

PENGARUH PEMBERIAN ASAP CAIR PADA BERBAGAI KONSENTRASI TERHADAP PERTUMBUHAN *Porphyromonas gingivalis* PENYEBAB NEKROSIS PULPA

Ari Wibowo¹, Indah Lestari Vidyahayati², Gunawan Wibisono²,
V. Rizke Ciptaningtyas³

¹Mahasiswa Program Pendidikan S-1 Kedokteran Umum, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

²Staf Pengajar Bagian Ilmu Penyakit Gigi dan Mulut, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

³Staf Pengajar Bagian Ilmu Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

JL. Prof. H. Soedarto, SH., Tembalang-Semarang 50275, Telp. 02476928010

ABSTRAK

Latar belakang : Etiologi penyakit pulpa yang paling sering adalah iritan akibat invasi mikroorganisme atau produknya menuju pulpa melalui celah pada dentin. Infeksi pada pulpa secara umum merupakan infeksi polimikrobial, yang disebabkan oleh banyak jenis mikroorganisme, dan didominasi oleh bakteri anaerob, salah satunya adalah *Porphyromonas gingivalis*. Asap cair memiliki efek antibakteri, yang disebabkan oleh komponen-komponen yang terkandung di dalamnya, yakni senyawa-senyawa asam organik, fenol, dan karbonil.

Tujuan : Mengetahui pengaruh pemberian asap cair pada berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* penyebab nekrosis pulpa.

Metode : Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan *post test only control group design*. Sampel penelitian ini adalah koloni *Porphyromonas gingivalis* dengan perlakuan sebanyak 6 konsentrasi asap cair (100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, dan 0%) dan duplikasi sebanyak lima kali.

Hasil : Uji *Kruskal-Wallis* pada analisis data KHM menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna ($p=0,000$), begitu pula pada analisis data KBM ($p=0,001$). Kemudian, dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* yang menyatakan bahwa terdapat signifikansi pada kelompok P6 (0%). Konsentrasi terendah yang dapat membunuh bakteri *Porphyromonas gingivalis* yakni 6,25%.

Kesimpulan : Asap cair berpengaruh terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*, ditandai dengan nilai Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) pada konsentrasi 6,25%.

Kata kunci : Asap cair, Nekrosis pulpa, *Porphyromonas gingivalis*, KHM, KBM.

ABSTRACT

THE EFFECT OF LIQUID SMOKE IN VARIOUS CONCENTRATIONS ON THE GROWTH OF *Porphyromonas gingivalis* CAUSES PULP NECROSIS

Background : The most prevalent etiology of pulp disease is irritants, caused by microorganism invasion or its product through the break of dentin. Pulp infections are generally polymicrobial, which is caused by many kinds of bacteria, dominated by anaerobic bacteria. *Porphyromonas gingivalis* is one of the bacteria. Liquid smoke has antibacterial effect due to its components, such as organic acid, phenol, and carbonyl.

Aim : To know the effect of liquid smoke in various concentrations on the growth of *Porphyromonas gingivalis* which causes pulp necrosis.

Methods : This research was an experimental laboratory research with post test only control group design. The sample in this research was *Porphyromonas gingivalis* colony with six different concentrations of liquid smoke (100%,50%,25%,12.5%, and 6.25%), and five times duplication.

Result : Kruskal-Wallis test on MIC data analysis showed that there was a significant difference ($p=0.000$), as well as the MBC data analysis ($p=0.001$). Then, it continued with Mann-Whitney test which also showed that there was a significant difference on P6 (0%) group. The lowest concentration which could kill the bacteria was 6.25%.

Conclusion : Liquid smoke has affected the growth of *Porphyromonas gingivalis*, with which The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and the Minimum Bactericidal Concentration (MBC) is 6.25%.

Keywords : Liquid smoke, Pulp necrosis, *Porphyromonas gingivalis*, MIC, MBC.

PENDAHULUAN

Penyakit pulpa menurut Profil Kesehatan Semarang tahun 2013 termasuk ke dalam 10 besar penyakit dengan prevalensi tinggi di Puskesmas.¹ Etiologi penyakit pulpa yang paling sering adalah iritan akibat invasi mikroorganisme atau produknya menuju pulpa melalui celah pada dentin yang diakibatkan oleh karies, fraktur, penyebaran infeksi dari sulkus gingivalis, atau abses periodontal. Berdasarkan kondisi pulpa, keparahan dan durasi iritan, serta respon *host*, pulpa dapat memberikan respon berupa reaksi inflamasi sehingga terjadi nekrosis atau kematian jaringan pulpa.^{2,3,4}

Infeksi pada pulpa secara umum merupakan infeksi polimikrobial, yang disebabkan oleh banyak jenis mikroorganisme, dan didominasi oleh bakteri anaerob, salah satunya adalah *Porphyromonas gingivalis*.^{3,5} Berdasarkan penelitian oleh Fabris dkk., yang dilakukan pada tahun 2013 di Brazil, bakteri *Porphyromonas gingivalis* ditemukan pada 49% dari sampel penelitian, yang diambil dari anak-anak dengan gejala klinis dan gambaran radiografis nekrosis pulpa.⁶

Penatalaksanaan utama pada nekrosis pulpa adalah dengan *Root Canal Therapy* (RCT) atau perawatan saluran akar. Tujuan keseluruhan dari terapi ini adalah mengeliminasi infeksi saluran akar gigi.^{2,7,8} Penelitian menunjukkan, prosedur RCT saja tidak cukup menjamin terbebasnya saluran akar gigi dari bakteri. Persistensi bakteri pada saluran akar gigi setelah dilakukannya perawatan saluran akar pada beberapa kasus masih terlihat. Hal ini merupakan faktor utama kegagalan terapi. Untuk meningkatkan keberhasilan terapi, medikasi antibakteri

intrakanal direkomendasikan untuk diberikan. Beberapa bahan telah digunakan sebagai medikasi intrakanal, tetapi belum mencapai hasil yang maksimal, sehingga perlu dikembangkan beberapa alternatif.^{2,9,10,11}

Indonesia telah mengembangkan berbagai alternatif zat antibakteri yang didapatkan dari hasil kekayaan alam yang dimiliki. Salah satunya adalah asap cair. Asap cair merupakan hasil kondensasi asap yang didapat dari hasil pembakaran tidak sempurna dari kayu atau tempurung kelapa. Beberapa penelitian telah mengungkapkan bahwa asap cair memiliki efek antibakteri, yang disebabkan oleh komponen-komponen yang terkandung di dalamnya, yakni senyawa-senyawa asam organik, fenol, dan karbonil.^{12,13}

Berdasarkan latar belakang di atas, penulis ingin melakukan penelitian yang bertujuan untuk membuktikan adanya pengaruh pemberian asap cair terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* penyebab nekrosis pulpa.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan pendekatan *post test only control group design*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Sentral bagian Mikrobiologi, Rumah Sakit Nasional Diponegoro (RSND), Universitas Diponegoro, Semarang pada bulan Maret-April 2016.

Sampel penelitian ini meliputi koloni *Porphyromonas gingivalis* yang memenuhi kriteria inklusi serta eksklusi. Kriteria inklusi penelitian ini adalah koloni *Porphyromonas gingivalis* yang tumbuh pada media *Brain Heart Infusion Broth* (OXOID, CM1135B), dan *Blood Agar* (OXOID, CM0055B) setelah dipaparkan dengan perlakuan dan diinkubasi pada lingkungan anaerob dengan menggunakan anaerob *GasPak* (OXOID, AN0010C; MERCK, 114226), pada suhu 37° C selama 24-48 jam. Kriteria eksklusi penelitian ini adalah Koloni *Porphyromonas gingivalis* yang tumbuh pada media *Brain Heart Infusion Broth* (BHI-B), dan *Blood Agar* dengan disertai pertumbuhan jamur atau kontaminan lain. Dari hasil kultur bakteri tersebut, kemudian dilakukan pembuatan larutan suspensinya. Larutan suspensi *Porphyromonas gingivalis* selanjutnya ditanamkan pada masing-masing sediaan larutan asap cair dengan metode dilusi dalam media *Brain Heart Infusion Broth* (BHI-B) untuk mengetahui Kadar Hambat Minimum (KHM). Pada penelitian ini terdapat 6 kelompok perlakuan, yang terdiri dari 6 konsentrasi, yakni 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, dan 0%,

dan 3 kelompok kontrol, yang terdiri dari kontrol +, kontrol -, dan kontrol sampel. Masing-masing kelompok perlakuan dan kelompok kontrol dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali. Setelah itu, dilakukan uji Kadar Bunuh Minimum (KBM), yakni larutan pada sediaan Uji KHM digoreskan masing-masing sebanyak 2 μ l pada media *Blood Agar*.

HASIL

Analisis Deskriptif

Tabel 1. Kadar Hambat Minimum Larutan Asap Cair Terhadap *Porphyromonas gingivalis*

Percobaan	P1 (100%)	P2 (50%)	P3 (25%)	P4 (12,5%)	P5 (6,25%)	P6 (0%)
I	Jernih	Jernih	Jernih	Jernih	Jernih	Keruh
II	Jernih	Jernih	Jernih	Jernih	Jernih	Keruh
III	Jernih	Jernih	Jernih	Jernih	Jernih	Keruh
IV	Jernih	Jernih	Jernih	Jernih	Jernih	Keruh
V	Jernih	Jernih	Jernih	Keruh	Jernih	Keruh

Tabel 2. Kadar Bunuh Minimum Larutan Asap Cair Terhadap *Porphyromonas gingivalis*
(dinyatakan dalam koloni)

Percobaan	P1 (100%)	P2 (50%)	P3 (25%)	P4 (12,5%)	P5 (6,25%)	P6 (0%)
I	0	0	0	0	>300	>300
II	0	0	0	0	0	>300
III	0	0	0	0	0	>300
IV	0	0	0	0	75	>300
V	0	0	0	>300	0	>300

Analisis Inferensial

Dari uji normalitas dan homogenitas, didapatkan distribusi data yang tidak normal ($p < 0,05$) dan varians data yang tidak homogen ($p < 0,05$), sehingga bisa dilanjutkan dengan uji non-parametrik dengan uji *Kruskal-Wallis*, dan dilanjutkan uji *Post Hoc* dengan uji *Mann-whitney*.

Tabel 4. Rekapitulasi Hasil Uji *Mann-Whitney* Pada Analisis KHM

Kelompok	P2	P3	P4	P5	P6	KS	K+	K-
P1	1,000	1,000	0,317	1,000	0,003*	1,000	0,003*	1,000
P2	-	1,000	0,317	1,000	0,003*	1,000	0,003*	1,000
P3		-	0,317	1,000	0,003*	1,000	0,003*	1,000
P4			-	0,317	0,014*	0,317	0,014*	0,317
P5				-	0,003*	1,000	0,003*	1,000
P6					-	0,003*	1,000	0,003*
KS						-	0,003*	1,000
K+							-	0,003*

Keterangan : * Signifikan $p < 0,05$

Tabel 13. Rekapitulasi Hasil Uji *Mann-Whitney* Pada Analisis KBM

Kelompok	P2	P3	P4	P5	P6
P1	1,000	1,000	0,317	0,136	0,003*
P2	-	1,000	0,317	0,136	0,003*
P3		-	0,317	0,136	0,003*
P4			-	0,606	0,014*
P5				-	0,017*

Keterangan : * Signifikan $p < 0,05$

Hasil analisis dengan menggunakan uji *Kruskal-Wallis* pada data KHM didapatkan nilai 0,000 ($p < 0,05$), dan pada data KBM didapatkan nilai 0,001 ($p < 0,05$), sehingga hasil tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna setidaknya pada dua kelompok konsentrasi asap cair yang digunakan. Analisis data kemudian dilanjutkan dengan uji *Post-Hoc* menggunakan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui perbedaan antara masing-masing kelompok perlakuan. Hasil analisis dengan menggunakan uji *Mann-Whitney* pada data KHM dan KBM menunjukkan bahwa tidak didapatkan perbedaan bermakna antara kelompok P1 (100%) sampai dengan P5 (6,25%), sehingga dapat disimpulkan bahwa KHM dan KBM pada penelitian ini adalah P5 (6,25%).

PEMBAHASAN

Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa Kadar Hambat Minimum (KHM) serta Kadar Bunuh Minimum (KBM) asap cair terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* adalah pada konsentrasi 6,25%. Hal ini disebabkan oleh beberapa senyawa yang terkandung dalam asap cair, yang memiliki fungsi sebagai antibakteri, yakni senyawa fenol, karbonil, dan asam organik.^{12,13,14}

Senyawa fenol dan turunannya memiliki sifat bakteriostatik maupun bakterisidal.^{12,15} Asap cair yang berasal dari tempurung kelapa mengandung senyawa fenol sebanyak kurang lebih 400 jenis, yang cukup aman digunakan bagi manusia. Sedangkan kuantitas fenol pada asap cair dari kayu sangat bervariasi antara 10 – 200 mg/kg.¹⁶ Mekanisme aktivitas antibakteri dari senyawa fenol dan turunannya yang utama, yakni dengan merusak struktur sel dan menghambat proses pembentukan dinding sel bakteri.¹⁴ Bakteri *Porphyromonas gingivalis* merupakan bakteri gram negatif, yang memiliki struktur dinding sel yang lebih kompleks dari bakteri gram positif. Dinding sel bakteri gram negatif mengandung tiga komponen yang terletak pada lapisan luar, yakni peptidoglikan, lipoprotein, membran luar dan lipopolisakarida.¹⁷ Senyawa fenol mengganggu sintesis peptidoglikan, yang merupakan komponen yang berperan pada integritas dinding sel bakteri, sehingga menyebabkan lapisan dinding sel bakteri tidak terbentuk secara utuh.^{16,18}

Senyawa fenol juga menyebabkan denaturasi protein yang menyusun sebagian struktur membran sitoplasma bakteri.¹⁴ Kerusakan dari membran sitoplasma dan dinding sel dapat menyebabkan peningkatan permeabilitas membran plasma bakteri, sehingga terjadi hilangnya isi sel bakteri, yang akhirnya menyebabkan lisis dan kematian sel bakteri.^{12,14,16,18} Hal ini seperti yang ditunjukkan dalam penelitian yang dilakukan oleh Pamela Lolita Berti, bahwa senyawa fenol yang terkandung di dalam air perasan buah lemon, seperti flavonoid dan tannin memiliki aktifitas antibakteri dengan merusak membran sel bakteri. Flavonoid diduga berperan dalam membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang dapat merusak membran sel *Porphyromonas gingivalis* dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler bakteri, sedangkan tanin dapat menyebabkan sel *Porphyromonas gingivalis* menjadi lisis, karena tanin memiliki target pada polipeptida dinding sel bakteri sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna dan kemudian sel bakteri akan mati.¹⁹

Efek antibakteri lainnya dari senyawa fenol dan turunannya adalah melalui inaktivasi enzim-enzim esensial bakteri, serta destruksi atau inaktivasi fungsional materi genetik.^{12,18,20} Mekanisme ini seperti yang dijelaskan pada penelitian yang dilakukan oleh Ita Zuraida, yang menyatakan bahwa kandungan senyawa fenol dan turunannya dalam asap cair memiliki efek antibakteri, baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri, dan membunuh bakteri.¹² Selain itu, pada penelitian oleh Vrita Sendy, telah dibuktikan bahwa senyawa fenol dan turunannya memiliki efek antibakteri terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis*.¹⁸

Senyawa-senyawa lain yang terkandung dalam asap cair, yang dalam hal ini berperan sebagai antibakteri adalah senyawa karbonil dan asam organik.^{12,13,14} Senyawa karbonil berperan dalam menginhibisi pertumbuhan bakteri dengan penetrasi pada dinding sel bakteri dan inaktivasi enzim-enzim yang ada di sitoplasma dan membran sitoplasma, sedangkan senyawa asam organik bekerja dengan mempengaruhi keseluruhan pH dan membentuk suatu asam yang tak terdisosiasi, yang akhirnya mengakibatkan metabolisme bakteri terganggu.¹³

Berdasarkan hal-hal tersebut diatas maka dapat disimpulkan bahwa asap cair melalui kandungan senyawa-senyawa fenol, karbonil, serta asam organik di dalamnya, memiliki efek antibakteri terhadap *Porphyromonas gingivalis*, yakni dengan KHM dan KBM pada konsentrasi 6,25%. Pada penelitian ini, nilai perbandingan antara KBM dengan KHM adalah 1, karena nilai KHM dan KBM adalah pada konsentrasi yang sama, yakni 6,25%. Apabila nilai perbandingan antara KBM dengan KHM adalah kurang dari atau sama dengan 4, dapat disimpulkan bahwa asap cair bersifat bakterisidal terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Dengan kata lain, asap cair pada konsentrasi 6,25% dapat membunuh bakteri *Porphyromonas gingivalis*.²¹

SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa pemberian asap cair pada konsentrasi 6,25% dapat membunuh bakteri *Porphyromonas gingivalis*.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh pemberian asap cair terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* secara *in vivo*. Perlu juga dilakukan penelitian mengenai penentuan kadar tiap - tiap senyawa yang terkandung dalam asap cair, yang berfungsi sebagai antibakteri, yakni kadar senyawa fenol, karbonil, dan asam organik.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada Dr. Ir. Frontea Swastawati, M.Sc. yang telah memberikan pengetahuan mengenai asap cair sehingga menjadi inspirasi bagi penelitian ini. Terimakasih juga kepada Indah Febrianti, AMD dan Bambang Cahyono Ismawan, AMD atas bantuan yang diberikan selama penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

1. Dinkes Kota Semarang. Profil Kesehatan Kota Semarang Tahun 2013. 2014.
2. Garg N, Garg A. *Textbook of Endodontics*. JP Medical Ltd; 2013. <https://books.google.com/books?id=996LAgAAQBAJ&pgis=1>. Accessed November 25, 2015.
3. Ko Y, Kwon K, Kum K, et al. The Anti-Inflammatory Effect of Human Telomerase-Derived Peptide on P . gingivalis Lipopolysaccharide-Induced Inflammatory Cytokine Production and Its Mechanism in Human Dental Pulp Cells. *Mediators Inflamm*. 2015;2015:8.
4. Beer R, Baumann MA. *Pocket Atlas of Endodontics*. Thieme; 2011. https://books.google.com/books?id=s5eV5QDz-_4C&pgis=1. Accessed November 25, 2015.
5. Ferraz CCR et al. LPS from Porphyromonas gingivalis Sensitizes Capsaicin-Sensitive Nociceptors. *J Endod*. 2011;37(1):45-48.
6. Fabris AS, Nakano V, Avila-Campos MJ. Bacteriological analysis of necrotic pulp and fistulae in primary teeth. *J Appl Oral Sci*. 2014;22(2):118-124.
7. Bergenholtz G, Hørsted-Bindslev P, eds. *Textbook of Endodontology*. 2nd ed. John Wiley & Sons; 2013.
8. Hargreaves KM, Cohen S, Berman LH. *Cohen's Pathways of the Pulp*. Mosby Elsevier; 2011. <https://books.google.com/books?id=170BQgAACAAJ&pgis=1>. Accessed December 1, 2015.
9. Stojanovic N, Krunic J, Popovic B, Stojicic S, Zivkovic S. Prevalence of Enterococcus faecalis and Porphyromonas gingivalis in infected root canals and their susceptibility to endodontic treatment procedures: A molecular study. *Srp Arh Celok Lek*. 2014;142(9-10):535-541.

10. Murvindran V, Raj JD. Antibiotics as an Intracanal Medicament in Endodontics. *J Pharm Sci Res.* 2014;6(9):297-301.
11. Okram J. Comparative Evaluation of Antimicrobial Efficacy of Various Intracanal Medicaments: An In Vitro Study. *Rajiv Gandhi Univ Heal Sci.* 2013.
12. Zuraida I, Hasbullah R, Budijanto S. Aktivitas Antibakteri Asap Cair dan Daya Awetnya terhadap Bakso Ikan. *J Ilmu Pertan Indones.* 2009;14:41-49.
13. Milly PJ. Antimicrobial Properties of Liquid Smoke Fractions. *Univ Georg.* 2003.
14. Sasongko P, Mushollaeni W, Herman. Aktivitas Antibakteri Asap Cair dari Limbah Tempurung Kelapa terhadap Daging Kelinci Asap. *Buana Sains.* 2014;14(2):193-197.
15. Fatimah F. Komposisi dan Aktivitas Antibakteri Asap Cair Sabut Kelapa yang Dibuat dengan Teknik Pembakaran Non Pirolisis. *Agritech.* 2011;31(4):305-311.
16. Yulita E. Pengaruh Asap Cair Serbuk Kayu Limbah Industri terhadap Mutu Bokar. *J Ris Ind.* 2012;VI(1):13-22.
17. Sriyono RAN, Andriani I. Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Manggis (*Garcinia Mangostana* Linn.) terhadap Bakteri *Porphyromonas gingivalis*. *IDJ.* 2013;2(2):76-82.
18. Sendy V, Pujiastuti P, Ermawati T. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) Terhadap *Porphyromonas gingivalis*. *Artik Ilm Has Penelit Mhs.* 2014.
19. Berti PL. Daya Antibakteri Air Perasan Buah Lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.f.) terhadap *Porphyromonas gingivalis* Dominan Periodontitis (In Vitro). *Univ Muhammadiyah Surakarta.* 2015.
20. Karima AM. Uji Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Kayu Siwak (*Salvadora persica*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Porphyromonas gingivalis* Penyebab Gingivitis In Vitro. *Univ Muhammadiyah Surakarta.* 2015.
21. Bartlett JG. Antibiotic Selection for Infections Involving Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *medscape.* http://www.medscape.org/viewarticle/478151_1. Published 2004. Accessed June 13, 2016.