selama pemanasan dapat ditambahkan zat pewarna untuk menghindari kekeringan, setelah itu malachite green panas dibiarkan tergenang diatasnya selama 10 menit. Cat yang berlebihan kemudian dicuci dengan menggunakan air mengalir, selama 30 detik. Bubuhkan larutan cat fuchsin alkalis dan biarkan selama 1 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikering anginkan, lalu diamati dengan mikroskop

pembesaran kuat dengan minyak imersi, spora yang terlepas tampak berwarna hijau, spora yang masih terdapat di dalam sel tampak transparan, sedangkan sel vegetatif berwarna merah.

c. Pengacatan kapsul

Sebanyak satu ose biakan bakteri berumur 24 jam dicampurkan dengan tinta cina, setelah itu dibuat olesan tipis dengan bantuan objek gelas yang lain, setelah itu olesan tipis tersebut dilewatkan beberapa kali pada api bunsen hingga olesan tampak kering, kemudian olesan tipis tersebut ditetesi beberapa tetes fuchsin alkalis selama 3 menit, setelah itu dicuci dengan air mengalir dan dikering anginkan, setelah kering diamati di bawah mikroskop dengan bantuan minyak imersi, kapsul akan tampak bening sedangkan sel akan tampak berwarna merah, dan datar sampel berwarna hitam.

III.3.6 Uji Karakteristik fisiologi isolat bakteri pembentuk plak supragingiva

III.3.6.1 Uji IMVIC

a. Uji Indol

Satu ose isolat bakteri diinokulasikan kedalam beberapa tabung berisi medium SIM agar tegak dan diinkubasi pada suhu 37° C selama 18-24 jam, kedalam tabung masing-masing ditambahkan 0,2 – 0,3 ml pereaksi indol (Kovacsi) dan dikocok kemudian didiamkan selama 10 menit. Adanya warna merah menandakan adanya reaksi positif, adanya warna jingga menandakan adanya reaksi negatif.

b. Uji Methyl Red

Satu ose isolat bakteri diinokulasikan ke dalam medium MR-VP dan diinkubasi selama 18-24 jam, ke dalam tabung masing-masing ditambahkan 5 tetes larutan methyl

red dan dikocok. Warna merah menunjukkan adanya reaksi positif, sedangkan warna kuning menandakan adanya reaksi negatif.

c. Uji Voges Proskouser

Satu ose isolat bakteri diinokulasikan kedalam medium MR-VP dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam kemudian ditambahkan 0,6 ml larutan alfa naftol dan 0,2 ml larutan KOH 40 % kemudian didiamkan selama 2-4 jam. Adanya warna merah menunjukkan reaksi positif sedangkan warna hijau menunjukkan adanya reaksi negatif.

d. Uji Sitrat

Satu ose isolat bakteri diinokulasikan kedalam medium Simmon Citrat Agar dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Warna biru menunjukkan adanya reaksi positif, sedangkan warna hijau menunjukkan reaksi negatif.

e. Uji Urea

Satu ose isolat bakteri diinokulasikan kedalam medium urea agar dan diinkubasikan selama 18-24 jam. Adanya warna merah muda menunjukkan reaksi positif dan tidak adanya perubahan warna menunjukan reaksi negatif.

III.3.6.2 Uji TSIA (Triple Sugar Iron Agar)

Satu ose isolat bakteri dinokulasikan ke dalam medium TSIA pada permukaan miring, kemudian ditusuk pada bagian dalam lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Adanya warna merah menunjukkan adanya reaksi alkali positif, sedangkan reaksi acid positif ditunjukkan dengan adanya warna kuning, terbentuknya H_2S ditandai dengan adanya warna hitam pada bekas tusukan, terbentuknya gas ditandai dengan terangkatnya medium kebagian atas tabung.

III.3.6.3 Uji Fermentasi Karbohidrat

Masing-masing satu ose isolat bakteri diinokulasikan ke dalam medium pepton broth dengan penambahan masing-masing glukosa, sukrosa, laktosa dan maltosa. Kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰ C selama 18-24 jam. Adanya warna kuning menunjukkan adanya fermentasi karbohidrat atau pembentukan asam oleh bakteri. Deteksi pembentukan gas dapat diamati pada tabung durham pada medium pepton broth yang telah ditambahkan glukosa .

III.3.6.4 Uji Oksidasi

Masing-masing satu ose isolat bakteri diratakan pada kertas sitokrom (kertas yang telah dijenuhkan dengan N,N-dimetil-P-Fenilendi-Amina Dihidroklorida) adanya warna merah sampai ungu pada bekas totolan bakteri menunjukkan adanya reaksi positif.

III.3.6.5 Uji Katalase

Masing-masing satu ose isolat bakteri dicampur dengan setetes larutan H₂O₂ sebanyak 3% pada objek gelas, gelembung gas menunjukkan adanya reaksi positif.

III.3.6.6 Uji Motilitas

Masing-masing satu isolat bakteri ditusukkan tegak lurus pada media sulfit Indol Motility (SIM) hingga dasar tabung dan diinkubasi pada suhu 37⁰ C selama 18-24 jam. Bila terdapat pertumbuhan menyebar disekitar daerah tusukan atau terjadi kekeruhan pada medium berarti motilitas positif.

III.3.6.7 Uji Produksi H₂S

Masing-masing isolat bakteri diinokulasi pada media TSIA setengah tegak secara tusukan dan goresan, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam. Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya warna hitam pada media.

III.3.7 Uji Haemolisis Darah

Masing-masing satu isolat bakteri diinokulasikan ke dalam medium agar darah, setelah itu diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37° C, setelah 2x 24 jam diamati ada tidaknya hemolisis, adanya areal bening di sekitar pertumbuhan bakteri menunjukkan adanya hemolisis sempurna atau disebut juga hemolisis beta (β), apabila terbentuk warna hijau di sekitar pertumbuhan bakteri menunjukkan adanya hemolisis sebagian disebut juga hemolisis alfa (α), apabila tidak terjadi perubahan didaerah sekitar pertumbuhan bakteri, maka hal ini menunjukkan hemolisis tidak terjadi yang disebut juga sebagai hemolisis gamma (γ).

III.3.8 Uji Sensitivitas

a. Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri hasil peremajaan disuspensikan dengan 2 ml NaCl 0,9% steril, kemudian dihomogenkan dengan menggunakan ose bulat dan dibandingkan kekeruhannya dengan standar Mc Farland 0,5, sehingga jumlah bakteri sama dengan 5×10^7 /ml.

b. Penyebaran Suspensi Bakteri dan Penggunaan Disk Antibiotik Dengan Metode Difusi

Menurut Kirby Bouer

Suspensi bakteri yang telah dibuat disebar di atas permukaan medium Glukosa Nutrien Agar (GNA) dengan menggunakan ose steril secara merata. Selanjutnya diletakkan masing-masing disk antibiotik (Doxycycline Hydrochloride, Eritromycin,

Ampicillin, Tetracycline, Penicillin, Streptomycin) ke dalam cawan petri yang telah diolesi suspensi bakteri dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah 24 jam, daya hambat antibiotik diamati dengan melihat zona bening di sekitar antibiotik dan diameter hambatan yang terbentuk diukur dengan menggunakan caliper.

III.3.9. Uji Adhesivitas

Saliva disentrifuge pada kecepatan 10.000 rpm selama 20 menit untuk memisahkan sel dengan supernatannya. Selanjutnya supernatan diambil sebanyak 0,5 ml kemudian dicampur dengan 0,5 ml suspensi bakteri. Sebagai kontrol digunakan suspensi bakteri tanpa saliva.

Nilai kekeruhan sampel diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 640 nm. Setiap sampel diukur nilai densitas optiknya (OD) sebanyak 6 kali pada interval waktu 30 menit. Adapun nilai adhesivitas dihitung dengan rumus : Nilai DO akhir – Nilai DO awal x 100%.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Pengamatan Morfologi Secara Makroskopik dan Mikroskopik Isolat Bakteri

IV.1.1. Pengamatan Morfologi Secara Makroskopik Isolat Bakteri

Pada pengerjaan isolasi bakteri dari plak gigi supragingiva pada orang dewasa yang diambil dari 10 sampel diperoleh 22 isolat. Ciri-ciri morfologi secara makroskopik pada medium nutrisi agar cawan dan medium nutrisi agar miring dapat dilihat pada tabel 1 dan tabel 2:

IV.1.1.1 Pengamatan Makroskopis pada NA Cawan

Hasil pengamatan morfologi koloni secara makroskopik dapat dilihat pada tabel 1 dimana diperoleh hasil pada umumnya isolat yang diperoleh dari sampel gingiva sehat berbentuk *circular*, kecuali pada isolat B₂ dan C₂ yang berbentuk *irregular*. Sedangkan pada sampel gingivitis semua isolat berbentuk *circular* kecuali sampel F₂, G₁, I₁ dan J₁ yang berbentuk *irregular*. Ada dua bentuk tepi koloni pada semua isolat, yaitu *entire* dan *undulate*. Bentuk *undulate* terdapat pada sampel B₂, C₂, F₂, F₃, G₁, I₁ dan J₁, sedangkan isolat yang lain tepi koloninya berbentuk *entire* (rata). Untuk elevasi koloni pada semua isolat ada tiga bentuk yaitu *Flat* pada isolat B₂, D₁, D₂, F₁, G₂ dan H₁, *Umbonate* pada isolat F₂, I₁ dan J₁ dan bentuk *Conveks* pada isolat yang lainnya. Warna koloni pada umumnya berwarna putih susu, kecuali pada isolat A₁, dan E₁, yang berwarna kuning dan isolat C₃, D₁, F₂, F₃ dan G₁ yang tidak berwarna (bening).

Tabel 1. Hasil Pengamatan Karakteristik Morfologi Isolat Bakteri pada Medium NA Cawan

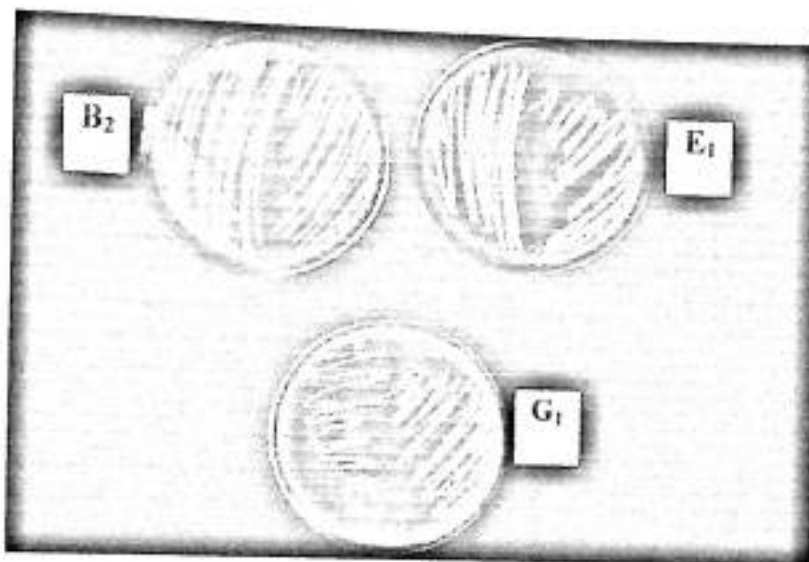
Sampel	Isolat	Ciri Pertumbuhan			
		NA Cawan			
		Bentuk Koloni	Tepi Koloni	Warna Koloni	Elevasi
Gs1	A ₁	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Putih Susu	<i>Conveks</i>
Gs1	A ₂	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	kuning	<i>Conveks</i>
Gs2	B ₁	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Putih susu	<i>Conveks</i>
Gs2	B ₂	<i>Irregular</i>	<i>Undulate</i>	Putih susu	<i>Flat</i>
Gs 3	C ₁	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Putih susu	<i>Conveks</i>
Gs 3	C ₂	<i>Irregular</i>	<i>Undulate</i>	Putih susu	<i>Conveks</i>
Gs 3	C ₃	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Bening	<i>Conveks</i>
Gs 4	D ₁	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Bening	<i>Flat</i>
Gs 4	D ₂	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Putih susu	<i>Flat</i>
Gs 5	E ₁	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Kuning	<i>Conveks</i>
Gs 5	E ₂	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Putih susu	<i>Conveks</i>
Gvt 1	F ₁	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Putih susu	<i>Flat</i>
Gvt1	F ₂	<i>Irregular</i>	<i>Undulate</i>	Bening	<i>Umbonate</i>
Gvt1	F ₃	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Bening	<i>Conveks</i>
Gvt2	G ₁	<i>Irregular</i>	<i>Undulate</i>	Bening	<i>Flat</i>
Gvt 2	G ₂	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Putih susu	<i>Conveks</i>
Gvt 3	H ₁	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Bening	<i>Flat</i>
Gvt 3	H ₂	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Putih susu	<i>Conveks</i>
Gvt 4	I ₁	<i>Irregular</i>	<i>Undulate</i>	Putih susu	<i>Umbonate</i>
Gvt 4	I ₂	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Bening	<i>Conveks</i>
Gvt 5	J ₁	<i>Irregular</i>	<i>Undulate</i>	Putih susu	<i>Umbonate</i>
Gvt 5	J ₂	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Putih susu	<i>Conveks</i>

Keterangan :

Circular : bulat
Irregular : tidak beraturan
Entire : rata
Undulate : bergelombang
Filiform : pertumbuhan mengikuti bekas goresan
Conveks : Cembung
Flat : Rata
Umbonate : Pertumbuhan tebal dengan tonjolan tumpul
Gs1 : Gingiva sehat 1
Gs2 : Gingiva sehat 2
Gs 3 : Gingiva sehat 3

Gs 4 : Gingiva sehat 4
Gs 5 : Gingiva sehat 5
Gvt1 : Gingivitis 1
Gvt 2 : Gingivitis 2
Gvt 3 : Gingivitis 3
Gvt 4 : Gingivitis 4
Gvt 5 : Gingivitis 5

Gambar hasil pengamatan karakteristik morfologi isolat bakteri pada medium NA cawan dapat dilihat pada gambar 8:



Gambar 8. Pengamatan morfologi secara makroskopik isolat bakteri pada medium NA cawan

Keterangan :

- B₂ : Isolat 2 dari sampel Gs 2
- E₁ : Isolat 1 dari sampel Gst 5
- G₁ : Isolat 1 dari sampel Gvt 2

IV.1.1.2 Pengamatan Makroskopis pada NA Miring

Pengamatan morfologi secara makroskopik pada medium nutrisi agar miring memperlihatkan bentuk pertumbuhan yang berbeda-beda. Pada tabel 2 dapat dilihat bentuk pertumbuhan yang paling banyak pada isolat adalah bentuk *Effuse* yaitu pada isolat A₁, B₂, C₁, D₁, E₁, F₃, H₁, J₁ dan J₂. Sedangkan bentuk pertumbuhan yang paling sedikit adalah bentuk *Rhizoid* pada isolat F₁ dan G₁. Adapun isolat yang lain memiliki bentuk pertumbuhan *Echinulate* pada isolat A₁, H₂ dan I₂, *Beaded* pada isolat B₁, D₂, F₂, dan C₃, dan bentuk *Arborecent* pada isolat C₂, E₂, G₂ dan I₁. Konsistensi semua isolat sama yaitu lendir. Sedangkan topografinya berbeda-beda, yaitu licin pada isolat A₁, tak teratur pada isolat A₂, B₁, B₂, C₁, C₂, D₁, E₁, F₂, F₃, G₁, H₂, J₁ dan J₂, bergelombang pada

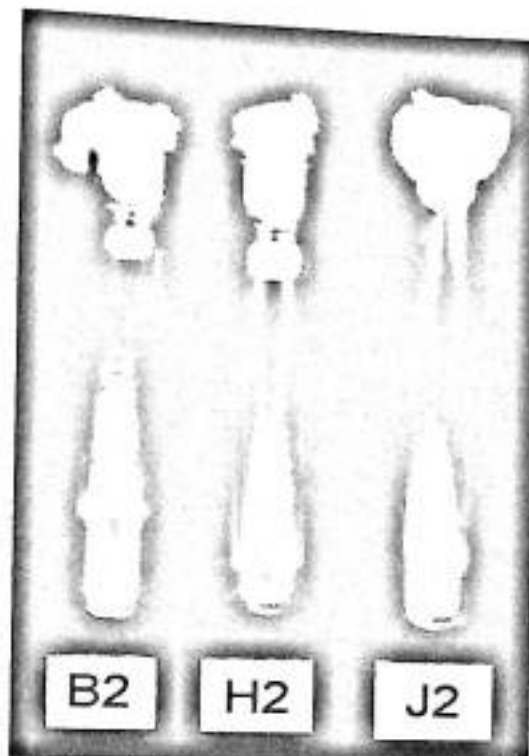
isolat C₃, E₂, F₁, G₂, H₁, I₁ dan I₂ dan *Verrucose* pada isolate D₂. Adanya perbedaan bentuk pertumbuhan pada masing-masing isolat baik pada NA cawan maupun pada NA miring menunjukkan bahwa isolat tersebut kemungkinan merupakan jenis bakteri yang berbeda-beda, dimana ciri-ciri masing-masing koloni bakteri merupakan salah satu cara yang digunakan untuk mengidentifikasi bakteri (Pelzar & Chan, 1986).

Tabel 2. Hasil Pengamatan Karakteristik Morfologi Isolat Bakteri pada Medium NA Miring

Isolat	Bentuk Pertumbuhan	Topografi	Konsistensi
A ₁	<i>Echinulate</i>	Licin	Lendir
A ₂	<i>Effuse</i>	Tidak teratur	Lendir
B ₁	<i>Beaded</i>	Tidak teratur	Lendir
B ₂	<i>Effuse</i>	Tidak teratur	Lendir
C ₁	<i>Effuse</i>	Tidak teratur	Lendir
C ₂	<i>Arborecent</i>	Tidak teratur	Lendir
C ₃	<i>Beaded</i>	Bergelombang	Lendir
D ₁	<i>Effuse</i>	Tidak teratur	Lendir
D ₂	<i>Beaded</i>	<i>Verrucose</i>	Lendir
E ₁	<i>Effuse</i>	Tidak teratur	Lendir
E ₂	<i>Arborecent</i>	Bergelombang	Lendir
F ₁	<i>Rhizoid</i>	Bergelombang	Lendir
F ₂	<i>Beaded</i>	Tidak teratur	Lendir
F ₃	<i>Effuse</i>	Tidak teratur	Lendir
G ₁	<i>Rhizoid</i>	Tidak teratur	Lendir
G ₂	<i>Arborecent</i>	Bergelombang	Lendir
H ₁	<i>Effuse</i>	Bergelombang	Lendir
H ₂	<i>Echinulate</i>	Tidak teratur	Lendir
I ₁	<i>Arborecent</i>	Bergelombang	Lendir
I ₂	<i>Echinulate</i>	Bergelombang	Lendir
J ₁	<i>Effuse</i>	Tidak teratur	Lendir
J ₂	<i>Effuse</i>	Tidak teratur	Lendir

Keterangan :

- Echinulate* : Pertumbuhan sepanjang bekas inokulasi bergerigi atay berbintik-bintik
- Effuse* : Pertumbuhan tipis, biasanya merata
- Beaded* : Seperti rangkaian mutiara (butir-butir sepanjang bekas inokulasi)
- Arborecent* : Menyerupai pohon yang bercabang-cabang
- Verrucose* : Permukaan tertutup bintik-bintik



Gambar 9. Pengamatan morfologi secara makroskopik isolat bakteri pada medium NA miring

Keterangan gambar 2:

- B2 : Isolat 2 dari sampel Gs 2
- H2: Isolat 2 dari sampel Gvt 3
- J2 : Isolat 2 dari sampel Gvt 5

IV.1.2. Pengamatan Struktur Dinding Sel Isolat Bakteri Secara Mikroskopik

Pengamatan struktur dinding sel isolat bakteri yang kami lakukan terdiri atas tiga jenis pewarnaan, yaitu pewarnaan gram, pewarnaan spora dan pewarnaan kapsul. Tujuan dari pewarnaan sel bakteri adalah agar bakteri lebih mudah dilihat dan dipelajari (Volk & Wheeler, 1988). Hasil pengamatan struktur dinding sel isolat bakteri dapat dilihat pada tabel 3:

Tabel 3. Hasil Pengamatan Tipe Dinding Sel Isolat Bakteri secara Mikroskopik melalui Pengecatan Gram, Kapsul dan Spora

Isolat	Bentuk	Warna	Gram	Kapsul	Spora /Letak Spora
A ₁	Basil	Ungu	Positif	Berkapsul	Ada/Sentral
A ₂	Kokus bergerombol	Ungu	Positif	Berkapsul	Tidak ada
B ₁	Basil	Merah	Negatif	Berkapsul	Ada/Di luar sel
B ₂	Batang berantai	Ungu	Positif	Berkapsul	Ada/Sentral
C ₁	Kokus berantai	Ungu	Positif	Berkapsul	Tidak ada
C ₂	Basil	Ungu	Positif	Berkapsul	Ada/Sentral
C ₃	Kokus	Ungu	Positif	Berkapsul	Tidak ada
D ₁	Kokobasil	Merah	Negatif	Berkapsul	Tidak ada
D ₂	Kokus bergerombol	Ungu	Positif	Berkapsul	Tidak ada
E ₁	Kokus bergerombol	Ungu	Positif	Berkapsul	Tidak ada
E ₂	Kokus bergerombol	Ungu	Positif	Berkapsul	Tidak ada
F ₁	Kokus	Merah	Negatif	Berkapsul	Tidak ada
F ₂	Kokus	Ungu	Positif	Berkapsul	Tidak ada
F ₃	Basil	Merah	Negatif	Berkapsul	Ada/Subterminal
G ₁	Kokobasil	Merah	Negatif	Berkapsul	Tidak ada
G ₂	Kokobasil	Merah	Negatif	Berkapsul	Tidak ada
H ₁	Kokobasil	Merah	Negatif	Berkapsul	Tidak ada
H ₂	Kokobasil	Merah	Negatif	Berkapsul	Tidak ada
I ₁	Kokobasil	Ungu	Positif	Berkapsul	Tidak ada
I ₂	Basil	Merah	Negatif	Berkapsul	Tidak ada
J ₁	Kokobasil	Merah	Negatif	Berkapsul	Tidak ada
J ₂	Kokobasil	Merah	Negatif	Berkapsul	Tidak ada

Keterangan :

Sentral : Spora dibentuk di tengah-tengah sel

Subterminal : Spora dibentuk di ujung sel

IV.1.2.1 Pengecatan Gram

Pewarnaan gram merupakan salah satu teknik pewarnaan diferensial yang paling penting dan paling luas digunakan. Pengecatan ini bertujuan untuk membagi bakteri menjadi dua macam yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif (Volk & Wheeler, 1988). Mekanisme pewarnaan didasarkan pada struktur dan komposisi dinding sel bakteri. Bakteri gram negatif mengandung lipid, lemak atau substansi seperti lemak

dalam persentase lebih tinggi (11-22 %) daripada yang dikandung oleh bakteri gram positif (1-4 %). Dinding sel bakteri gram negatif juga lebih tipis daripada dinding sel bakteri gram positif. Bukti-bukti percobaan menyarankan bahwa selama prosedur pewarnaan perlakuan terhadap etanol (alkohol) terhadap bakteri gram negatif menyebabkan terekstrasinya lipid, sehingga memperbesar daya rembes atau permeabilitas dinding sel gram negatif. Jadi kompleks ungu kristal-yodium (UK-Y), yang telah memasuki dinding sel selama langkah awal dalam proses pewarnaan, dapat diekstraksi. Oleh karena itu bakteri gram negatif kehilangan warna tersebut, kemudian dinding sel bakteri akan menyerap warna dari cat lawan yaitu fuchsin alkalis sehingga dinding sel bakteri gram negatif akan berwarna merah. Bakteri gram positif memiliki kandungan lipid yang lebih rendah, dinding sel bakteri gram positif menjadi terdehidrasi selama perlakuan dengan etanol. Ukuran pori-pori mengecil, permeabilitasnya berkurang, dan kompleks UK-Y tidak dapat terekstraksi karena terperangkap didalam sel. Sehingga dinding sel bakteri gram positif tidak terwarnai oleh cat lawan (Fuchsi alkalis), dan mempertahankan warna dari kompleks UK-Y, yaitu ungu kebiruan (Pelzar & Chan, 1986).

Pada tabel 3 dapat dilihat pada isolat gingiva sehat terdapat sembilan isolat yang merupakan bakteri gram positif yaitu A₁, A₂, B₂, C₁, C₂, C₃, D₂, E₁, dan E₂, dan dua isolat merupakan bakteri gram negatif, yaitu isolat B₁ dan D₁. Sedangkan pada pada isolat yang berasal dari gingivitis terdapat dua isolat yang merupakan bakteri gram positif yaitu isolat F₂ dan I₁, dan sembilan isolat merupakan bakteri gram negatif yaitu isolat F₁, F₃, G₁, G₂, H₁, H₂, I₂, J₁ dan J₂. Dari data yang diperoleh dapat diketahui bahwa isolat yang berasal dari gingiva sehat didominasi oleh bakteri kokus gram positif dan

terdiri atas sebgayaan kecil bakteri bacil gram negatif. Sedangkan isolat bakteri yang berasal dari gingivitis didominasi oleh bakteri gram negatif yang berbentuk kokobasil. Hal ini sesuai dengan pernyataan Huis, dkk (1993) bahwa individu dengan gingiva yang sehat mempunyai plak tipis yang terutama terdiri dari bakteri kokus gram positif terutama *Streptococcus*. Sedangkan pada penderita gingivitis memiliki plak yang didominasi oleh bakteri gram negatif.

IV.1.2.2 Pengecatan Kapsul

Kapsul merupakan suatu lapisan kental yang mengelilingi suatu sel bakteri . komposisi kapsul pada setiap kapsul bakteri berbeda-beda, ada yang terdiri atas polimer glukosa, polimer gula amino (asam hidronat), polipeptida (polimer asam diglutamat) atau kompleks polisakarida protein. Kapsul memiliki fungsi sebagai penutup lindung, cadangan makanan, membantu daya lekat (adherens) bakteri misalnya pada plak gigi, dan juga untuk meningkatkan kemampuan bakteri untuk menginfeksi (Pelzar & Chan, 1986; Hadioetomo, 1990; Singleton, 1992).

Pada tabel 3 dapat dilihat semua isolat bakteri memiliki kapsul. Hal ini sesuai dengan pernyataan Lindhe (1995), bahwa bakteri dapat melekat pada permukaan gigi melalui cara: Pertama-tama kapsul bakteri terlebih dahulu melakukan perlekatan dengan pelikel setelah itu bersama dengan pelikel bakteri melakukan perlekatan pada permukaan gigi.

IV.1.2.3 Pengecatan Spora

Spesies-spesies tertentu bakteri dapat menghasilkan spora baik itu di dalam sel vegetatif (endospora) ataupun di luar sel (eksospora). Spora merupakan tubuh yang secara metabolik bersifat dorman, yang dihasilkan pada fase lanjut pada pertumbuhan

sel, dan pada kondisi-kondisi yang tidak sesuai. Spora bersifat tahan terhadap gangguan fisik misalnya panas dan juga gangguan kimiawi misalnya desinfektan. Spora di dalam sel bakteri dapat terletak secara sentral, terminal dan subterminal (Pelzar & Chan, 1986).

Pada tabel 3 dapat dilihat hasil dari pewarnaan spora dimana hanya ada lima isolat yang mampu menghasilkan spora yaitu isolat A₁ (Sentral), B₁ (diluar sel vegetatif), B₂ (Sentral), C₂ (Sentral), F₃ (Subterminal), yang semuanya berbentuk basil atau batang.

IV.2. Pengamatan Uji Fisiologis Isolat Bakteri

Uji fisiologis isolat bakteri pembentuk plak gigi supra gingiva pada orang dewasa meliputi uji IMVIC (Indol-Methyl Ke-Voges-Proskaver-Citrate), uji TSIA, uji motilitas, uji urease, uji katalase, uji oksidase, uji fermentasi karbohidrat, uji sensitivitas, uji hemolisis darah dan uji adhesivitas. Hasil dari keseluruhan uji tersebut dapat dilihat pada tabel 4:

Tabel 4. Hasil Pengamatan Karakteristik Fisiologis Isolat Bakteri

Isolat	Uji Fisiologis															
	TSI				IMVIC				Fermentasi Karbohidrat					Katalase	Oksidase	
	Slant	Butt	Gas	H ₂ S	I	M R	V P	C	U	G	Gas	L	S			M
A ₁	Al	As	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+
A ₂	As	As	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
B ₁	Al	As	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
B ₂	Al	As	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+
C ₁	Al	As	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
C ₂	Al	As	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+
C ₃	As	As	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-
D ₁	As	As	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D ₂	Al	As	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-
E ₁	Al	As	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-
E ₂	As	As	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-
F ₁	Al	As	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-
F ₂	Al	As	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-
F ₃	Al	As	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
G ₁	As	As	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
G ₂	As	As	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H ₁	As	As	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-
H ₂	As	As	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-
I ₁	Al	As	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-
I ₂	Al	Al	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
J ₁	As	As	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
J ₂	As	As	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-

Keterangan:

AA : Alkali-Acid

As : Asid/Asam

Al : Alkali/Basa

U : Urea

C : Citrat

G : Glukosa

L : Laktosa

S : Sukrosa

M : Maltosa

Slant : Daerah kemiringan medium

Butt : Medium bagian bawah

I : Indol

MR : Methyl Red

VP : Voges Proskauer

IV.2.1 Uji TSIA

Medium TSIA mengandung tiga macam gula (glukosa, laktosa dan sukrosa), indikator merah fenol, dan FeSO_4 yang dapat memperlihatkan pembentukan H_2S yang ditunjukkan dengan adanya endapan hitam (Bibiana, 1994). Bila hanya glukosa yang difermentasikan maka konsentrasi glukosa dalam medium akan berkurang, sehingga akan dihasilkan asam. Sedangkan pepton dalam medium TSIA akan dimetabolisme yang menyebabkan kondisi alkali pada kemiringan medium. Kemampuan bakteri dalam menghasilkan gas ditunjukkan dengan terpotong atau terangkatnya medium ke atas. Sedangkan kemampuan bakteri dalam menghasilkan gas H_2S ditunjukkan dengan adanya warna hitam pada bagian bawah medium, hal ini disebabkan oleh terjadinya penguraian asam amino sistein yang mengandung sulfur sebagai penyusun pepton (Cappucino, 1992).

Pada tabel 4 dapat dilihat semua isolat bakteri mampu menghasilkan asam, hal ini dibuktikan dengan perubahan warna medium dari merah menjadi kuning, kecuali isolat I₂ yang bersifat alkali (basa). Pada uji produksi H_2S dan gas didapatkan hasil tidak ada isolat bakteri yang mampu menghasilkan H_2S dan gas, hal ini terlihat dari tidak ada medium yang bagian bawahnya berwarna hitam dan juga tidak ada medium yang terangkat atau terpotong.

IV.2.2 Uji IMVIC

Uji IMVIC terdiri atas lima uji, yaitu:

a. Uji Indol

Uji indol dilakukan untuk melihat kemampuan bakteri tertentu dalam menghidrolisis asam amino triptofan menjadi indol dan asam piruvat melalui kerja

Adanya indol dapat diketahui dengan menggunakan reagen kovac ,
akan dengan terbentuknya lapisan berwarna merah di atas biakan
(H₁).

4 dapat dilihat hanya empat isolat yang menunjukkan reaksi positif
H₁ dan H₂ sedangkan isolat yang lainnya menunjukkan reaksi negatif.

Methyl-Red)

Merupakan uji yang digunakan untuk menentukan adanya fermentasi
oleh bakteri. Sejumlah besar bakteri gram negative dapat dikenali
dukasi akhir yang dihasilkannya bila memfermentasi (meragi) glukosa
MR-VP. Produk yang dihasilkan biasanya berupa asam laktat, asam
sinat dan asam format disamping CO₂, H₂ dan etanol. Akumulasi dari
dapat menurunkan pH sampai 5,0 atau kurang. Bila indikator merah
(Red) ditambahkan pada biakan tersebut dengan pH serendah itu, maka
jadi merah. Hal ini menandakan organisme yang bersangkutan adalah
campuran (Hadioetomo, 1990).

tabel 4 dapat dilihat dari 22 isolat hanya lima isolat yang menunjukkan
atau mampu memfermentasi (meragi) asam campuran yang semuanya
bakteri gram negatif yaitu isolat G₁, G₂, H₁, H₂ dan J₂.

VP (Voges-Proskauer)

Uji ini merupakan metode tak langsung untuk menguji ada tidaknya 2,3-
Sesungguhnya tida ada uji yang dapat secara langsung dapat mendeteksi
butanadiol di dalam biakan. Namun reagen Barritt dapat mendeteksi dengan
satunya asetoin (asetil-meti-karbinol), yaitu preskursor 2,3-butanadiol. Reagen ini

terdiri dari α -naftol dan KOH. Bila reagen ini ditambahkan pada biakan MR-VP berumur 18-24 jam dan setelah dibiarkan beberapa waktu lamanya terlihat perubahan warna medium menjadi warna merah muda atau merah. Maka artinya dalam biakan tersebut terdapat asetoin, karena asetoin dan 2,3-butanadiol hampir selalu terdapat bersamaan (Hadioetomo, 1990).

Pada tabel 4 dapat dilihat hasil dari uji VP, dimana terdapat 5 isolat yang menunjukkan hasil positif yaitu isolate A₂, B₂, C₃, E₁, dan I₁. Kelima isolat ini tidak memiliki hasil positif terhadap uji MR, hal ini membuktikan pernyataan Hadioetomo (1990) bahwa bila pengujian methyl-red menunjukkan hasil negatif, maka mungkin sekali organisme yang diuji tidak menghasilkan asam, melainkan 2,3-butanadiol.

d. Uji Sitrat

Uji ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri tertentu dalam menggunakan sitrat sebagai sumber karbon satu-satunya. Medium yang digunakan adalah medium SCA (Simmon Citrat Agar). Medium ini merupakan medium sintetik yang mengandung sitrat sebagai sumber karbon satu-satunya, sedangkan sebagai sumber nitrogennya digunakan garam amonium dan bukan asam amino. Medium ini juga mengandung indikator biru bromtimol yang dapat berubah warna dari hijau menjadi biru bila keadaan medium menjadi alkali (Hadioetomo, 1990).

Pada tabel 4 dapat dilihat hasil dari uji sitrat dimana ada 11 isolat yang menunjukkan hasil positif yaitu isolate A₂, D₁, D₂, E₂, G₁, G₂, H₁, H₂, I₁, J₁, J₂ yang ditunjukkan dengan perubahan warna medium masing-masing isolate dari hijau menjadi biru. Hal ini berarti kesebelas isolate tersebut mampu menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon. Hal ini membuktikan pernyataan Huis, dkk (1993) bahwa plak

supragingiva didominasi oleh bakteri yang menggunakan karbohidrat sebagai sumber energinya terutama karbohidrat dalam bentuk monosakarida dan disakarida misalnya glukosa, lakosa, maltosa, sukrosa dan fruktosa.

e. Uji Urea

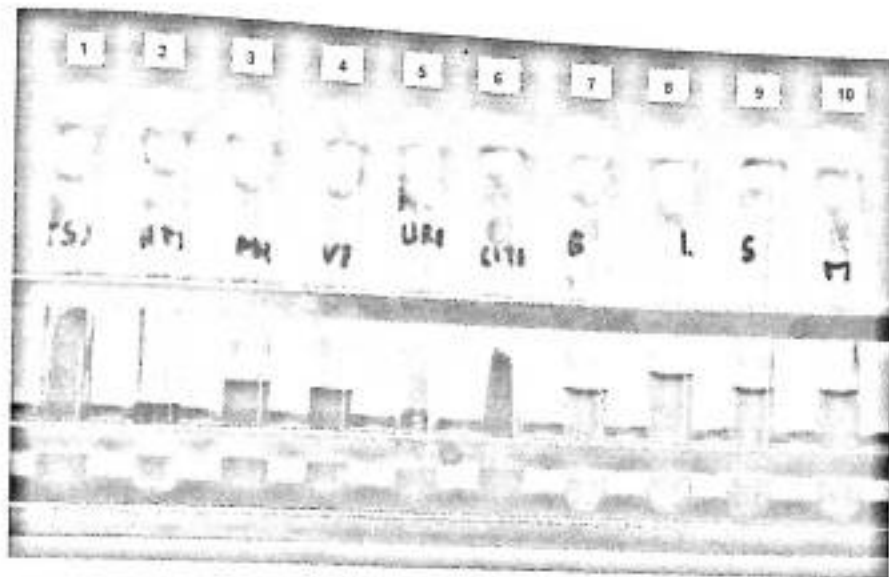
Uji ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri tertentu dalam menghidrolisis urea dengan cara menghasilkan enzim urease yang dapat melepaskan amoniak dari enzim urea. Medium urea terdiri atas ekstrak khamir dan urea yang diberi larutan penyangga (buffer). Medium tersebut juga mengandung merah fenol sebagai indikator pH. Bila organisme yang diuji mampu menghasilkan enzim urease, maka amoniak yang dihasilkan didalam medium akan menaikkan pH. Bila pH menjadi makin tinggi maka merah fenol akan berubah warna dari kuning (pH 6,8) menjadi merah keunguan (pH 8,1 atau lebih).

Pada tabel 4 dapat dilihat ada 11 isolat yang mampu menghidrolisis urea, yaitu isolate A₂, D₁, D₂, E₂, G₁, G₂, H₁, H₂, I₁, J₁, J₂, sedangkan 11 isolat yang lain memiliki hasil uji negatif.

IV.2.3 Uji Fermentasi Karbohidrat (Glukosa, Laktosa, Sukrosa, Maltosa)

Pada uji fermentasi yang kami lakukan digunakan empat jenis karbohidrat yakni glukosa, laktosa, sukrosadan maltosa. Medium karbohidrat digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memfermentasi karbohidrat dan menghasilkan asam. Khusus pada medium glukosa dapat juga diketahui apakah bakteri yang diuji mampu menghasilkan gas atau tidak. Pembentukan asam dapat diketahui oleh adanya perubahan warna medium dari merah menjadi kuning, sedangkan pembentukan gas dapat diketahui apabila pada tabung durham terdapat gelembung gas (Bibiana, 1994).

Pada tabel 4 dapat dilihat hasil dari uji ini, dimana pada medium glukosa ada 16 isolat yang menunjukkan hasil positif yaitu isolat A₁, A₂, C₂, C₃, D₁, E₁, F₁, F₂, G₁, G₂, H₁, H₂, I₁, I₂, J₁, J₂. Isolat bakteri yang mampu membentuk gas ada 10 isolat yaitu isolate A₂, C₂, D₁, G₁, G₂, H₁, H₂, I₁, J₁, J₂. Pada uji fermentasi maltosa ada 15 isolat bakteri yang menunjukkan hasil positif, yaitu isolat A₁, B₂, C₁, D₁, E₁, E₂, F₁, F₂, F₃, G₁, G₂, H₁, H₂, J₁, J₂. Pada uji fermentasi sukrosa ada 11 isolat bakteri yang menunjukkan hasil positif, yaitu isolat A₁, A₂, D₁, F₁, F₂, G₁, G₂, H₁, H₂, J₁, J₂. Sedangkan pada uji fermentasi laktosa hanya 4 isolat bakteri yang menunjukkan hasil positif yaitu isolat D₁, G₁, J₁, J₂. Dari data diatas dapat diketahui bahwa hampir semua isolat bakteri mampu memfermentasi semua atau salah satu dari jenis karbohidrat yang digunakan, kecuali sampel B₁ yang tidak mampu memfermentasi semua jenis karbohidrat yang digunakan. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri pembentuk plak mampu mefermentasikan beberapa jenis karbohidrat yaitu glukosa, maltosa, sukrosa dan laktosa, hal ini sesuai dengan pernyataan Huis, dkk (1993), bahwa bakteri plak supragingiva menggunakan karbohidrat sebagai sumber energi terpenting, terutama jenis karbohidrat yang mudah larut yaitu kelompok monosakarida dan disakarida (glukosa, maltosa, laktosa dan sukrosa). Adapun hasil foto uji fisiologis dapat dilihat pada gambar 3:



Gambar 10: Pengamatan uji fisiologis bakteri

Keterangan:

- 1 : Uji TSIA
- 2 : Uji SIM
- 3 : Uji MR
- 4 : Uji VP
- 5 : Uji Urea
- 6 : Uji Sitrat
- 7 : Uji Fermentasi karbohidrat (Glukosa)
- 8 : Uji Fermentasi karbohidrat (Laktosa)
- 9 : Uji Fermentasi karbohidrat (Sukrosa)
- 10 : Uji Fermentasi karbohidrat (Maltosa)

IV.2.4 Uji Oksidase

Uji Oksidase bertujuan untuk melihat kemampuan organisme tertentu dalam mengoksidase sitokrom. Uji ini berguna dalam identifikasi mikroorganisme patogen. Uji positif ditandai dengan adanya perubahan warna koloni menjadi merah muda, lalu merah tua, merah gelap dan akhirnya hitam setelah diberi reagens oksidase. Perubahan warna ini disebabkan oksidase sitokrom mengoksidasikan larutan reagens namun bila terjadi reaksi reduksi, tidak terjadi perubahan warna yang berarti oksidase negatif (Hadioetomo, 1990; Bibiana, 1994).

Dari hasil pengamatan diperoleh hasil ada 9 isolat yang hasilnya positif yaitu isolate A₁, B₁, C₁, C₂, D₁, G₁, G₂, I₂, J₁, sedangkan 13 isolat yang lain menunjukkan hasil negatif.

IV.2.3 Uji Katalase

Uji katalase merupakan salah satu uji dalam metode identifikasi untuk melihat kemampuan bakteri tertentu dalam menghasilkan enzim katalase. Kebanyakan bakteri aerobik dan anaerobik fakultatif yang menggunakan oksigen menghasilkan hidrogen peroksida yang sesungguhnya bersifat racun bagi sistem-sistem enzimnya sendiri. Namun mereka dapat tetap hidup dengan adanya antimetabolit tersebut karena dihasilkannya enzim katalase yang dapat mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen (Hadioetomo, 1990).

Pada tabel 4 dapat dilihat hasil dari uji katalase, dimana dapat dilihat ada semua isolat memiliki hasil uji positif, hal ini berarti semua isolat mampu menghasilkan enzim katalase.

IV.3. Uji Motilitas

Uji motilitas bertujuan untuk mengetahui kemampuan gerak bakteri. Bakteri dapat bergerak dengan bantuan flagel atau pili (Pelzar & Chan, 1986).

Pada tabel 5 dapat dilihat hasil dari uji motilitas bakteri, dimana hasil uji menunjukkan ada 11 isolat yang motil, 5 isolat berasal dari gingiva sehat yaitu isolat A₁, B₂, C₃, E₁, E₂, sedang 6 isolat lagi berasal dari gingivitis. Hal ini berarti jumlah bakteri yang motil lebih banyak pada plak dari gingivitis daripada bakteri plak yang berasal dari gingiva sehat. Hal ini sesuai dengan pernyataan Freeman (1985), bahwa plak dari gingivitis terutama terdiri dari bakteri yang motil.

Tabel 5. Hasil Pengamatan Uji Motilitas Isolat Bakteri pada medium SIMA

Isolat	Pertumbuhan Bakteri pada Medium SIMA	Motilitas
A ₁	Pertumbuhan menyebar, keruh	Motil
A ₂	Hanya disekitar tusukan, tidak keruh	Tidak motil
B ₁	Hanya disekitar tusukan, tidak keruh	Tidak motil
B ₂	Pertumbuhan menyebar, keruh	Motil
C ₁	Hanya disekitar tusukan, tidak keruh	Tidak motil
C ₂	Hanya disekitar tusukan, tidak keruh	Tidak motil
C ₃	Pertumbuhan menyebar, keruh	Motil
D ₁	Hanya disekitar tusukan, tidak keruh	Tidak Motil
D ₂	Hanya disekitar tusukan, tidak keruh	Tidak Motil
E ₁	Pertumbuhan menyebar, keruh	Motil
E ₂	Pertumbuhan menyebar, keruh	Motil
F ₁	Hanya disekitar tusukan, tidak keruh	Tidak motil
F ₂	Pertumbuhan menyebar, keruh	Motil
F ₃	Hanya disekitar tusukan, tidak keruh	Tidak motil
G ₁	Pertumbuhan menyebar, keruh	Motil
G ₂	Pertumbuhan menyebar, keruh	Motil
H ₁	Pertumbuhan menyebar, keruh	Motil
H ₂	Pertumbuhan menyebar, keruh	Motil
I ₁	Pertumbuhan menyebar, keruh	Motil
I ₂	Hanya disekitar tusukan, tidak keruh	Tidak motil
J ₁	Hanya disekitar tusukan, tidak keruh	Tidak motil
J ₂	Hanya disekitar tusukan, tidak keruh	Tidak motil

IV. 4. Uji Sensitivitas

Uji sensitivitas bertujuan untuk mengetahui daya sensitivitas isolat bakteri pembentuk plak gigi subgingiva terhadap antibakteri yang digunakan yang disebut antibiotik. Uji sensitivitas terhadap antibiotik dilakukan dengan menggunakan cakram kertas yang mengandung antibiotik dengan konsentrasi tertentu. Pengujian ini menggunakan metode Kirby Bouer . Daya sensitivitas isolat bakteri terhadap antibiotik diperoleh dengan mengukur zona bening (zona hambatan) di sekitar disk antibiotik. Hasil pengukuran disajikan dalam tabel 7:

Ada 6 jenis antibiotik yang diujikan terhadap isolat bakteri, yaitu *Tetracyclin* (30 µg), *Streptomycin* (10 µg), *Doxycycline Hydrochloride* (30 µg) *Ampicillin* (10 µg) *Eritromycin* (15 µg) dan *Penicillin* (G) (10 µg).

Tabel 7. Hasil Uji Sensivitas Isolat Bakteri Terhadap Beberapa Jenis Antibiotik

Isolat	Diameter daya hambat antibiotik dalam mm					
	DO	E	TE	AMP	P	S
A ₁	25	0	17	26	0	7
A ₂	20	30	15	32	32	23
B ₁	32	26	28	28	31	1
B ₂	31	26	32	42	42	0
C ₁	30	23	26	30	28	18
C ₂	24	5	8	23	25	20
C ₃	19	0	15	0	0	0
D ₁	25	8	27	0	0	7
D ₂	20	15	13	22	23	24
E ₁	18	0	12	0	0	0
E ₂	12	30	13	24	10	19
F ₁	30	17	22	11	0	12
F ₂	28	26	22	29	30	18
F ₃	26	23	24	32	37	19
G ₁	18	0	18	0	0	17
G ₂	15	0	19	0	0	17
H ₁	23	0	17	0	0	0
H ₂	14	0	0	0	0	0
I ₁	23.5	0	23	8	0	14
I ₂	29	0	28	0	0	20
J ₁	14	10	14.5	0	0	15
J ₂	22	8	25	0	0	14

Keterangan:

- Do : *Doxycycline Hydrochloride* (30 µg)
 E : *Eritromycin* (15 µg)
 Te : *Tetracyclin* (30 µg)
 AMP : *Ampicillin* (10 µg)
 P : *Penicillin G* (10 µg)
 S : *Streptomycin* (10 µg)

Pada tabel 6 dapat dilihat hasil dari uji sensitifitas bakteri terhadap berbagai antibiotik. Antibiotik pada urutan pertama atau yang paling besar pengaruhnya adalah

Doxycycline Hydrochloride. Antibiotik ini dikatakan paling besar pengaruhnya karena isolat yang sensitif terhadap antibiotik ini berjumlah paling banyak yaitu ada 18 isolat (A₁, A₂, B₁, B₂, C₁, C₂, C₃, D₁, D₂, E₁, F₁, F₂, F₃, G₁, H₁, I₁, I₂, J₂). Tidak ada isolat yang resisten terhadap antibiotik ini. Sedangkan isolat yang intermediat terhadap antibiotik ini ada 4 isolat yaitu isolat E₂, G₂, H₂, I₁ dan J₁. Hal ini mungkin disebabkan karena *Doxycycline Hydrochloride* merupakan salah satu jenis *Tetracyclin* yang berspektrum luas. Selain itu antibiotik ini memiliki kelebihan bila dibandingkan dengan *Tetracyclin* sendiri yaitu banyak bakteri *Streptococcus aureus* dan *Neisseria* resisten terhadap *Tetracyclin* tetapi sensitif terhadap *Doxycycline Hydrochloride*. Antibiotik ini juga efektif terhadap *Streptococcus pneumoniae* dan *S. pyogenes* (Istiantoro, dkk, 1995).

Antibiotik pada urutan kedua adalah *Streptomycin*, dimana ada 12 isolat yang sensitif terhadap antibiotik ini yaitu isolat A₂, B₁, C₁, C₂, D₂, E₂, F₂, F₃, G₁, G₂, I₁, dan J₂. Isolat yang intermediat terhadap antibiotik ini ada 3 isolat yaitu F₁, I₁ dan J₂, sedangkan isolat yang resisten terhadap antibiotik ini ada 7 isolat yaitu isolat A₁, B₂, C₃, D₁, E₁, H₁ dan H₂.

Antibiotik pada urutan ketiga yaitu *Tetracyclin* dimana ada 11 isolat yang sensitif yaitu isolat B₁, B₂, C₁, D₁, F₁, F₂, F₃, G₂, I₁, I₂ dan J₂, isolat yang intermediat ada 9 isolat yaitu isolat A₁, A₂, C₃, D₂, E₁, E₂, G₁, H₁ dan J₁, sedangkan isolat yang resisten ada 2 isolat saja yaitu isolat C₂ dan H₂.

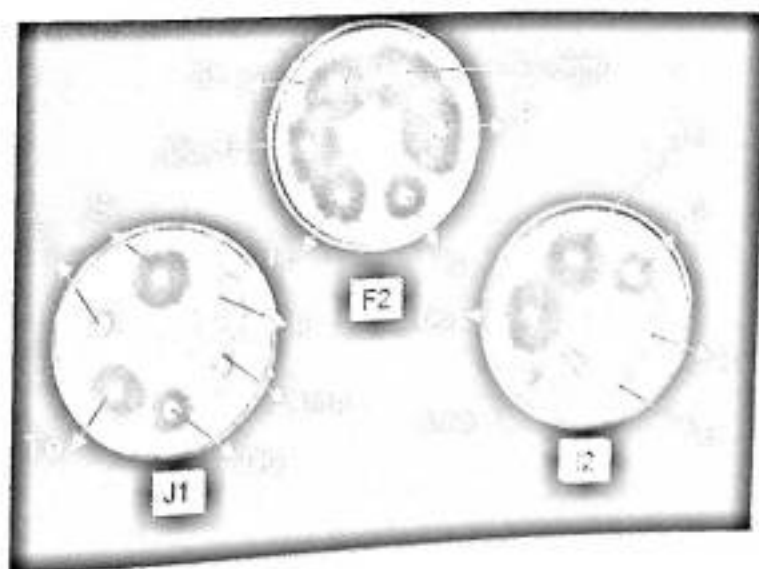
Antibiotik pada urutan keempat adalah *Ampicillin* dimana ada 10 isolat yang sensitif yaitu isolat A₁, A₂, B₁, B₂, C₁, C₂, D₂, E₂, F₂, dan F₃. Isolat yang intermediat terhadap antibiotik ini ada 1 isolat yaitu isolat F₁. Isolat yang resisten terhadap antibiotik ini ada 11 isolat yaitu isolat C₃, D₁, F₃, G₁, G₂, H₁, H₂, I₁, I₂, J₁ dan J₂.

Antibiotik pada urutan kelima adalah *Penicillin*, dimana isolat yang sensitif terhadap antibiotik ini ada 8 isolat yaitu isolat A₂, B₁, B₂, C₁, C₂, D₂, F₂, dan F₃. Tidak ada isolat yang intermediat. Sedangkan isolat yang resisten ada 14 isolat yaitu isolat yaitu isolat A₁, C₃, D₁, E₁, E₂, F₁, G₁, G₂, H₁, H₂, I₁, I₂, J₁, dan J₂.

Antibiotik pada urutan keenam yaitu *Eritromycin*, dimana hanya 7 isolat yang sensitif yaitu isolat A₂, B₁, B₂, C₁, E₂, F₂ dan F₃. Isolat yang intermediat ada 2 isolat yaitu isolat D₂ dan F₁. Sedangkan isolat yang resisten ada 13 isolat yaitu isolat A₁, C₂, C₃, D₁, E₁, G₁, G₂, H₁, H₂, I₁, I₂, J₁ dan J₂.

Ketiga jenis antibiotik ini (*Ampicillin*, *Eritromycin* dan *Penicillin (G)*) kurang efektif terhadap berbagai isolat bakteri karena ketiga antibiotik ini tidak stabil pada suasana atau pH asam. Sedangkan suasana dan pH lingkungan medium GNA bersifat asam yang disebabkan oleh kemampuan dari bakteri plak gigi untuk mengubah gula pada medium menjadi berbagai asam.

Gambar uji sensitifitas bakteri terhadap beberapa antibiotik dapat dilihat pada



Gambar 11. Uji Sensitivitas isolat Bakteri Terhadap Beberapa Jenis Antibiotik

Keterangan:

- F₂ : Isolat 2 dari sampel Gvt 1
- J₁ : Isolat 1 dari sampel Gvt 5
- I₂ : Isolat 2 dari sampel Gvt 4
- Te : *Tetracyclin*
- S : *Streptomycin*
- Do : *Doxycycline Hydrochloride*
- Amp : *Ampicillin*
- E : *Eritromycin*
- P : *Penicillin (G)*

IV.5 Uji Haemolisis Darah

Uji haemolisis darah bertujuan untuk melihat kemampuan bakteri dalam melakukan proses haemolisis sel darah merah secara invitro pada berbagai tingkatan. Uji ini khusus dilakukan untuk bakteri-bakteri patogen yang menginfeksi jaringan hewan.

Pembagian tingkatan haemolisis ada 3 tingkatan yaitu haemolisis beta (β) yang ditandai dengan perubahan warna medium yang menjadi bening disekeliling koloni bakteri, hal ini berarti telah terjadi lisis sempurna pada sel-sel darah merah (eritrosit). Tingkatan kedua disebut haemolisis alfa (α), yaitu suatu hemolisis eritrosit yang tidak lengkap yang ditandai adanya perubahan warna medium menjadi hijau disekitar koloni bakteri. Sedangkan pada tingkatan ke-3 disebut haemolisis gamma (γ), yang ditandai dengan tidak adanya perubahan keadaan dari medium dan medium tetap berwarna merah (tidak bening atau hijau) karena tidak terjadinya haemolisis pada sel-sel darah merah. Hasil dari uji ini dapat dilihat pada tabel 8 :

Tabel 8 Uji Haemolisis Isolat Bakteri pada Cawan Agar Darah

Isolat	Area di sekitar koloni	Tipe haemolisis
A1	Hijau	Haemolisis alfa
A2	Bening	Haemolisis beta
B1	Hijau	Haemolisis alfa
B2	Tidak berubah (merah)	Haemolisis gamma
C1	Hijau	Haemolisis alfa
C2	Hijau	Haemolisis alfa
C3	Tidak berubah (merah)	Haemolisis gamma
D1	Hijau	Haemolisis alfa
D2	Hijau	Haemolisis alfa
E1	Hijau	Haemolisis alfa
E2	Hijau	Haemolisis alfa
F1	Tidak berubah (merah)	Haemolisis gamma
F2	Hijau	Haemolisis alfa
F3	Hijau	Haemolisis alfa
G1	Hijau	Haemolisis alfa
G2	Tidak berubah (merah)	Haemolisis gamma
H1	Tidak berubah (merah)	Haemolisis gamma
H2	Hijau	Haemolisis alfa
I1	Tidak berubah (merah)	Haemolisis gamma
I2	Hijau	Haemolisis alfa
J1	Tidak berubah (merah)	Haemolisis gamma
J2	Hijau	Haemolisis alfa

Pada tabel 8 dapat dilihat kebanyakan tipe haemolisis yang terjadi pada isolat adalah hemolisis alfa, yang ditandai dengan perubahan warna medium agar cawan disekeliling koloni bakteri menjadi warna hijau. Isolat yang memiliki tipe hemolisis alfa yaitu isolat A₁, B₁, C₁, C₂, D₁, D₂, E₁, E₂, F₂, F₃, G₁, H₂, I₂, dan J₂. Isolat yang memiliki tipe haemolisis gamma ada 7 isolat yaitu isolat B₂, C₃, F₁, G₂, H₁, I₁ dan J₁. Sedangkan isolat yang memiliki tipe haemolisis beta hanya satu isolat yaitu isolat A₂.

Dari hasil yang diperoleh dapat diketahui bahwa isolat bakteri pembentuk plak gigi kebanyakannya termasuk bakteri patogen karena kemampuannya melisis seluruh atau sebagian sel-sel darah merah.

IV.6 Uji Adhesivitas

Uji adhesivitas bertujuan untuk mengetahui kemampuan perlekatan bakteri pembentuk plak gigi dengan bantuan saliva. Dalam uji ini yang digunakan sebagai kontrol adalah isolat bakteri tanpa penambahan saliva. Tingkat adhesivitas bakteri didasarkan pada nilai densitas optik (DO) dari isolate bakteri yang bersangkutan. Dimana nilai DO dihitung setiap 30 menit selama enam kali penghitungan dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 640 nm.

Hasil yang diperoleh dari uji adhesivitas pada isolat bakteri tanpa penambahan saliva (kontrol) dan isolat bakteri dengan penambahan saliva disajikan pada tabel 9 dan 10:

Tabel 9. Hasil uji adhesivitas isolat bakteri tanpa saliva (kontrol)

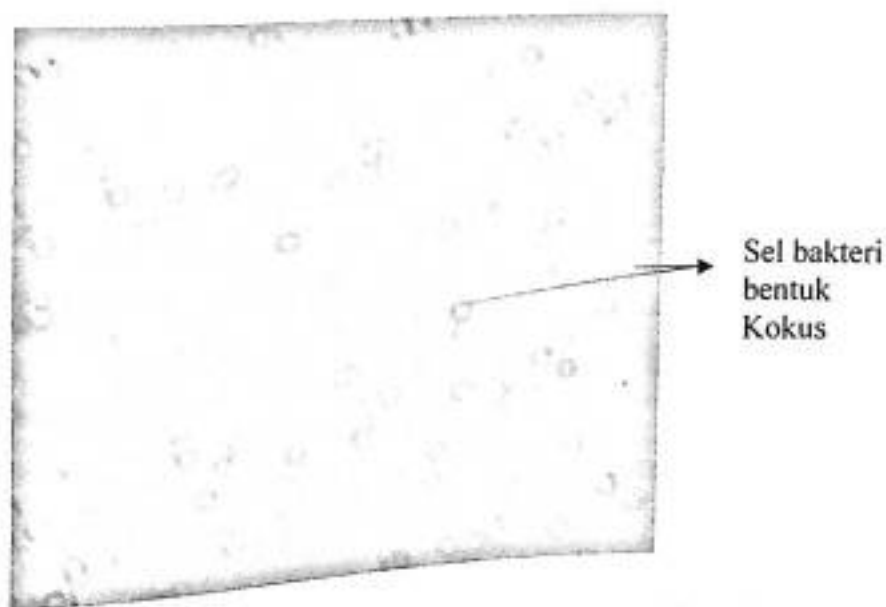
Isolat	Nilai Densitas Optik (DO) pada interval (menit)						Nilai adhesivitas (%)
	0	30	60	90	120	150	
A ₁	0,508	0,482	0,481	0,479	0,467	0,440	-6,8
A ₂	0,500	0,433	0,414	0,411	0,410	0,395	-10,5
B ₁	0,503	0,501	0,489	0,487	0,486	0,482	-2,1
B ₂	0,505	0,505	0,509	0,512	0,525	0,531	+2,6
C ₁	0,502	0,492	0,491	0,490	0,454	0,446	-5,6
C ₂	0,504	0,478	0,469	0,423	0,422	0,410	-9,4
C ₃	0,506	0,473	0,459	0,457	0,452	0,445	-6,1
D ₁	0,504	0,478	0,469	0,423	0,422	0,410	-9,4
D ₂	0,502	0,425	0,410	0,375	0,362	0,351	-15,1
E ₁	0,505	0,500	0,485	0,467	0,465	0,465	-4
E ₂	0,501	0,476	0,468	0,459	0,442	0,441	-6
F ₁	0,508	0,501	0,491	0,488	0,472	0,463	-4,5
F ₂	0,503	0,473	0,465	0,427	0,420	0,419	-8,4
F ₃	0,500	0,495	0,474	0,457	0,433	0,428	-7,2
G ₁	0,501	0,430	0,421	0,398	0,387	0,370	-13,1
G ₂	0,507	0,483	0,475	0,457	0,449	0,446	-6,1
H ₁	0,505	0,480	0,473	0,468	0,462	0,460	-4,5
H ₂	0,503	0,496	0,469	0,455	0,451	0,450	-5,3
I ₁	0,502	0,498	0,487	0,482	0,480	0,473	-2,9
I ₂	0,501	0,500	0,497	0,488	0,476	0,468	-3,3
J ₁	0,504	0,456	0,447	0,423	0,413	0,401	-10,3
J ₂	0,502	0,480	0,421	0,420	0,417	0,391	-11,1

Tabel 10. Hasil uji adhesivitas isolat bakteri dengan penambahan saliva

Isolat	Nilai Densitas Optik (DO) pada interval (menit)						Nilai adhesivitas (%)
	0	30	60	90	120	150	
A ₁	0,480	0,526	0,540	0,524	0,487	0,501	+2,1
A ₂	0,481	0,523	0,505	0,531	0,495	0,499	+1,8
B ₁	0,460	0,470	0,455	0,435	0,420	0,418	-4,2
B ₂	0,430	0,359	0,389	0,377	0,373	0,372	-5,8
C ₁	0,413	0,415	0,446	0,423	0,424	0,426	+1,3
C ₂	0,451	0,499	0,462	0,483	0,494	0,476	+2,5
C ₃	0,405	0,403	0,364	0,366	0,342	0,350	-5,5
D ₁	0,429	0,420	0,391	0,382	0,381	0,3379	-5
D ₂	0,423	0,376	0,375	0,369	0,367	0,366	-5,7
E ₁	0,472	0,486	0,455	0,433	0,425	0,420	-5,2
E ₂	0,411	0,412	0,396	0,386	0,379	0,370	-3,4
F ₁	0,407	0,407	0,386	0,365	0,364	0,361	-4,6
F ₂	0,421	0,410	0,400	0,389	0,382	0,381	-4,0
F ₃	0,424	0,436	0,426	0,427	0,481	0,482	+2,0
G ₁	0,354	0,339	0,335	0,326	0,321	0,321	-3,3
G ₂	0,458	0,481	0,483	0,516	0,518	0,520	+6,2
H ₁	0,431	0,408	0,401	0,456	0,458	0,460	+2,9
H ₂	0,365	0,340	0,337	0,331	0,330	0,328	-3,7
I ₁	0,415	0,403	0,398	0,399	0,397	0,395	-2,0
I ₂	0,359	0,355	0,353	0,351	0,349	0,345	-1,4
J ₁	0,421	0,420	0,422	0,419	0,418	0,415	-0,6
J ₂	0,397	0,398	0,377	0,374	0,360	0,355	-4,2

Pada tabel 9 dan 10 dapat dilihat nilai adhesivitas dari semua isolat dengan penambahan saliva terus berkurang kecuali satu isolat yaitu isolat B₂ menunjukkan bahwa kolonisasi bakteri tanpa bantuan saliva dapat terus berku

isolat dengan penambahan saliva hanya ada 15 isolat yang mengalami penurunan nilai adhesivitas, sedangkan 7 solat lainnya yakni isolat A₁, A₂, C₁, C₂, F₃, G₂ dan H₁ mengalami peningkatan nilai adhesivitas. Hal ini menunjukkan bahwa dengan penambahan saliva akan dapat meningkatkan kolonisasi bakteri. Lindhe (1995) berpendapat bahwa kemampuan daya lekat bakteri pada pembentukan plak gigi tidak hanya antara permukaan bakteri dan koloni bakteri lain pada permukaan gigi, tapi juga dapat dipicu oleh aktivitas dari saliva. Pelzar & Chan (1986) berpendapat bahwa tertahannya sel bakteri pada permukaan gigi merupakan akibat sifat adhesif baik dari glikoprotein air liur maupun dari polisakarida bakteri. Sifat tersebut sangat membantu kolonisasi bakteri didalam mulut dimana glikoprotein saliva dapat menyatukan bakteri-bakteri tertentu dan mengikatkan mereka pada permukaan gigi.



Gambar 12: Pengamatan uji adhesivitas tanpa perlakuan saliva. Tampak penyebaran bakteri terdispersi lebih luas (Perbesaran 10 x 100)



Terjadi perlekatan antara bakteri dan molekul dari saliva

Gambar 13: Pengamatan uji adhesivitas dengan perlakuan saliva.
Tampak bakteri membentuk koloni.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

1. Diperoleh dua bentuk morfologi koloni pada NA cawan yaitu *irregular* untuk isolat B₂ dan C₂ dan *circular* untuk isolat A₁, A₂, B₁, C₁, C₃, D₁, D₂, E₁, E₂, F₁, F₂, F₃, G₁, G₂, H₁, H₂, I₁, I₂, J₁, J₂. Sedangkan Karakteristik morfologi secara makroskopik isolat pada medium NA miring memperlihatkan lima bentuk pertumbuhan yaitu *Effuse* pada isolat A₁, B₂, C₁, D₁, E₁, F₃, H₁, J₁ dan J₂, *Rhizoid* pada isolat F₁ dan G₁, *Echinulate* pada isolat A₁, H₂ dan I₂, *Beaded* pada isolat B₁, D₂, F₂, dan C₃, dan bentuk *Arborecent* pada isolat C₂, E₂, G₂, dan I₁.
2. Pengelompokan berdasarkan dinding sel diperoleh isolat A₁, A₂, B₂, C₁, C₂, C₃, D₂, E₁, E₂, F₂ dan I₁, termasuk bakteri gram positif. Sedangkan isolat B₁, D₁, F₁, F₃, G₁, G₂, H₁, H₂, I₂, J₁ dan J₂ termasuk bakteri gram negatif
3. Semua isolat mampu membentuk kapsul, dan hanya 5 isolat yang mampu membentuk spora.
4. Isolat yang resisten terhadap antibiotik yang digunakan yaitu isolat H₂, E₁, C₃, H₁, J₁, G₂, G₁, D₁, I₁, J₂, A₁, I₂, F₁, C₂, E₂, D₂, B₁ dan B₂.
5. Isolat yang menunjukkan sifat adhesifitas yang besar adalah isolat G₂, H₁, C₂, A₁, F₃, A₂ dan C₁.

V.2. Saran

Sebaiknya dilakukan penelitian lanjutan untuk identifikasi bakteri pembentuk plak supragingiva pada orang dewasa.

Daftar Pustaka

- Amerongen, Nieuw A. Van, 1991, *Ludah dan Kelenjar Ludah (Arti Bagi Kesehatan Gigi)*, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Besford John, 1996, *Mengenal gigi Anda: Petunjuk Bagi Orang Tua*, Arcan, Jakarta.
- Bibiana, W. Lay, 1994, *Analisis Mikroba di Laboratorium*, PT. Rajagrafindo Persada, Jakarta.
- Black G.J, 1999, *Microbiology Principles and Explorations*, Prentice Hall Upper Saddle River, New Jersey.
- Cappucino G.J dan Sherman, N., 1992, *Microbiology of Laboratory Manual, Third Edition*, Rockland Community College, New York.
- Caranza, F.A. dkk, 2002, *Clinical Periodontology : Epidemiology of Gingival and Periodontal Disease*, 9th Ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia, London.
- Crest Dental Resourche Net, 1993. *Pendidikan Pesakit*, www.Google.com.
- Freeman Bob, A, 1985, *Text Book of Microbiology, 22 Edition*. W.B.Sanders Company, Philadelphia.
- Forrest J.O, 1995, *Pencegahan Penyakit Mulut*, Edisi 2, Hipokrates, Jakarta.
- Greene A. Stuart. DDS-FAGD, 2004, *Plaque and Calculus*, www.Google.com.
- Houwink. B dkk, 1993, *Ilmu Kedokteran gigi Pencegahan*, Dengan Penerjemah, Suryo. S dan Abyono R. Gadjah Mada university Press, Yogyakarta.
- Istiantoro, H.Y dkk, 1995, *Farmakologi dan Terapi*, Edisi 4, Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran UI.
- Lindhe J, 1995, *Textbook of Clinical Periodontology, 1st Edition*. W.B Sanders Company Philadelphia, London, Toronto, Mexico City, Rio De Janeiro, Sydney, Tokyo.
- Madegan, 1997, *Biology of Microorganism*, 8th ed, Prentice Hal International, Inc.
- Manson, J.D., Eley, B.M, dan Anastasia, S, 1993, *Buku Ajar Periodonti*, Edisi 2, Jakarta.

- Newburn, E, 1983, *Cariology*, 2nd th Edition, Baltimor. London.
- Pelzar dan Chan, 1988, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Jilid 1, UI Press, Jakarta.
- Pelzar dan Chan, 1986, *Dasar-dasar Mikrobiologi*, Jilid 2, UI Press, Jakarta.
- Philip Marsh, B.S.C and Michael, V.M. BDS. BA, 2000, *Oral Microbiology*, 4 ed, Oxford Aucklland Boston, John Nesburg Mc Burne New Delhi.
- Singleton, P, 1992, *Introduction to Bacteriology*, 2nd ed, John Willey and Sons Inc, Toronto.
- Sjuhada, Cjb, Net, 2000, *Penyakit Gusi*, Indonesian e-dental Information. www.Google.com.
- Volk, W.A dan Wheeler, 1993, *Mikrobiologi Dasar*, edisi 1, Erlangga. Jakarta.
- Willcox, M.D.P & Knox, K.W, 1990, *Surface - Associated Properties of Streptococcus milleri Group Strains and Their Potential Relation to Pathogenesis*, dalam *The Journal of Medical Microbiology*, Vol. 31 No. 4 hal. 259-269.