



UNIVERSITAS INDONESIA

PENGARUH SEROTIPE C *STREPTOCOCCUS MUTANS*
TERHADAP TINGKAT KEASAMAN PLAK DAN SALIVA
PADA PENDERITA RESESI GINGIVA DENGAN
HIPERSENSITIF DENTIN
(Analisis Menggunakan *Real Time PCR*)

TESIS

Albert

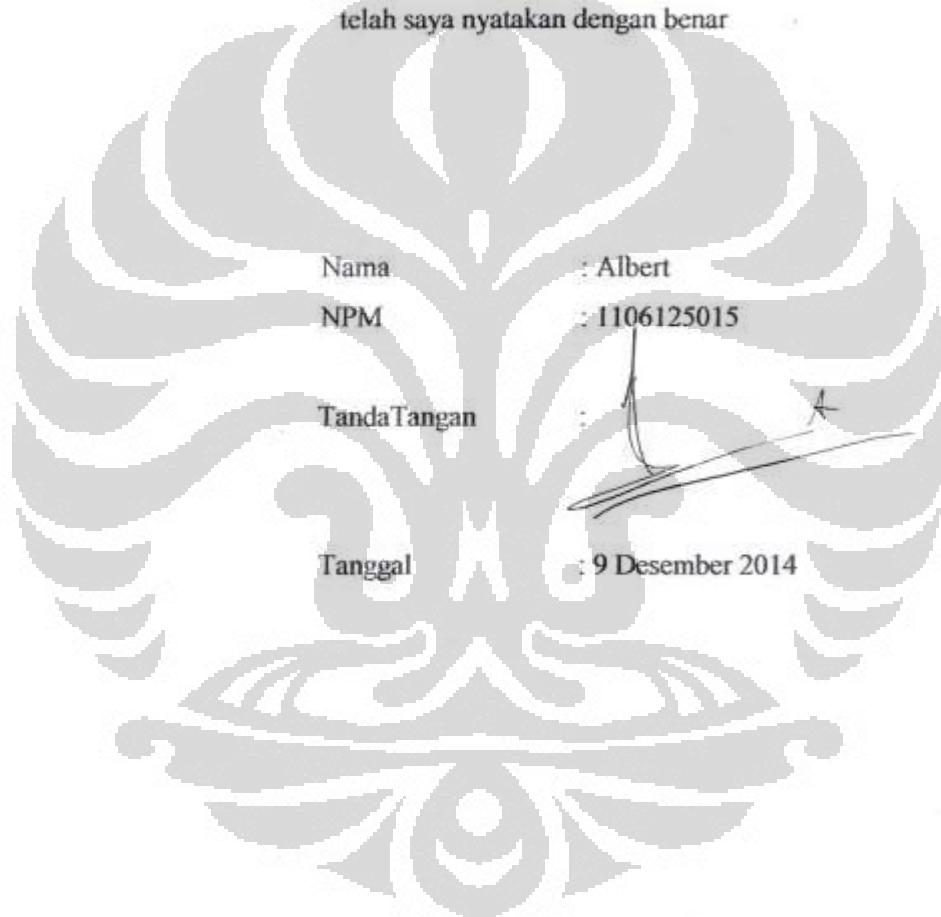
110 612 5015

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar spesialis

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS INDONESIA
PROGRAM SPESIALIS PERIODONIA
JAKARTA
DESEMBER 2014

PERNYATAAN ORISINALITAS

Tesis ini adalah hasil karya saya sendiri,
dan semua sumber **baik** yang dikutip maupun dirujuk
telah saya nyatakan dengan benar



LEMBAR PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh

Nama : Albert
NPM : 1106125015
Program Studi : Periodonsia
Judul Tesis : Pengaruh Serotipe C *Streptococcus Mutans* Terhadap Tingkat Keasaman Plak dan Saliva pada Penderita Hipersensitif Dentin
(Analisis Menggunakan *Real Time PCR*)

Telah berhasil dipertahankan di hadapan dewan Penguji dan diterima sebagai persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Dokter Gigi Spesialis Periodonsia pada Program Studi Spesialisasi Periodonsia Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dr. Sri Lelyati, drg., SU., Sp.Perio(K)
dan Penguji 

Pembimbing II : Robert Lessang, drg., Sp.Perio(K)
dan Penguji 

Ketua Penguji : Dr. Yuniarti Soeroso, drg., Sp.Perio (K) 

Anggota Penguji : Yulianti Kemal, drg., Sp.Perio(K) 

Anggota Penguji : Hari Sunarto, drg., Sp. Perio (K) 

Ditetapkan di : Jakarta
Tanggal : 9 Desember 2014

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan yang sebesar-besarnya kepada Tuhan Yang Maha Esa karena atas berkat, rahmat dan bimbingannya, penulis dapat menyelesaikan tesis yang merupakan salah satu persyaratan pencapaian gelar Spesialis Periodontia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia. Penulis juga ingin mengucapkan terima kasih sedalam-dalamnya kepada seluruh pihak yang telah memberikan bantuan, motivasi serta semangat dalam perjalanan studi, yaitu:

1. Dr. Sri Lelyati, drg., SU., Sp.Perio(K) sebagai dosen pembimbing I yang dengan sabar meluangkan waktu, ilmu, pikiran, serta tenaga untuk membimbing penulis selama masa penelitian dan studi.
2. Robert Lessang, drg., Sp.Perio(K) sebagai dosen pembimbing II atas bimbingan, masukan, perhatian, pengertian dan waktu yang diberikan ditengah kesibukannya kepada penulis selama menyusun tesis penelitian.
3. Hari Sunarto, drg., Sp.Perio(K) sebagai Kepala Departemen Periodontia dan Pembimbing Akademik yang telah memberikan ijin dan motivasi serta semangat kepada penulis dalam menjalani penelitian dan studi.
4. Dr. Yuniarti Soeroso, drg., Sp.Perio (K), Yulianti Kemal, drg., Sp.Perio(K), Hari Sunarto, drg., Sp. Perio (K), selaku Tim Penguji dalam sidang Tesis atas bimbingan, koreksi serta sarannya selama ini sehingga penelitian ini dapat bermanfaat bagi banyak pihak.
5. Seluruh staf pengajar Departemen Periodontia lainnya, Prof. Siti Wuryan, drg., SKM., MScD., PhD., Sp.Perio(K), Robert Lessang, drg., Sp.Perio(K), Irene Sukardi, drg., Sp.Perio(K), Natalina, drg., Sp.Perio(K), Fatimah Tadjoedin, drg., Sp.Perio, Felix Hartono, drg., Sp.Perio, Antonius Irwan, drg., Sp.Perio, dan Yudha Rismanto, drg., Sp.Perio, atas bimbingannya serta inspirasinya bagi penulis.
6. Fadli G, drg., Sp.Ort selaku Direktur Rumah Sakit Khusus Gigi dan Mulut (RSKGM) Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia atas kesempatan dan ijinnya sehingga penulis saat melaksanakan penelitian di RSGM FKG UI.
7. Prof. Boy M. Bachtiar, drg., MS., Ph.D, yang telah mengizinkan penulis untuk melakukan penelitian di Laboratorium Biologi Oral FKG UI.

8. Orang tua penulis: ayahanda Rudy L dan ibunda Linda W yang telah memberikan dorongan semangat dan kasih sayang yang tidak terhingga kepada penulis selama masa studi dan khususnya dalam masa penulisan tesis ini, juga penulis sampaikan kepada saudara penulis Yuliana dan keluarga atas doa serta dukungannya kepada penulis.
9. Angelina Jesslyn SE dan keluarga atas dukungan, semangat dan doa yang diberikan kepada penulis selama ini.
10. Sahabat Johnson Petric, drg., Adityo W., drg., Ricky, drg., Sp.Perio, Astri, drg. Sp.Perio Dr.Wita Anggraeni, drg., Sp.Perio., Ine Ayu, drg., Marie Louisa, drg., Nadhia A. Harsas, drg., Edward Setiadi, drg., Cut Intan, drg., Desy dan May yang telah membantu dalam penelitian di laboratorium Oral Biologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia
11. Teman-teman PPDGS Periodonsia angkatan 2009- 2014, 2009. Juga teman-teman Iperdokan yang selalu memberi kebahagiaan di kala susah dan senang.
12. Pak Satimin, Bu Sumarni, Mbak Leni, Mbak Lia, Mba May, dan Mba Dessy. Terima kasih atas bantuannya kepada penulis selama masa studi dan penulisan tesis ini.
13. Seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu dan telah membantu penulis selama menjalankan masa studi di FKG UI. Semoga amal anda dibalas oleh Tuhan YME.

Jakarta, Juni 2014

Penulis

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai civitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan dibawah ini

Nama	:	Albert
NPM	:	1106125015
Program Studi	:	Periodontia
Departemen	:	Periodontia
Fakultas	:	Kedokteran Gigi
Jenis karya	:	Tesis

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Non ekslusif (*Non-exclusive Royalty-Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul:

Pengaruh Serotipe C *Streptococcus Mutans* Terhadap Tingkat Keasaman Plak dan Saliva pada Penderita Hipersensitif Dentin
(Analisis Menggunakan *Real Time PCR*)

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Non-eksklusif ini, Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengahli media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di Jakarta

Pada tanggal : 9 Desember 2014

Yang menyatakan,

(Albert)

ABSTRAK

Nama	: Albert
Program Studi	: Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Periodonsia
Judul Tesis	: Pengaruh Serotipe C <i>Streptococcus Mutans</i> terhadap Tingkat Keasaman Plak dan Saliva pada Penderita Resesi Gingiva dengan Hipersensitif Dentin (Analisis Menggunakan <i>Real Time PCR</i>)

Latar Belakang: Hipersensitif dentin dipengaruhi oleh akumulasi plak pada permukaan gigi dan penetrasi bakteri pada tubulus dentin. **Tujuan:** Menganalisis proporsi serotipe c *Streptococcus mutans* dan tingkat keasaman di dalam plak dan saliva penderita resesi gingiva yang hipersensitif dentin dengan penderita resesi gingiva yang non hipersensitif. **Metode:** Tiga puluh enam sampel plak dan saliva dibagi dalam dua kelompok yaitu kelompok hipersensitif dan non hipersensitif. Dilakukan ekstrak DNA sampel, pengukuran pH sampel dan evaluasi amplifikasi serotipe c *Streptococcus mutans* dengan alat *Real Time PCR*. **Hasil:** Proporsi serotipe c *Streptococcus mutans* di dalam plak dan saliva tidak berbeda pada penderita resesi gingiva dengan hipersensitif dentin maupun non hipersensitif. **Kesimpulan:** Proporsi serotipe c *Streptococcus mutans* plak dan saliva tidak mempengaruhi hipersensitif dentin.

Kata Kunci : *Hipersensitif dentin, serotipe c Streptococcus mutans,*

ABSTRACT

Name : Albert
Study Program : Periodontology
Title : Effect of serotype C Streptococcus mutans for Plaque and Saliva Acidity Levels in Gingival Recession with Dentin Hypersensitivity
(Analysis Using Real Time PCR)

Background: dentin hypersensitivity is affected by the accumulation of plaque on the tooth surface and penetration of bacteria in the dentinal tubules.

Objective: To analyze the proportion of serotype c Streptococcus mutans and the level of acidity in plaque and saliva of patients with hypersensitive dentin and non hypersensitive. **Methods:** Thirty-six plaque and saliva samples were divided into two groups: the hypersensitive and non-hypersensitive. Extract the sample DNA, measure the acidity levels and evaluate serotype c Streptococcus mutans amplification with Real Time PCR. **Results:** The proportion of serotype c Streptococcus mutans in plaque and saliva is not significantly different in the patients with gingival recession both hypersensitive and non-hypersensitive,

Conclusions: The proportion of serotype c Streptococcus mutans in plaque and saliva are equally well both in hypersensitive and non hypersensitive cases.

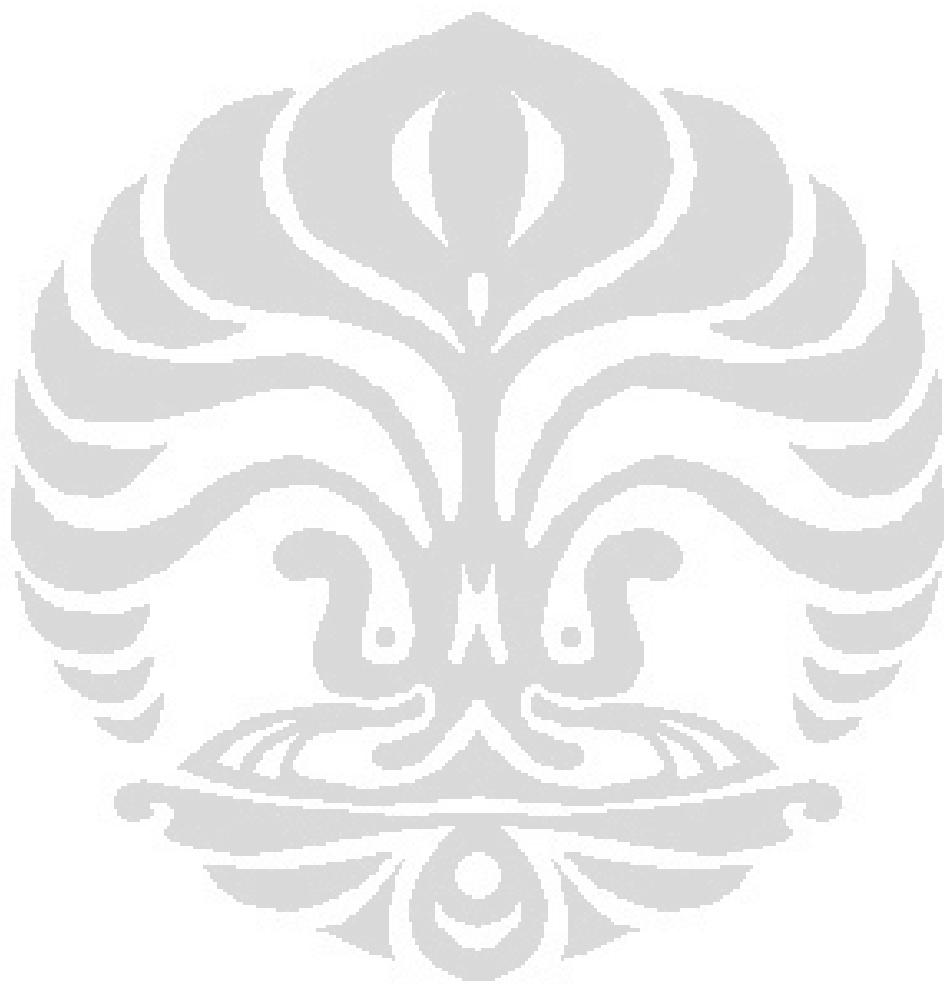
keyword : *hypersensitive dentin, serotype c Streptococcus mutans,*

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINILITAS	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
UCAPAN TERIMA KASIH	v
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	viii
ABSTRAK	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah Penelitian	3
1.2.1 Masalah Umum	3
1.2.2 Masalah Khusus	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.5 Originalitas Penelitian	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Dentin Hipersensitif	6
2.2 Etiologi Dentin Hipersensitif	6
2.3 <i>Streptococcus mutans</i>	8
2.4 Plak	9
2.5 Saliva	10
2.6 Resesi Gingiva	11

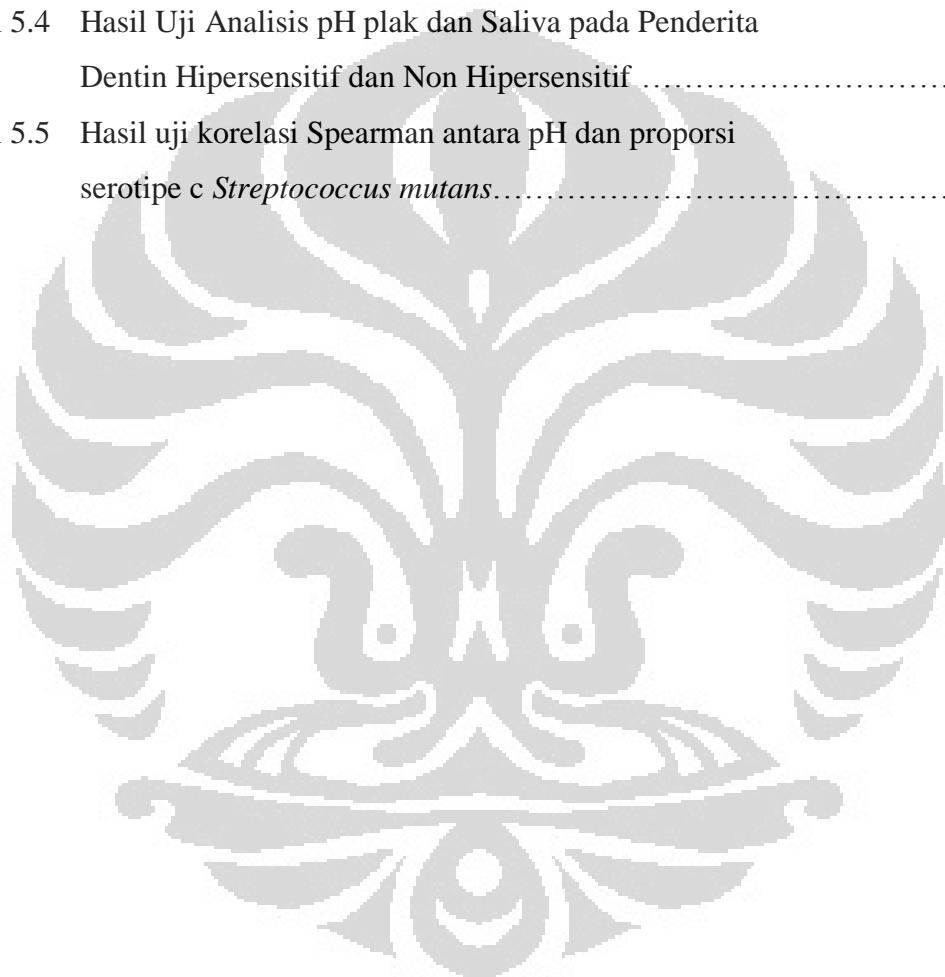
2.7 Real Time PCR	12
2.8 Kerangka Teori	14
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS.....	15
3.1 Kerangka Konsep	15
3.2 Hipotesis	15
3.2.1 Hipotesis Mayor	15
3.2.2 Hipotesis Minor.....	15
BAB 4 METODE PENELITIAN.....	17
4.1 Desain Penelitian.....	17
4.2 Alir Penelitian.....	17
4.3 Waktu dan Tempat Penelitian.....	18
4.4 Sampel dan Subjek Penelitian	18
4.5 Kriteria Penelitian	18
4.6 Besar Sampel	19
4.7 Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional.....	19
4.8 Bahan dan Alat Penelitian.....	21
4.9 Cara Kerja	22
4.9.1 Pemeriksaan Dentin Hipersensitif dan Dentin Non Hipersensitif	22
4.9.2 Pemeriksaan Skor Plak.....	23
4.9.3 Pengambilan Sampel Plak	23
4.9.4 Pengambilan Sampel Saliva.....	23
4.9.5 Penimbangan Berat Sampel Plak dan Saliva	23
4.9.6 Pengukuran PH Sampel Plak dan Saliva	24
4.9.7 Ekstrak DNA	24
4.9.8 Spektrofotometri	25
4.9.9 Kultur dan Ekstrak DNA Bakteri <i>Streptococcus Mutans</i> Serotype C	25
4.9.10 Amplifikasi Bakteri Menggunakan <i>Real Time PCR</i>	26
4.9.11 Penghitungan Proporsi Serotype C <i>Streptococcus Mutans</i>	27
4.10 Analisis Data	28
4.11 Masalah Etika	28

BAB 5 HASIL PENELITIAN	29
BAB 6 PEMBAHASAN	34
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN.....	39
DAFTAR REFERENSI	40
LAMPIRAN	41



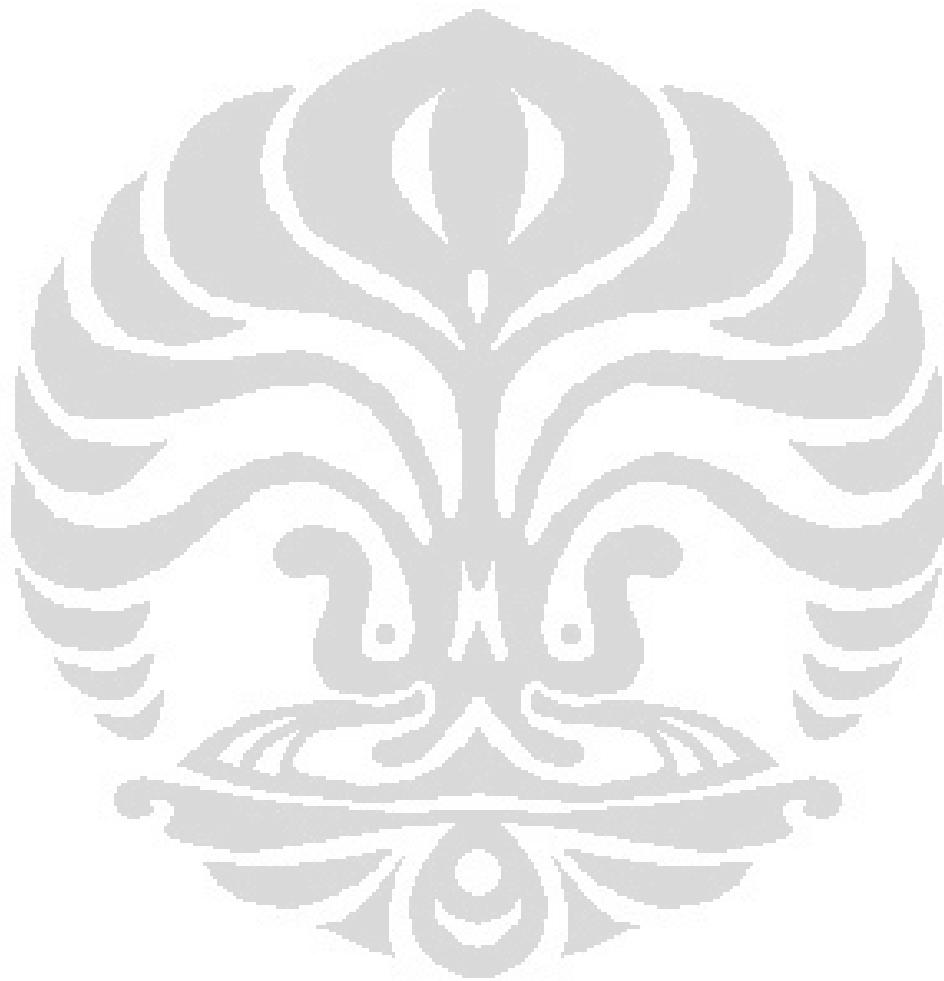
DAFTAR TABEL

Tabel 4.1	Definisi Operasional.....	20
Tabel 4.2	Primers yang digunakan pada <i>Real Time PCR</i>	27
Tabel 5.1	<i>Shapiro-Wilk Test</i> Digunakan untuk Uji Normalitas data Numerik Penelitian.....	30
Tabel 5.2	Data Deskriptif Parameter Penelitian	30
Tabel 5.4	Hasil Uji Analisis pH plak dan Saliva pada Penderita Dentin Hipersensitif dan Non Hipersensitif	32
Tabel 5.5	Hasil uji korelasi Spearman antara pH dan proporsi serotipe c <i>Streptococcus mutans</i>	32



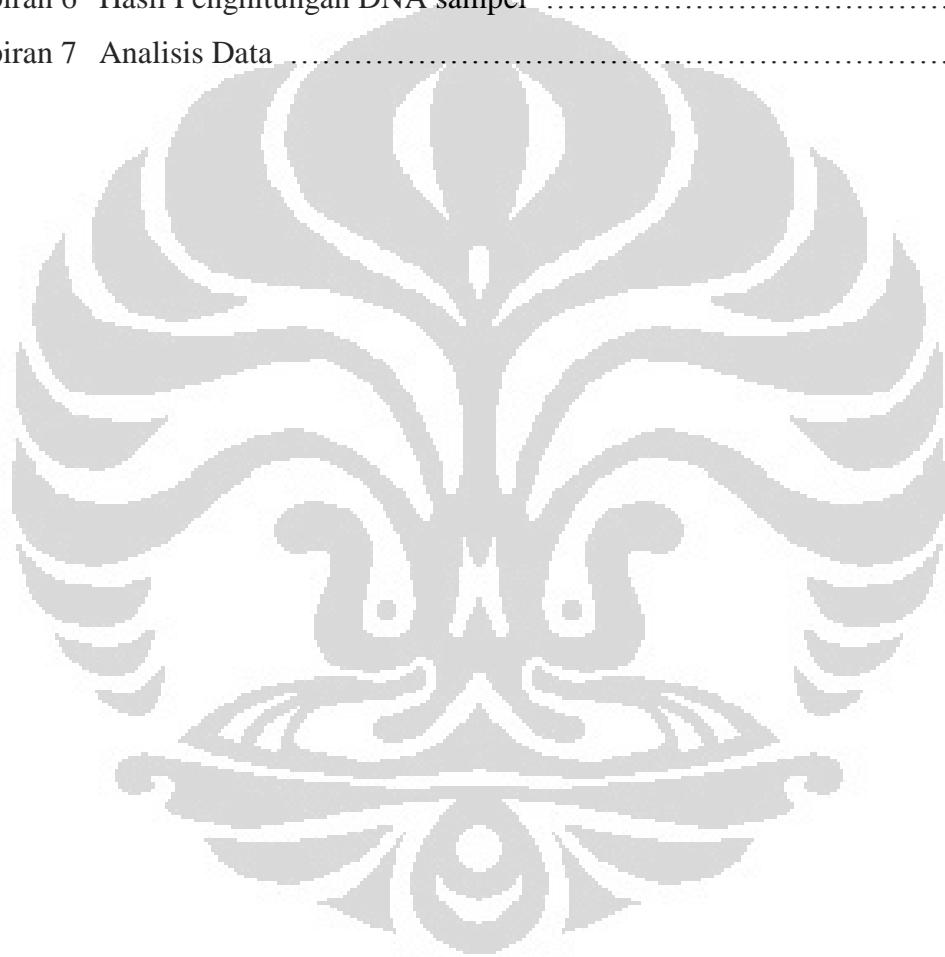
DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Kurva Amplifikasi <i>Real Time PCR</i>	13
Gambar 2.2 Kerangka Teori.....	14
Gambar 3.1 Kerangka Konsep	15
Gambar 4.1 Alir Penelitian	17



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Surat Keterangan Komisi Etik Penelitian FKG UI	41
Lampiran 2	Lembar Pengumuman	42
Lampiran 3	Penjelasan bagi Subjek Penelitian	44
Lampiran 4	Lembar Persetujuan	46
Lampiran 5	Lembar Pemeriksaan Klinis	47
Lampiran 6	Hasil Penghitungan DNA sampel	48
Lampiran 7	Analisis Data	50



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hipersensitivitas dentin adalah peningkatan sensitivitas dentin yang menimbulkan rasa sakit (dentalgia) terjadi pada dentin akar gigi yang terbuka karena adanya rangsangan dari luar seperti taktil, panas, dingin, kimiawi serta osmotik. Hal ini dapat terjadi karena resesi gingiva, restorasi yang sudah tidak baik maupun karena karies yang mencapai dentin sehingga dentin terbuka.

Faktor etiologi seperti penggunaan teknik sikat gigi yang salah, malposisi gigi-geligi, ablasi gingiva, inflamasi gingiva, dan perlekatan frenulum yang tidak normal dapat menyebabkan timbulnya resesi gingiva. Pergerakan ortodonti ke arah labial pada penelitian yang menggunakan kera sebagai hewan percobaan menunjukkan adanya kehilangan tulang marginal dan perlekatan jaringan ikat, seperti yang terjadi pada resesi gingiva.¹ Berbagai pengaruh faktor etiologi mempengaruhi terjadinya demineralisasi sehingga menyebabkan terbukanya tubulus dentin dan terjadi dentin hipersensitif.^{2,3}

Resesi gingiva dapat didefinisikan sebagai keadaan terbukanya permukaan akar gigi karena pergerakan gingiva ke arah apikal.⁴ Dalam keadaan normal, posisi margin gingiva terletak satu sampai tiga milimeter ke arah koronal dari *sementoenamel junction* dan bagian akar gigi ditutupi seluruhnya oleh jaringan gingiva. Gigi prominen dengan jaringan periodontal yang tipis rentan terhadap terjadinya resesi gingiva,⁵ terutama bila terjadi inflamasi gingiva.⁶ Akar gigi yang terlihat dapat menyebabkan terjadinya hipersensitivitas dentin maupun gangguan estetis bagi pasien dan dapat dilakukan penutupan dengan berbagai terapi bedah mukogingiva.

Prevalensi dentin hipersensitif yang tinggi pada penderita penyakit periodontal mungkin menggambarkan etiologi yang berbeda, bakteri dilaporkan berpenetrasi ke dalam dentin hingga jauh sekali. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Orchardson dan Collins, dentin hipersensitif dapat dijumpai pada semua jenis

gigi, tapi yang paling sering adalah pada gigi kaninus (25%) dan premolar pertama (24%), terutama pada permukaan bukal (93%).⁷ Berdasarkan literatur, selain hal di atas, sejumlah orang yang memiliki risiko mengalami dentin hipersensitif adalah penderita bulimia, orang dengan serostomia, mengkonsumsi makanan atau minuman dengan kadar asam yang tinggi serta merokok dengan pipa.⁸

S. mutans di dalam plak gigi akan menghasilkan sejumlah besar asam selama metabolisme karbohidrat. Sifat toleran terhadap asam memudahkannya bertahan pada lingkungan pH plak yang rendah dan dihubungkan dengan virulensi *S. mutans*.⁹ Bakteri ini bersifat asidogenik yaitu menghasilkan asam dan asidurik yaitu mampu hidup pada lingkungan asam.¹⁰ Bakteri ini mampu merusak tubulus dentin.¹¹ Produk asam yang dihasilkan oleh bakteri dapat menyebabkan demineralisasi pada akar gigi yang berperan dalam terjadinya sensitivitas.⁸ *S. mutans* terdiri dari tiga serotipe, yaitu serotipe *c*, *e* dan *f*, dimana serotipe *c* lebih asidurik dibandingkan yang lain. Serotipe *c* jika diinkubasi pada pH 7,0 dapat mengubah sukrosa dan karbohidrat lain menjadi asam.¹²

Penelitian ini dilakukan untuk mengkonfirmasi penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, dimana hasil penelitian yang pernah dilakukan menunjukkan jumlah serotipe *c* *S. mutans* lebih banyak pada penderita resesi gingiva dengan dentin hipersensitif daripada dentin non sensitif, namun pada saliva ditemukan jumlah serotipe *c* *S. mutans* lebih sedikit pada penderita resesi gingiva dengan hipersensitivitas dentin daripada dentin non sensitif.¹² Penelitian yang dilakukan Alvin M. pada tahun 2013, menunjukkan adanya perbedaan secara kuantitatif dari ekspresi mRNA luxS pada *S. mutans* antara dentin hipersensitif dan dentin non sensitif.¹³ Penulis ingin melakukan penelitian lanjutan untuk menganalisis proporsi serotype *c* *S. mutans* dan dihubungkan dengan tingkat keasaman pada plak dan saliva pada dentin hipersensitif dan non hipersensitif.

1.2 RUMUSAN MASALAH

1.2.1 Masalah Umum

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, dapat dirumuskan masalah penelitian ini adalah:

Apakah ada perbedaan jumlah serotipe c *Streptococcus mutans* dan tingkat keasaman di dalam plak dan saliva antara penderita resesi gingiva yang hipersensitif dentin dengan penderita resesi gingiva yang non hipersensitif ?

1.2.2 Masalah Khusus

- 1.2.2.1 Apakah ada perbedaan proporsi serotipe c *Streptococcus mutans* di dalam plak pada penderita resesi gingiva antara yang hipersensitif dengan yang non sensitif?
- 1.2.2.2 Apakah ada perbedaan proporsi serotipe c *Streptococcus mutans* di dalam saliva pada penderita resesi gingiva antara yang hipersensitif dengan yang non sensitif?
- 1.2.2.3 Apakah ada perbedaan tingkat keasaman plak pada penderita resesi gingiva antara yang hipersensitif dengan yang non hipersensitif ?
- 1.2.2.4 Apakah ada perbedaan tingkat keasaman saliva pada penderita resesi gingiva antara yang hipersensitif dengan yang non hipersensitif ?
- 1.2.2.5 Apakah ada hubungan penurunan tingkat keasaman plak dengan proporsi serotipe c *Streptococcus mutans*?
- 1.2.2.6 Apakah ada hubungan penurunan tingkat keasaman saliva dengan proporsi serotipe c *Streptococcus mutans*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Menganalisis jumlah serotipe c *Streptococcus mutans* dan tingkat keasaman di dalam plak dan saliva penderita resesi gingiva yang hipersensitif dentin dengan penderita resesi gingiva yang non hipersensitif

1.3.2 Tujuan Khusus

- 1.3.2.1 Menganalisis perbedaan proporsi serotipe c *Streptococcus mutans* di dalam plak pada penderita resesi gingiva antara yang hipersensitif dengan yang non sensitif.
- 1.3.2.2 Menganalisis perbedaan proporsi serotipe c *Streptococcus mutans* di dalam saliva pada penderita resesi gingiva antara yang hipersensitif dengan yang non sensitif.
- 1.3.2.3 Menganalisis perbedaan tingkat keasaman plak antara penderita resesi gingiva yang hipersensitif dan yang non hipersensitif .
- 1.3.2.4 Menganalisis perbedaan tingkat keasaman saliva antara penderita resesi gingiva yang hipersensitif dan yang non hipersensitif ?
- 1.3.2.5 Menganalisis hubungan penurunan tingkat keasaman plak dengan proporsi serotipe c *Streptococcus mutans*.
- 1.3.2.6 Menganalisis hubungan penurunan tingkat keasaman saliva dengan proporsi serotipe c *Streptococcus mutans*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat untuk Ilmu Pengetahuan

Menambah pengetahuan mengenai serotipe c *S. mutans* yang berperan dalam peningkatan derajat keasaman yang memicu terjadinya dentin hipersensitif dan non sensitif.

1.4.2 Manfaat secara Klinis

Bila dijumpai adanya perbedaan tingkat keasaman yang ditimbulkan akibat dari serotipe c *S. mutans* dari plak gigi dan saliva dentin hipersensitif sensitif

dan non sensitif, maka dapat ditentukan metode perawatan yang tepat terhadap dentin hipersensitif.

1.4.3 Manfaat untuk Masyarakat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumbangsih dalam perawatan periodontal di Indonesia.

1.5 Originalitas Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan dari penelitian yang dilakukan Saputri D (2012). Pada penelitian ini, peneliti menambahkan jumlah sampel dan menganalisa hubungan serotipe c Streptococcus mutans dengan tingkat keasaman yang tidak pernah dilakukan sebelumnya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Dentin Hipersensitif

Hipersensitivitas dentin merupakan masalah yang sangat umum ditemukan pada pasien yang memiliki kelainan periodontal. Hal tersebut terjadi karena resesi dari gingiva maupun pembentukan poket pada daerah akar gigi, dapat timbul akibat efek setelah skeling, penghalusan akar dan prosedur bedah. Hipersensitivitas dapat diartikan sebagai sensasi sakit yang timbul akibat rangsang panas dan dingin, lebih sering akibat rangsang dingin, makanan yang asam dan manis, ataupun akibat kontak langsung dengan sikat gigi dan instrument kedokteran gigi.

Hipersensitivitas dentin terjadi pada pasien dengan atau tanpa penyakit periodontitis. Periodontitis adalah suatu penyakit periodontal yang disertai pembentukan poket dengan atau tanpa kehilangan perlekatan klinis. Pada keadaan resesi gingiva, *junctional epithelium* mengalami migrasi ke arah apikal sebagai akibat hilangnya perlekatan antara jaringan ikat dengan tulang alveolar, dan pembentukan poket.¹⁴

Hipersensitivitas dentin lebih sering terjadi pada daerah servikal gigi, dimana lapisan sementum sangat tipis. Tindakan berupa skeling dan penghalusan akar dapat mengeliminasi lapisan sementum yang tipis ini dan menimbulkan hipersensitivitas. Perpindahan stimulus dari permukaan dentin menuju saraf yang terlokalisir pada pulpa gigi maupun daerah sekitar pulpa dapat terjadi selama proses *odontoblast* maupun terjadi akibat mekanisme hidrodinamik.¹⁴

Proses odontoblast adalah proses pembentukan dentin oleh sel odontoblast pada proses dentinogenesis, dimana sebagian sel odontoblast menetap pada tubulus dentin dan mendekati pulpa gigi

Hal yang penting dalam mengurangi maupun menghilangkan efek hipersensitivitas dentin adalah kontrol plak yang adekuat. Hipersensitivitas akan meningkat seiring dengan akumulasi plak pada gigi, karena plak pada daerah tubulus dentin sangat susah untuk dihilangkan.¹⁵

2.2 Etiologi Dentin Hipersensitif

Dentin merupakan bagian dari gigi yang ditutupi oleh enamel pada mahkota dan sementum pada akar. Dentin tersusun atas rangkaian tubulus yang terisi oleh cairan seperti cairan plasma, dengan diameter yang semakin kecil dan bercabang serta memanjang dari pulpa hingga batas dentin-enamel. Tubulus dentin merupakan pintu gerbang bagi stimulus yang memancar hingga ke pulpa. Dimasuki oleh serabut saraf dari kamar pulpa dengan proses *odontoblast* yang meluas ke dalam tubulus dentin.¹⁶ Diameter tubulus menjadi lebih kecil sesuai dengan pertambahan usia.⁸

Dentin hipersensitif dapat timbul karena permukaan dentin yang terbuka, hal tersebut terjadi karena hilangnya permukaan enamel maupun sementum yang ada. Enamel lebih sedikit kemungkinannya untuk mengalami demineralisasi jika dibandingkan dengan sementum karena mengandung kadar mineral yang lebih tinggi. Hilangnya permukaan sementum dan enamel dapat terjadi karena penyakit periodontal kronis dan penuaan yang memicu timbulnya resesi gingiva, kebiasaan buruk pasien yang menyebabkan gigi mengalami abrasi dan teknik penyikatan gigi yang salah.³

Resesi gingiva merupakan salah satu faktor yang dapat memicu timbulnya dentin hipersensitif. Resesi gingiva dapat terjadi akibat penyakit periodontal yang pada akhirnya menimbulkan kehilangan perlekatan. Teknik penyikatan gigi yang salah juga dapat menyebabkan timbulnya resesi gingiva. Namun penyakit periodontal lebih sering menyebabkan resesi gingiva jika dihubungkan dengan penyikatan gigi.¹⁷

Salah satu penyebab hipersensitivitas dentin adalah suasana asam yang terjadi pada daerah resesi gingiva dipengaruhi oleh bakteri yang terdapat pada resesi. Hipersensitivitas dentin yang timbul karena adanya bakteri *S. mutans* yang dapat diartikan sebagai penurunan derajat keasaman yang timbul karena substansi yang dihasilkan oleh bakteri yang menetap pada dentin dan menyebabkan hipersensitivitas dentin.¹⁵

Terjadinya hipersensitif dentin dilandasi oleh dua macam teori. Teori neural menjelaskan bahwa rasa sakit timbul akibat pelepasan depolarisasi pada aktifitas saraf. Pengeluaran potassium dan masuknya sodium ke dalam sel saraf menimbulkan reaksi hipersensitif dentin.

Teori hidrodinamik oleh Brannstrom, dkk., adalah teori yang paling diterima secara luas. Teori ini mengungkapkan pergerakan cairan di dalam tubulus dentin yang terbuka memberikan sinyal terhadap saraf di dalam ruang pulpa. Hal ini dapat terjadi akibat rangsang suhu, taktil, perubahan tekanan osmosis yang merangsang baroreseptor dan menyebabkan rangsang pada saraf. Tubulus dentin yang terbuka menyebabkan hipersensitif dentin karena cairan masuk dan mengisi ruang tubulus dentin yang melintas pada ruang pulpa.¹⁸

2.3 *Streptococcus mutans*

Pada tahun 1974, Clark mengisolasi *S. mutans* yang merupakan bakteri yang paling banyak ditemukan pada lesi karies manusia. *S. mutans* masuk dalam kerajaan Bacterian divisi *Firmicutes*, kelas *Bacilli*, ordo *Lactobacillales*, familia *Streptococcaceaceae* dan genus *S.* yang merupakan kumpulan dari sel-sel berbentuk bulat atau oval yang tersusun seperti rantai atau berpasang-pasangan.¹⁹

S. mutans adalah bakteri yang memiliki dinding sel yang terdiri atas lapisan peptoglikan yang tebal dan asam teichoic, sehingga bila diberikan pewarnaan gram akan positif dan menghasilkan warna ungu.²⁰

Pertumbuhan mikroorganisme dalam rongga mulut dipengaruhi oleh suhu, keadaan kandungan oksigen, pH, ketersediaan nutrisi yang cukup, adhesi dan aglutinasi. Suhu dalam rongga mulut relatif konstan yaitu sebesar 35-36 derajat celcius sehingga cocok untuk pertumbuhan dan metabolism mikroorganisme. Keadaan oksigen sebesar 20% dalam rongga mulut memberikan keuntungan bagi organisme fakultatif anaerob dan obligat anaerob untuk dapat hidup. Selain itu pH dalam ronggmulut sebesar 6,75 – 7,25 juga cocok bagi mikroorganisme untuk tumbuh karena sebagian besar mikroorganisme sensitif terhadap alkali atau asam radikal.²⁰

S. mutans tumbuh optimal pada suhu 37 derajat Celcius dengan pH 6,8-7,4. Pada suhu 60 derajat Celcius, *S. mutans* dapat tetap bertahan hidup selama 30 menit tetapi kemudian akan mati pada suhu 55 derajat celcius. Pada lingkungan dengan pH = 4,3 (asam), *S. mutans* dapat bertahan hidup (asidurik). Sebagian besar (95%) atau lebih glukosa diubah oleh *S. mutans* menjadi asam (asidogenik), yaitu asam laktat dan

sisanya diubah menjadi asam asetat dan CO_2 sehingga merupakan bakteri homofermentatif.²¹

S. mutans memiliki kemampuan untuk membentuk biofilm yang dikenal dengan plak pada permukaan gigi. Di dalam plak gigi, *S. mutans* menghasilkan sejumlah besar asam selama metabolisme karbohidrat. Produk asam yang dihasilkan oleh bakteri dapat menyebabkan demineralisasi akar yang berperan dalam terjadinya hipersensitivitas dentin.⁸

Penelitian ini menganalisis serotype c *S mutans* karena serotype c bersifat paling asidurik dan asidogenik, selain itu juga mendominasi 70-80% dari keseluruhan serotype dalam sampel plak.²²

2.4 Plak

Plak gigi dapat didefinisikan sebagai endapan lunak dalam bentuk biofilm yang menempel pada permukaan gigi dan permukaan jaringan keras lainnya dalam rongga mulut, termasuk restorasi cekat maupun lepasan. Plak pada permukaan gigi dibedakan dengan bagian lain yaitu materia alba dan kalkulus. Materia alba merupakan akumulasi lunak yang terdiri atas bakteri dan jaringan yang terdapat pada dental plak dan mudah dibersihkan dengan semprotan air. Kalkulus adalah deposit keras yang terbentuk akibat mineralisasi dari dental plak dan dilapisi oleh lapisan plak yang belum termineralisasi. Dental plak dapat diklasifikasikan sebagai plak supragingiva dan plak subgingiva dilihat dari posisinya pada permukaan gigi.

Plak supragingiva terdapat pada daerah diatas margin gingiva, plak yang terdapat pada margin gingiva disebut plak marginal. Plak subgingiva ditemukan dibawah margin gingiva, diantara gigi dan disekeliling gingiva. Perbedaan letak plak menimbulkan efek yang berbeda terhadap gigi maupun jaringan periodontal. Sebagai contoh, plak yang terdapat pada margin gingiva memegang peranan penting dalam terjadinya penyakit gingivitis. Plak supragingiva merupakan penyebab timbulnya kalkulus dan karies, plak yang terdapat pada jaringan berperan terhadap timbulnya kerusakan jaringan lunak yang merupakan bentuk lain dari periodontitis, salah satunya adalah resesi gingiva dan dapat menyebabkan hipersensitivitas dentin.

Plak dental terdiri atas mikroorganisme, dimana satu gram plak (dalam keadaan basah) terdiri atas kira-kira 2×10^{11} bakteri.²³ Penelitian terhadap plak yang

diisolasi dan diidentifikasi pada laboratorium menunjukkan bahwa pada dental plak ditemukan lebih dari 500 species bakteri.²⁴ Penelitian terbaru yang dilakukan dengan pendekatan molekuler untuk identifikasi bakteri menunjukkan bahwa 30% mikroorganisme yang ditemukan pada kasus gingivitis adalah yang tidak dapat dibiakkan. Hal ini menunjukkan bahwa masih banyak mikroorganisme dalam plak yang belum dapat diidentifikasi.²⁵ Mikroorganisme bukan bakteri yang ditemukan pada plak antara lain spesies Mycoplasma, ragi, protozoa dan virus.²⁶

Mikroorganisme yang ditemukan pada matriks intraselluler juga mengandung sel inang seperti sel epitel, makrofag dan leukosit. Matriks intrasellular diperkirakan 20 sampai 30 % pada massa plak, terdiri atas bahan organik dan anorganik yang dihasilkan dari saliva, cairan servikal gingiva dan produk bakteri. Zat organik pada matriks terdiri atas polikasarida, protein, glikoprotein dan zat lipid. Glikoprotein dari saliva merupakan komponen penting dari pelikel yang sudah terlebih dahulu melapisi permukaan gigi bersih, namun pelikel ini juga berperan dalam pembentukan biofilm plak.¹⁴

Komponen anorganik dari plak didominasi oleh kalsium dan fosfor, yang berhubungan dengan mineral lainnya seperti sodium, potassium, dan fluoride. Sumber dari komponen anorganik plak supragingiva adalah saliva, bila jumlah mineral meningkat, massa plak diklasifikasi membentuk kalkulus. Kalkulus seringkali ditemukan pada daerah gigi geligi yang berdekatan dengan kelenjar saliva seperti permukaan lingual anterior mandibula dan permukaan bukal permukaan molar satu maksila. Hal tersebut terjadi karena kandungan mineral yang tinggi dari saliva pada daerah tersebut.¹⁴

2.5 Saliva

Saliva adalah hasil sekresi dari kelenjar yang secara konstan, lebih dari 90% dihasilkan oleh kelenjar parotis, kelenjar submandibularis dan kelenjar sublingualis. Sisa saliva diproduksi oleh kelenjar tambahan dan mencapai 8% dari total saliva.²⁴

Jenis sekresi dari setiap kelenjar ini berbeda tergantung pada kelenjar yang menghasilkannya. Saliva dari kelenjar parotis bersifat cair (serosa) karena konsentrasi unsur-unsur yang terdapat di dalamnya rendah, sedangkan saliva yang dihasilkan kelenjar submandibularis dan kelenjar sublingualis bersifat kental

(mukus). Saliva mengandung 99% air serta 1% protein dan ion. Jumlah dan susunan saliva ini berperan penting bagi kesehatan mulut.²⁷

Susunan kuantitatif dan kualitatif saliva menentukan pH dan kapasitas dapar saliva. Kapasitas dapar ini terutama ditentukan oleh susunan bikarbonat. Selain itu kapasitas dapar saliva dipengaruhi juga oleh perubahan irama siang dan malam, diet, serta perangsangan kecepatan sekresi. pH saliva akan tinggi pada keadaan istirahat dan saat stimulasi mekanik.

Saliva memegang peranan penting dalam mengurangi dentin hipersensitif secara alami. Saliva menyediakan kalsium dan fosfat yang dapat memasuki tubulus dentin yang terbuka dan menutup tubulus dari rangsangan luar. Saliva yang berkurang (hiposalivasi), merupakan faktor risiko terjadinya karies dan demineralisasi gigi yang dapat memperburuk sensitivitas. Saliva berperan dalam mencegah terjadinya demineralisasi dan juga meningkatkan remineralisasi.²⁸

2.6 Resesi Gingiva

Resesi adalah terbukanya permukaan akar karena perubahan posisi gingiva yang lebih ke apikal. Faktor etiologi resesi gingiva yaitu umur; insidensi bervariasi antara 8% pada anak-anak dan hingga 100% pada umur 50 tahun.²⁸ Hal ini mengacu pada dugaan resesi gingiva berhubungan dengan proses penuaan. Namun, bukti yang meyakinkan untuk perubahan posisi margin gingiva tidak pernah dikemukakan. Perubahan ke arah apikal yang terjadi sedikit demi sedikit dapat disebabkan oleh pengaruh patologis ataupun trauma yang berulang pada gingiva, namun pada populasi yang tidak mempunyai akses untuk perawatan gigi, resesi dapat timbul akibat penyakit periodontal.²⁹

Resesi gingiva adalah suatu keadaan dimana permukaan akar gigi terbuka akibat migrasi margin gingiva kearah apikal. Beberapa faktor risiko terjadinya resesi gingiva yaitu ; 1). Trauma, terutama disebabkan karena penyikatan gigi yang terlalu kuat, 2). Faktor anatomic, misalnya tinggi apikokoronal yang terlalu pendek dan berkurangnya ketebalan gingiva cekat dalam dimensi bukolingual sehingga resesi lebih sering terjadi pada permukaan bukal gigi. Kedalaman vestibulum yang rendah serta perlekatan frenulum yang terlalu tinggi, 3). Gigi yang malposisi, 4). Setelah perawatan ortodontia, pergerakan gigi kearah labial dapat menyebabkan gigi keluar

dari plat tulang labial. Resesi gingiva juga dapat disebabkan karena proses penuaan.¹⁶

Gejala awal resesi gingiva tidak selalu terlihat, prosedur terapi yang dilakukan seperti penggunaan piranti orthodonti dapat menyebabkan akar lebih menonjol pada lengkung rahang, ataupun penempatan gigi tiruan cekat yang terlalu subgingiva yang sebelumnya diisi oleh serat jaringan ikat, maupun daerah *attached* gingiva yang sangat sedikit kandungan keratin,³⁰ dapat mengarah terhadap timbulnya resesi gingiva yang membutuhkan koreksi berupa terapi bedah.

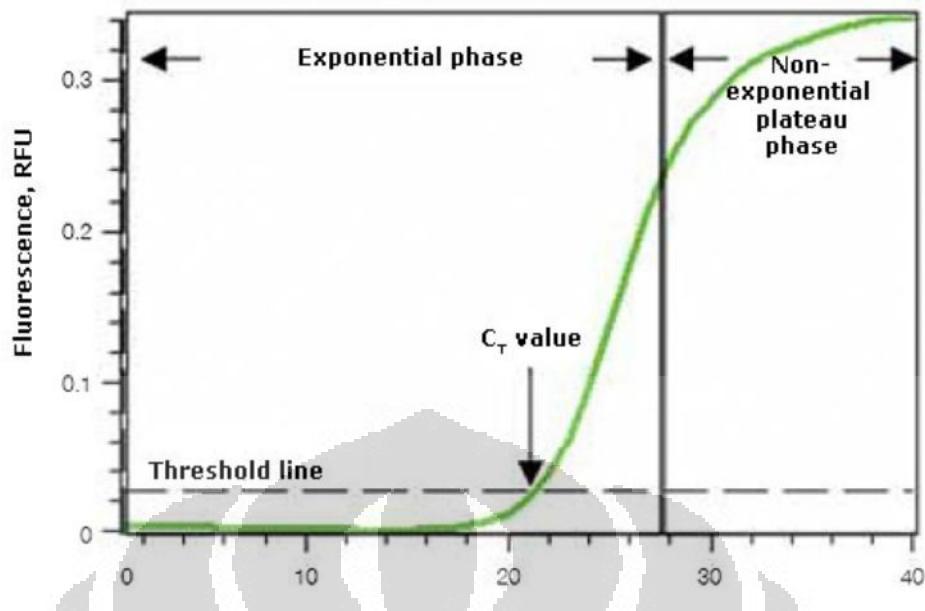
2.7 Real - Time Polymerase Chain Reaction

Real-Time Polymerase Chain Reaction atau *PCR* kuantitatif merupakan metode analisis kuantitatif yang digunakan untuk monitoring jumlah sel dan atau rasio bakteri pada spesimen rongga mulut, misalnya plak gigi atau saliva.³¹ Ada dua jenis *real-time PCR*, yaitu metode berbasis interkalator dan metode berbasis *probe*. Metode berbasis interkalator dikenal juga sebagai metode *SYBR Green*. *SYBR green* yang berikatan dengan DNA rantai ganda baru akan disintesis menghasilkan *PCR fluorescence* yang disebut amplikon *PCR*. Metode berbasis *probe* atau *TaqMan PCR*, lebih spesifik karena menggunakan *probe fluorogenic* yang mengikat hanya urutan yang lengkap dari amplikon *PCR* yang dihasilkan.³² Tingkat ekspresi dari semua gen yang diuji bagi *real-time PCR* biasanya menggunakan gen *S. mutans* 16S rRNA sebagai standar internal.³³

Prosedur *real-time PCR* mengikuti prinsip umum dari *PCR* konvensional. *PCR* merupakan reaksi penggandaan daerah tertentu dari DNA cetakan (*template*) dengan bantuan enzim DNA *polymerase*. *Polymerase Chain Reaction* dilakukan dengan menggunakan mesin *Thermal cycler* yang dapat menaikkan dan menurunkan suhu dalam waktu cepat sesuai kebutuhan siklus *PCR*. Komponen lain yang dibutuhkan dalam reaksi *PCR* adalah: *primer*, *dNTP*, *buffer* dan ion logam. *Primer* adalah sepasang DNA utas tunggal atau oligonukleotida pendek yang menginisiasi sekaligus membatasi reaksi pemanjangan rantai atau polimerisasi DNA. *Primer* dirancang untuk memiliki sekuen yang komplemen dengan DNA *template*, jadi dirancang agar menempel mengapit daerah tertentu yang kita inginkan. *Deoxynucleoside triphosphate (dNTP)* merupakan *building blocks* penyusun DNA

yang baru. *Deoxynucleoside triphosphate* terdiri atas 4 macam sesuai dengan basa penyusun DNA, yaitu *dATP*, *dCTP*, *dGTP* dan *dTTP*.

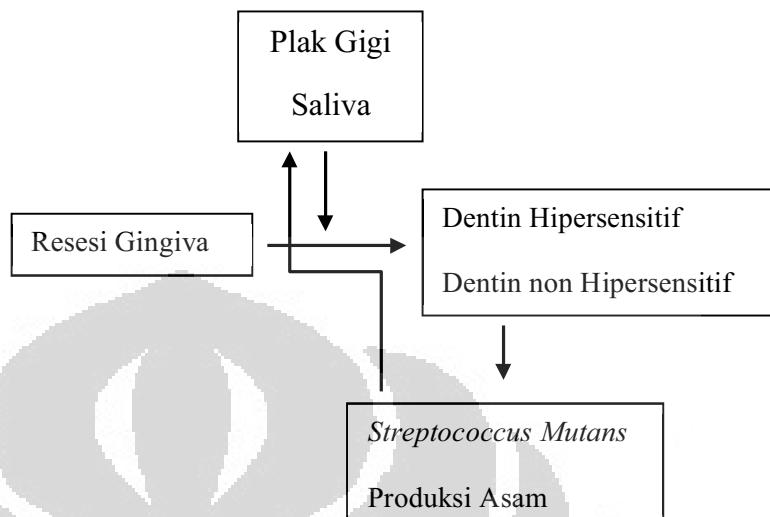
Siklus reaksi *PCR* terdiri dari tiga tahap, yaitu : 1). Denaturasi, dilakukan dengan pemanasan hingga 96°C selama 30-60 detik. Pada suhu ini DNA utas ganda akan memisah menjadi utas tunggal, 2). *Annealing*, setelah DNA menjadi utas tunggal, suhu diturunkan ke kisaran 40-60°C selama 20-40 detik untuk memberikan kesempatan bagi *primer* menempel pada DNA *template* di tempat yang komplementer dengan sekuen *primer*, 3). Ekstensi/ *elongasi*, dilakukan dengan menaikkan suhu ke kisaran suhu kerja optimum enzim DNA *polymerase*, biasanya 70-72°C. Pada tahap ini DNA *polymerase* akan memasangkan *dNTP* yang sesuai pada pasangannya, jika basa pada *template* adalah A, maka akan dipasang *dNTP*, begitu seterusnya (pasangan A adalah T, dan C dengan G, begitu pula sebaliknya). Pada tahap ini SYBR *Green* akan berikatan dengan DNA rantai ganda yang baru terbentuk dan memancarkan fluoresens. Intensitas fluoresens yang dihasilkan oleh SYBR *Green* adalah berupa nilai CT yang akan digunakan untuk menghitung jumlah rantai ganda DNA yang baru dihasilkan. Nilai CT didapatkan ketika DNA target teramplifikasi. Semakin besar jumlah DNA target, semakin cepat muncul pancaran fluoresens sehingga nilai CT akan lebih rendah. Nilai CT akan digunakan untuk menghitung hasil penelitian.



Gambar 2.1 Kurva Amplifikasi Real Time PCR

Sumbu horizontal pada gambar 2.5 diatas menggambarkan siklus dari *real time PCR* sedangkan sumbu vertikal menggambarkan proporsi fluoresens dari reaksi yang teramplifikasi. Ada dua fase terjadinya amplifikasi DNA pada *real time PCR*, yaitu fase eksponensial dan fase non eksponensial. Selama fase eksponensial, *real time PCR* dapat mengkuantifikasi produk secara tepat dan akurat, oleh karena itu *real time PCR* lebih akurat dibandingkan *PCR* konvensional yang mengkuantifikasi produk saat fase plateau. Ketika memasuki fase plateau, reaksi akan melambat hingga akhirnya berhenti (siklus 28-40 pada gambar). Pada siklus awal *real time PCR*, fluoresens tidak terdeteksi dan tetap berada di dasar kurva (garis hijau) namun jika produk yang teramplifikasi sudah cukup banyak untuk dapat terdeteksi maka terjadilah siklus yang disebut dengan *threshold cycle* (CT). Nilai CT akan digunakan untuk kuantifikasi produk pada *real time PCR*.¹²

2.8 Kerangka Teori



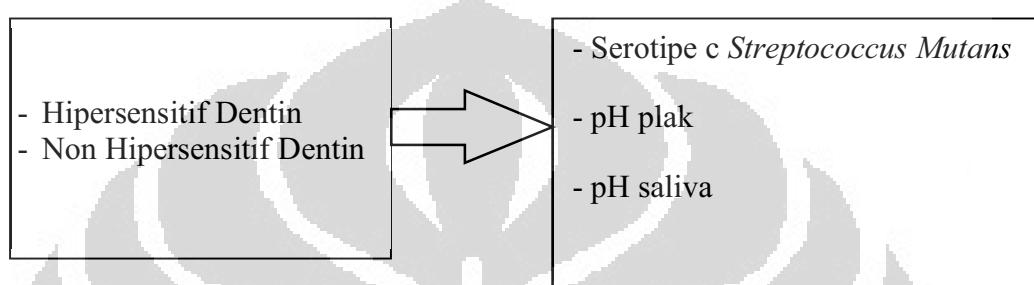
Gambar 2.1 Skema kerangka konsep hubungan antara asam yang diproduksi serotipe bakteri *Streptococcus mutans* dengan hipersensitivitas dentin.

Penyakit Periodontal menyebabkan adanya kerusakan tulang sebagai jaringan pendukung gigi. Efek kerusakan tulang akan menyebabkan resesi gingiva dan terbukanya permukaan akar. Akumulasi plak gigi dan saliva yang mengandung bakteri serta produk asam akan memicu timbulnya hipersensitivitas dentin.⁸

BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konsep



3.2 Hipotesis

3.2.1 Hipotesis Mayor

Ada perbedaan jumlah serotipe c *Streptococcus mutans* dan tingkat keasaman di dalam plak dan saliva antara penderita resesi gingiva yang hipersensitif dengan penderita resesi gingiva yang non hipersensitif.

3.2.2 Hipotesis Minor

3.2.2.1 Ada perbedaan proporsi serotipe c *Streptococcus mutans* di dalam plak penderita resesi gingiva antara yang hipersensitif dengan yang non hipersensitif

3.2.2.2 Ada perbedaan proporsi serotipe c *Streptococcus mutans* di dalam saliva penderita resesi gingiva antara yang hipersensitif dengan yang non hipersensitif.

3.2.2.3 Ada perbedaan tingkat keasaman plak pada penderita resesi gingiva antara yang hipersensitif dengan yang non hipersensitif.

- 3.2.2.4 Ada perbedaan tingkat keasaman saliva pada penderita resesi gingiva antara yang hipersensitif dengan yang non hipersensitif
- 3.2.2.5 Ada hubungan penurunan tingkat keasaman plak dengan proporsi serotipe c *Streptococcus mutans*.
- 3.2.2.6 Ada hubungan penurunan tingkat keasaman saliva dengan proporsi serotipe c *Streptococcus mutans*.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas:

- Derajat keasaman yang plak dan saliva akibat akumulasi serotipe *S. mutans*

3.3.2 Variabel terikat : Resesi gingiva dengan hipersensitif dentin dan non sensitif

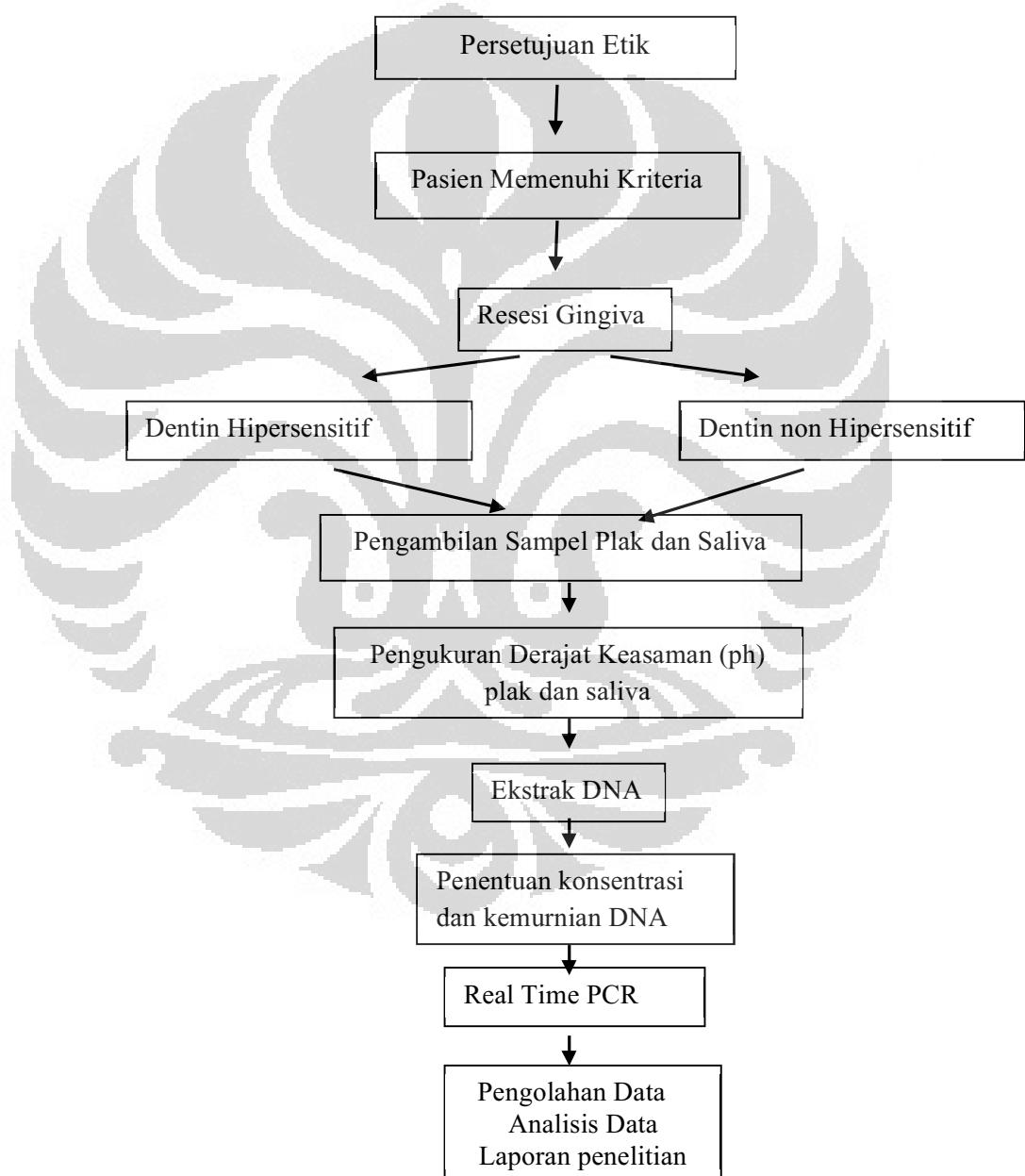
Bab IV

METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian observasi secara laboratoris

4.2 Alir Penelitian



Gambar 4.1 Alir Penelitian

4.3 Waktu dan Tempat Penelitian

- Klinik bagian Periodontia Rumah Sakit Gigi dan Mulut Universitas Indonesia untuk pengambilan sampel plak dan saliva manusia
- Laboratorium Biologi Oral FKG UI

4.4 Sampel dan Subjek Penelitian

4.4.1 Subjek Penelitian

- Gigi kaninus atau premolar pertama pada rahang atas atau rahang bawah yang mengalami resesi gingiva dengan atau tanpa dentin hipersensitif

4.4.2 Sampel Penelitian

- *S. mutans* yang diisolasi dari plak gigi dan saliva penderita dentin hipersensitif dan non sensitif

4.5 Kriteria Subjek Penelitian

4.5.1 Kriteria Inklusi

- a. Usia subjek antara 20 – 50 tahun
- b. Adanya resesi gingiva, gigi tanpa abrasi
- c. Tidak sedang menggunakan pasta gigi yang mengandung bahan desensitisasi atau pernah mendapat perawatan desensitisasi
- d. Bersedia untuk ikut dalam penelitian dan menandatangani *informed consent*

4.5.2 Kriteria Eksklusi

- a. Ada karies, restorasi atau enamel yang retak pada gigi yang dijadikan sampel
- b. Menderita inflamasi gingiva
- c. Menderita penyakit/kelainan sistemik seperti gastritis, diabetes melitus, bulimia
- d. Suka mengkonsumsi makanan yang mengandung kadar asam tinggi (misalnya minuman dan buah yang asam, minuman berkarbonat, *wine*, minuman energi, sari buah apel dll)
- e. Individu dengan kebiasaan *bruxism* dan klensing

- f. Wanita hamil
- g. Tidak komunikatif dan tidak koperatif

4.6 Besar Sampel

Jumlah sampel dari tiap kelompok perlakuan akan dihitung menggunakan rumus Federer.

Rumus Federer : $(n-1)(t-1) \geq 15$ dengan

t = jumlah kelompok perlakuan = 2

n = jumlah sampel tiap kelompok perlakuan

maka didapatkan :

$$(n-1)(2-1) \geq 15$$

$$(n-1)(1) \geq 15$$

$$1(n-1) \geq 15$$

$$n - 1 \geq 15$$

$$n \geq 16 \quad \square \text{ minimal jumlah sampel} = 16$$

Berdasarkan hasil perhitungan diatas, maka jumlah sampel yang digunakan adalah enam sampel per kelompok, karena jumlah kelompok adalah 2 maka jumlah sampel seluruhnya adalah minimal 32 sampel.

4.7 Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional Variabel Penelitian

4.7.1 Identifikasi Variabel Penelitian

Variabel independen : resesi gingiva, dentin hipersensitif, dentin non sensitif

Variabel dependen : serotipe c *S. mutans*

4.7.2 Definisi Operasional

Tabel 4.1 Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala	
1	Resesi Gingiva Yang dimaksud pada penelitian ini adalah					
1.1	Resesi gingiva	Berkurangnya tinggi margin gingiva kearah apikal terhadap batas cementoenamel junction	Pemeriksaan klinis pada gigi C atau P1 RA/RB, diukur dari jarak margin gingiva ke servikal gigi	mm	Numerik	
1.2	Dentin sensitif	non	Gigi dengan resesi gingiva dan ketika diberi stimulus tidak merasa sakit/ngilu	Evaluasi respon terhadap tiga stimulus, 1. Stimulus taktil = sonde digoreskan pada dentin yang terbuka, 2. Stimulus suhu = Menggunakan semprotan angin pada dental unit, 3. Stimulus osmotik = Menggunakan semprotan air pada dental unit	0 = tidak ada respon 1 = respon sedikit tapi tidak sakit	Nominal
1.3	Dentin Hipersensitif		Gigi dengan resesi gingiva dan ketika diberi stimulus terasa sakit/ngilu	Evaluasi respon terhadap tiga stimulus 1. Stimulus taktil = sonde digoreskan pada dentin yang terbuka, 2. Stimulus suhu = Menggunakan semprotan angin pada dental unit, 3. Stimulus osmotik = Menggunakan semprotan air pada dental unit	2 = rasa sakit hanya saat stimulus diaplikasikan 3 = rasa sakit hebat dengan respon yang cepat & bertahan setelah stimulus dihilangkan	Nominal

2	<i>Streptococcus mutans</i> Yang dimaksud pada penelitian ini adalah:	Definisi Operasional	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala
2.1	<i>Serotipe c S. mutans</i> dari plak gigi	<i>S. mutans</i> yang diambil dari plak gigi penderita dentin hipersensitif dan non sensitif	Identifikasi dan kuantifikasi dengan <i>real time PCR</i>	Serotipe c	Nominal
2.2	<i>Serotipe c S. mutans</i> dari saliva	<i>S. mutans</i> yang diambil dari saliva penderita dentin hipersensitif, non sensitif	Identifikasi dan kuantifikasi dengan <i>real time PCR</i>	Serotipe c	Nominal
3	Tingkat Keasaman				
3.1	Tingkat keasaman Plak	Tingkat Keasaman plak penderita dentin hipersensitif dan non sensitif	Pengukuran dengan pH meter	pH	Numerik
3.2	Tingkat Keasaman Saliva	Tingkat Keasaman saliva penderita dentin hipersensitif dan non sensitif	Pengukuran dengan pH meter	pH	Numerik

4.8 Bahan dan Alat Penelitian

4.8.1 Bahan Penelitian

- a. Batu es
- b. Primers untuk identifikasi dan kuantifikasi *S. mutans*, *S. mutans* serotipe c
- c. Primers *universal* 16sRNA untuk kuantifikasi bakteri total
- d. PBS steril
- g. *MilliQ water*
- h. *DNA purification kit*
- i. *SYBR Green*

4.8.2 Alat Penelitian

- a. Kaca mulut, sonde, pinset dan prob periodontal
- b. Sarung tangan sekali pakai, masker
- c. Kotak pendingin berisi es
- d. Cawan petri

- e. Tusuk gigi steril
- f. *Microsentifuge tube* 1,5 ml dan 15 ml
- g. Sengkelit kaca
- h. *Anaerobic jar*
- i. Tabung *Erlenmeyer*, gelas ukur
- j. Pipet dan tip
- k. Inkubator, inkubator *waterbath*
- l. Lampu bunsen,
- m. Vortexer dan sentrifugasi mini
- n. Alat sentrifugasi
- o. *Floating boat*
- p. Mesin *real time-PCR*
- q. Kit *PCR*
- r. Spektrofotometer
- s. *MicroAmp Fast Reaction Tubes*
- t. *MicroAmp Optical 8-cap Strip*
- u. 48 *PCR Well Plate*

4.9 Cara Kerja

4.9.1 Pemeriksaan Dentin Hipersensitif dan Dentin Non Sensitif

Pemilihan sampel dilakukan sesuai dengan kriteria inklusi penelitian, sisi yang mengalami resesi diidentifikasi dan subjek menandatangani *informed consent*. Gigi yang akan dites sensitivitasnya diisolasi menggunakan gulungan kapas kemudian dilakukan tes menggunakan tiga stimulus dimulai dengan stimulus dengan rasa sakit yang paling sedikit. Tes taktil dilakukan pertama sekali, diikuti oleh semprotan udara dan selanjutnya semprotan air. Diantara ketiga tes yang dilakukan diberi jeda waktu selama 2- 3 menit.

1. Tes taktil : sonde digerakkan secara perlahan pada permukaan gigi yang mengalami resesi
2. Stimulus suhu / semprotan udara : menggunakan *3-way dental syringe* dari dental unit, dimana udara disemprot selama 1 detik dengan jarak antara *air syringe* dan gigi sebesar ± 1 cm

3. Stimulus osmotik / semprotan air : menggunakan *water syringe* dari dental unit, air disemprot selama satu detik dengan jarak \pm satu cm.

Subjek ditanya mengenai skor rasa sakit berdasarkan intensitas rasa sakit menurut *Gillam & Newman, Kanapka & Colucci*. Skor nol dan satu diklasifikasikan sebagai dentin non sensitif sedangkan skor dua dan tiga diklasifikasikan sebagai dentin hipersensitif.⁶

4.9.2 Pemeriksaan Skor Plak

Gigi dikeringkan dengan semprotan udara lalu diperiksa secara kasat mata dibawah lampu dental unit dengan bantuan kaca mulut dan sonde. Telusuri sepertiga permukaan gigi bagian servikal dan sulkus gingiva. Hasil pengukurannya adalah 0 = tidak ada plak; 1 = ada plak tapi plak hanya bisa dilihat dengan menggunakan *disclosing agent* atau dengan menggoreskan sonde ke permukaan gigi; 2 = ada plak dan plak dapat terlihat dengan mata pada gigi dan tepi gingiva; 3 = plak terlihat sangat banyak pada poket gingiva dan/atau pada gigi dan tepi gingiva.

4.9.3 Pengambilan Sampel Plak Gigi

Pengambilan sampel plak gigi subjek penelitian pada gigi kaninus atau premolar pertama dibagian bukal dengan menggunakan tusuk gigi steril dan dimasukkan dalam tabung ependorf 1,5 ml berisi cairan PBS steril, ditutup serta diberi label nama dan kode. Sampel plak disimpan dalam kotak pendingin yang berisi batu es. Jika tidak langsung ditanam, sampel plak disimpan pada -20 derajat Celcius.

4.9.4 Pengambilan Sampel Saliva

Sampel saliva diambil dari subjek dengan cara tanpa distimulasi sebanyak \pm 5 ml menggunakan corong steril dan ditampung dalam tabung ependorf steril, ditutup serta diberi label nama dan kode. Sampel saliva disimpan dalam kotak pendingin berisi es batu. Jika tidak langsung ditanam, sampel saliva disimpan pada suhu -20 derajat Celcius.

4.9.5 Penimbangan Berat Sampel Plak dan Saliva

Sampel plak dan saliva yang telah dimasukkan dengan tabung kemudian ditimbang dengan menggunakan alat timbangan digital dan dibandingkan dengan tabung kosong untuk menentukan berat sampel plak dan saliva.

4.9.6 Pengukuran Sampel Plak dan Saliva dengan *PH Meter*

Sampel plak dan saliva yang telah ditimbang beratnya kemudian diambil masing-masing 200 ul dan dipindahkan ke tabung baru untuk dilakukan penghitungan keasaman dengan alat pH meter. Penggunaan alat ph meter adalah dengan mencelupkan indikator pH meter ke dalam tabung yang telah terisi sampel plak dan saliva kemudian dilakukan pengukuran dengan mencocokkan hasil yang di dapat pada alat pH meter.

4.9.7 Ekstrak DNA

Tahapan ekstrak DNA meliputi :

1. Sampel plak dan saliva yang disimpan pada lemari pendingin dengan suhu - 20 derajat Celcius di *towing* agar sampel yang telat membeku dapat menjadi cair.
2. Sampel plak dan saliva yang mencair kemudian dicuci dengan larutan PBS steril dan dilanjutkan dengan proses sentrifugasi.
3. Sampel disentrifugasi dengan alat *sentrifuge* selama 20 menit dengan kecepatan 3500 putaran per menit. Pada sampel plak dan saliva yang telah dilakukan proses sentrifuge kemudian terbentuk lapisan supernatan.
4. Cairan PBS pada sampel yang telah disentrifugasi kemudian dibuang dan digantikan dengan miliQ *water* sebanyak 200ul dan dipindahkan ke tabung kecil berukuran 1,5 ml untuk dilakukan proses *waterbath*.
5. Proses *waterbath* adalah proses merebus sampel dengan alat khusus yang dipanaskan dan memiliki suhu air 110 derajat *Celcius*. Proses ini berlangsung selama 10 menit dan sampel harus difiksasi untuk menghindari terbukanya tabung ependorf saat proses pemanasan.
6. Sampel yang telah di *waterbath* selama 10 menit kemudian langsung dimasukkan ke dalam wadah yang berisi es batu selama 10 menit.

7. Setelah didinginkan, sampel kembai dimasukkan ke alat *sentrifuge* dan dilakukan sentrifugasi selama 2 menit dengan kecepatan 10.000 putaran per menit.
8. Proses sentrifugasi akan menghasilkan sampel yang terdiri atas cairan dan endapan. Cairan hasil sentrifugasi diambil sebanyak 100ul yang merupakan hasil dari ekstrak DNA. Gunakan langsung DNA yang sudah diekstrak atau simpan pada suhu -20°C

4.9.8 Spektrofotometri

DNA yang telah diekstrak diambil sebanyak 5 μ l, masukkan dalam kuvet yang sebelumnya telah diisi dengan air miliQ sebanyak 495 μ l, sehingga total volume menjadi 500 μ l, sementara didalam kuvet kontrol dimasukkan 500 μ l air miliQ. Masukkan kuvet dalam spektrofotometer dengan panjang gelombang 280 kemudian sampel DNA di *running*. Satuan konsentrasi DNA adalah ng/ μ l dan kebutuhan minimal untuk dilakukan *PCR* adalah 100 ng/ μ l. Kegunaan dari spektrofotometri adalah untuk menentukan konsentrasi dan kemurnian DNA yang diperlukan pada kuantifikasi dengan *real time PCR*.

4.9.9 Kultur dan Ekstrak DNA Bakteri *Streptococcus mutans* Serotipe C

Kultur bakteri *S. mutans* serotipe c dilakukan sebagai acuan untuk perhitungan bakteri jenis ini pada proses *Real Time PCR*. Proses kultur dilakukan dengan memasukkan bakteri *S. mutans* sebanyak 100ul dan DHI Broth sebanyak 1000ul ke dalam tabung reaksi. Tabung reaksi tersebut kemudian ditutup rapat dan dimasukkan ke wadah inkubasi yang telah dialiri gas campuran sebelumnya. Gas campuran terdiri dari Carbon dioksida 10%, hydrogen 10% dan Nitrogen sebagai buffer. Proses kultur bakteri ini memakan waktu 2x24 jam.

Setelah proses kultur selesai, dilanjutkan dengan ekstrak DNA dimana terlebih dahulu disiapkan larutan *lysis buffer*. Proses ekstrak DNA bakteri melalui tahap-tahap berikut ini:

1. Sel bakteri diambil sebanyak 2 ml dan di sentrifuge 5000 X G selama 10 menit, kemudian buang bagian supernatan.

2. Tambahkan 180 ul *lysis buffer* dan inkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C dengan menggunakan *waterbath*.
3. Tambahkan 200 ul *lysis solution* dan 20 ul *Proteinase K*. campur larutan hingga homogen menggunakan alat *vortexer*.
4. Inkubasi sampel pada suhu 56°C sambil dilakukan pengadukan dengan alat *vortexer* hingga 30 menit.
5. Tambahkan 20 ul *RNase A Solution*, aduk dengan *vortexer* dan inkubasi selama 10 menit pada suhu ruangan.
6. Tambahkan 400ul *ethanol 50%* dan aduk dengan alat *vortexer*.
7. Pindahkan sampel ke tabung khusus yang telah disediakan, centrifuge selama 1 menit dengan kecepatan 6000 X G. Buang larutan yang tersaring pada tabung.
8. Tambahkan 500ul larutan *wash buffer I*. Sentrifugasi selama 1 menit dengan kecepatan 8000 X G. Buang larutan yang tersaring.
9. Tambahkan 500ul larutan *wash buffer II*. Sentrifugasi selama 3 menit dengan kecepatan 12000 X G. Buang larutan yang tersaring dan pada tahapan ini, pasang *microcentrifuge tube* pada tabung penyaringan.
10. Tambahkan 200ul *elution buffer*, inkubasi selama 2 menit pada suhu ruangan dan senrifugasi selama 1 menit dengan kecepatan 8000 X G.
11. Setelah itu cairan yang tersaring di tabung dapat langsung digunakan atau disimpan terlebih dahulu pada suhu -20°C.

4.9.10 Amplifikasi Bakteri Menggunakan *Real-Time PCR*

Proses amplifikasi menggunakan mesin *real-time PCR* dengan primer sesuai yang tertera pada tabel 4.2 di bawah ini, dengan tahapan sebagai berikut:

1. Siapkan *master mix* untuk sampel total bakteri dengan menggunakan *universal primers* (16sRNA). Komposisi tiap *well* adalah SYBR Green 5 µl, *Forward Primers* 16sRNA 0,5 µl, *Reverse Primers* 16 sRNA 0,5 µl, *Nuclease Free Water* 1 µl dan *DNA* sampel. Volume akhir pada masing-masing *well* adalah 10 µl. Setiap sampel dibuat duplikat.
2. Siapkan *master mix* untuk sampel deteksi serotipe c *S. mutans* dengan menggunakan primers SC untuk deteksi *S. mutans* serotipe c,. Komposisi tiap *well*

adalah SYBR Green 5 μ l, Forward Primers 0,5 μ l, Reverse Primers 0,5 μ l, Nuclease Free Water 1 μ l dan DNA sampel 3 μ l. Volume akhir pada masing- masing well adalah 10 μ l. Setiap sampel dibuat duplikat. Untuk well sebagai kontrol negatif ditambahkan nuclease free water 3 μ l.

3. Siapkan *master mix* untuk sampel deteksi kurva standar serotipe c *S. mutans* dengan menggunakan primers SC untuk deteksi *S. mutans* serotipe c,. Komposisi tiap well adalah SYBR Green 5 μ l, Forward Primers 0,5 μ l, Reverse Primers 0,5 μ l, Nuclease Free Water 1 μ l dan hasil DNA bakteri serotipe c *S. mutans* 3 μ l dengan enam macam konsentrasi yang didapat dari pengenceran ekstrak DNA bakteri. Tingkat konsentrasi sampel DNA adalah 10^9 , 10^7 , 10^5 , 10^3 , 10^1 dan Volume akhir pada masing- masing well adalah 10 μ l. Setiap sampel dibuat duplikat. Untuk well sebagai kontrol negatif ditambahkan nuclease free water 3 μ l.

4. *MicroAmp Fast Reaction Tubes* (8 Tubes/strip) diletakkan pada 48-PCR well plate kemudian diisi dengan *master mix* kontrol untuk mendapatkan kurva standar dan *master mix* sampel lalu ditutup menggunakan *MicroAmp Optical 8-cap Strip* kemudian di sentrifugasi dengan kecepatan 1500 X G selama 1 menit dan kemudian di *running* pada mesin *real-time PCR*.

5. Deteksi dan amplifikasi dilakukan menggunakan mesin *real time PCR* (Applied Biosystems) pada 95°C selama 3 menit diikuti oleh 40 cycles pada 94°C selama 15 detik, 55°C selama 30 detik dan 72°C selama 30 detik.

Tabel 4.2 Primers yang digunakan pada *RT-PCR*

Primers	Sequence (5'-3')	Amplicon Size (bp)	Serotipe	Referensi
SC-F	CGGAGTGCTTTTACAAGTGCTGG	724	C	³⁴
SC-R	ACCAACGGCCAGCAAACCCTTAT			

16sRNA-F TGGAGCATGTGGTTAACCGA	160	whole bacteria	³⁴
16sRNA-R TGCAGGACTTAACCCAACA			

4.9.10 Penghitungan Proporsi Serotipe c Bakteri *Streptococcus Mutans*

Jumlah bakteri dari masing-masing serotipe dihitung berdasarkan korelasi antara CT (*critical threshold cycles*) dan CFU (*colony forming unit*). *Critical threshold cycles* adalah jumlah siklus yang dibutuhkan untuk sinyal fluoresens memotong garis *threshold*.⁴³ Kurva standar untuk setiap organisme direncanakan bagi setiap primers dengan menggunakan nilai CT yang diperoleh dari amplifikasi ekstrak DNA genom dari sampel yang berisi 4×10^1 hingga 4×10^4 CFU/ml *S. mutans* serotipe *c*. Jumlah CFU/ml didapatkan dari dilusi kultur *S. mutans* serotipe *c* yang ditanam pada media agar TYS20B. Untuk menentukan garis lurus dan menemukan batas pengujian, dalam penelitian ini larutan *S. mutans* serotipe *c* diamplifikasi pada dilusi kelipatan 10 secara berurutan pada rangkaian *real time PCR*. Untuk mendapatkan proporsi dan jumlah bakteri, nilai CFU/ml diubah kedalam bentuk \log_{10} CFU/ml. Pada penelitian ini amplifikasi DNA menggunakan *real-time PCR* dilakukan dengan pengulangan sebanyak dua kali (duplikat)

4.10 Analisis Data

Seluruh data dianalisis menggunakan Step One Real-time PCR Systems Software. Uji statistik menggunakan uji beda *Mann-Whitney* dan uji korelasi *Spearman test* untuk melihat tingkat signifikan dari variabel penelitian. Hasil uji dinyatakan dalam nilai *p*. Apabila nilai *p* < 0,05 maka dinyatakan terdapat perbedaan yang bermakna. Apabila nilai *p* > 0,05, maka dinyatakan tidak terdapat perbedaan yang bermakna.

4.11 Masalah Etika

Subjek yang memenuhi kriteria penelitian diberi informasi mengenai tujuan, manfaat, keuntungan dan ketidaknyamanan yang dialami selama prosedur penelitian. Subjek yang bersedia mengikuti penelitian menandatangani lembar persetujuan sebagai subjek penelitian (lampiran 3). Peneliti telah mendapatkan persetujuan penelitian dari pihak Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia dengan nomor : (lampiran1).

BAB 5

HASIL PENELITIAN

Peneliti mulai melakukan penelitian sejak bulan April hingga Juli 2014 di klinik Periodonsia RSGMP FKG UI dan laboratorium Biologi Oral FKG UI. Pengumpulan data didapatkan melalui pemeriksaan klinis berupa indeks plak, pemeriksaan hipersensitif gigi dan resesi gingiva. Sampel berupa plak dan saliva kemudian diteliti di laboratorium Biologi Oral. Jumlah sampel yang diperiksa terdiri dari 20 sampel plak subjek yang mengalami resesi gingiva hipersensitif dentin dan 16 sampel plak subjek yang mengalami resesi gingiva dengan dentin non sensitif serta sampel saliva dari lingkungan mulut yang mengalami hipersensitif dentin dan dentin non sensitif.

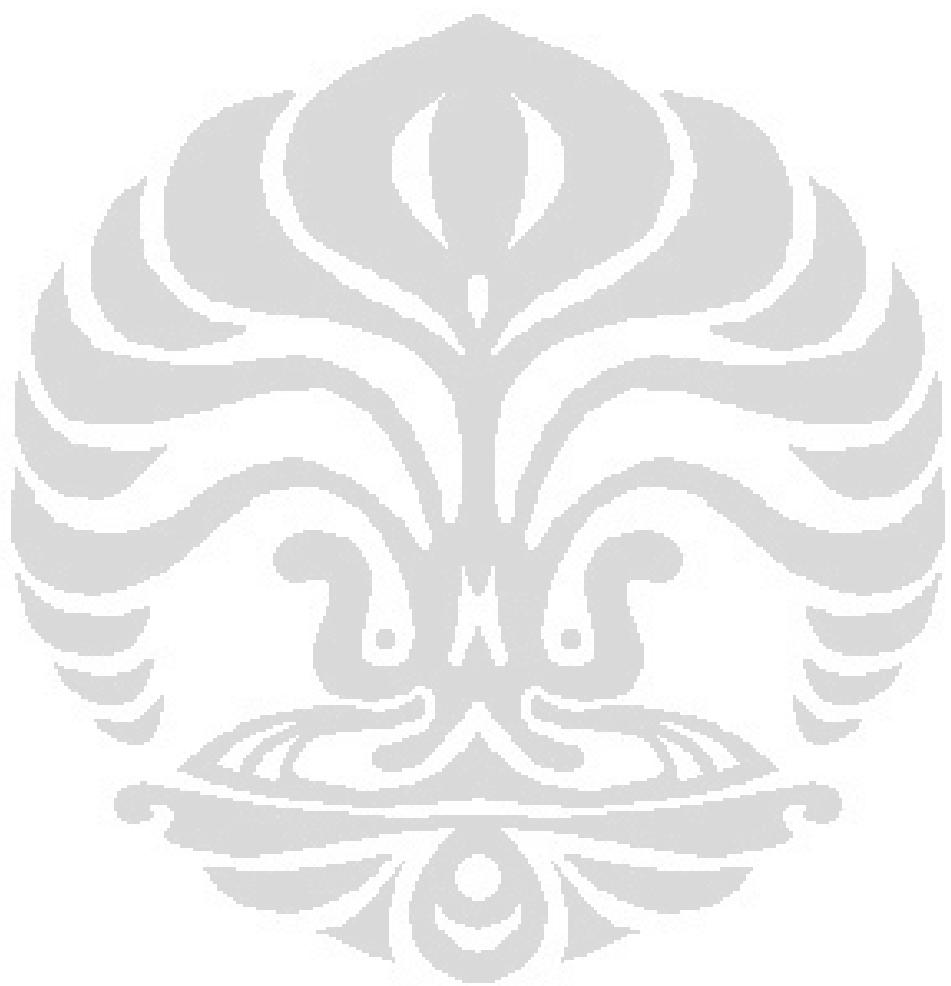
Penelitian ini menggunakan plak dan bakteri dengan kadar yang setara pada tiap sampel menggunakan proses spektrofotometri. Sampel plak dan bakteri memiliki konsentrasi 100 ng/ul. proses penyetaraan dilakukan untuk mendapatkan kadar DNA yang sama pada setiap sampel plak dan bakteri mengingat adanya perbedaan jumlah volume plak dan sampel saat peneliti mengumpulkan sampel.

Proses Spektrometri dilakukan dengan tujuan agar sampel yang diperoleh dapat disetarakan kadar DNA yang terkandung di dalamnya. Pada proses pernyetaraan ini, ditambahkan larutan *Nuclease Free Water* pada sampel.

Penghitungan proporsi serotipe c *S. mutans* dilakukan dengan melihat rerata CT dari hasil amplifikasi sampel plak dan bakteri pada proses Real Time PCR. Proses diawali dengan menghitung siklus CT bakteri total dengan primers 16sRNA untuk mendeteksi amplifikasi bakteri pada proses *Real Time PCR* dan dilanjutkan dengan menhitung siklus CT serotipe c *S. mutans* dengan primers serotipe c. Rerata siklus CT serotipe c kemudian dikurangkan dengan rerata CT pada total bakteri. Proporsi serotipe c bakteri *S. mutans* dengan total bakteri dihitung dengan rumus:

PROPORSI BAKTERI : $2^{-(\Delta CT \text{ Serotipe C Streptococcus Mutans} - \Delta CT \text{ 16sRNA})}$

Penggunaan rumus di atas akan menghasilkan proporsi perbandingan jumlah bakteri dengan serotipe c *S. mutans* terhadap total bakteri.



Tabel 5.1 Uji Normalitas data Numerik Penelitian

Uji Normalitas	Nilai p
Tingkat Resesi Gingiva	,000
Ph Plak	,000
HPh Saliva	,000
Proporsi S.Mutans	,000
Serotipe C dalam Saliva	,000
Proporsi S.Mutans	,000
Serotipe C dalam Plak	,000

Nilai P>0,05, distribusi data normal

Pengolahan data statistik untuk penelitian ini direncanakan dengan uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* pada data numerik penelitian. Hasil uji menunjukkan bahwa data tidak berdistribusi secara normal, sehingga data tidak dapat dihitung secara parametrik, uji statistik dilanjutkan dengan penghitungan secara non parametrik.³⁵

Pada tabel 5.1 ditunjukkan bahwa nilai p =0,00 (p<0,05) artinya distribusi data tidak normal, oleh karena itu pengujian data penelitian selanjutnya dilakukan uji non parametrik. Uji statistik yang dilakukan untuk melihat perbedaan bermakna diantara kelompok perlakuan adalah uji *Man-Whitney* dengan uji korelasi untuk menganalisis hubungan antara variabel penelitian.

Tabel 5.2 Data Deskriptif Parameter Penelitian

	N	Minimum-Maksimum	Rerata ±Std. Deviasi
Tingkat Resesi Gingiva (mm)	36	1,00-4,00	2,6806 ±0,87139
pH Plak	36	6,50-7,50	6,7222 ±0,34733
pH Saliva	36	7,00-8,00	7,3472 ±0,35495
Proporsi S.Mutans Serotipe C Dalam Saliva	36	0,0000000000-0,0068205863	0,000627394767±0,0018993353685
Proporsi S.Mutans Serotipe C Dalam Plak	36	0,0000000000-0,3103319038	0,008625787230±0,0517210506858

Keterangan: N: jumlah sampel, pH: tingkat keasaman

Pada 36 sampel plak dan saliva yang diamati, serotipe c S. mutans terdeteksi pada penderita non hipersensitif sebanyak empat sampel plak dan sembilan sampel saliva dengan total keseluruhan 16 sampel. Pada 20 sampel hipersensitif, ditemukan

tujuh sampel plak dan seluruh sampel saliva yang berjumlah 20 mengandung serotipe c *S. Mutans*.

Uji beda *Mann-Whitney* dilakukan untuk menguji hipotesis untuk mencari perbedaan pH dan proporsi serotipe c *S. mutans* pada sampel plak dan saliva. Kelompok sampel hipersensitif dan non hipersensitif diuji untuk menganalisa ada atau tidaknya perbedaan bermakna pH plak, pH saliva, proporsi serotipe c *S. mutans* baik pada plak maupun saliva.

Tabel 5.3 Proporsi Serotipe c *Streptococcus Mutans* pada Plak dan Saliva Penderita Dentin Hipersensitif dan Non sensitif

Serotipe c Streptococcus mutans	Non Hipersensitif		Total Sampel	Nilai P
	N (%)	N (%)		
Plak	4 (25%)	7 (43,7%)	16 (100%)	0.242
Saliva	9 (56.25%)	20 (100%)	20 (100%)	0.586
Total	13	27	36	

Keterangan: N = jumlah sampel yang terdeteksi, nilai p<0.05 bermakna

Hasil uji *Mann-Whitney* terhadap perbedaan pada sampel plak hipersensitif dan non hipersensitif terhadap proporsi serotipe c *S. mutans* di dalam plak menunjukkan nilai p=0,242. **Dengan demikian hipotesis minor 3.2.2.1 yang menyatakan ada perbedaan antara proporsi serotipe c *S. mutans* di dalam plak pendertia resesi gingiva yang hipersensitif dengan yang non hipersensitif ditolak.**

Hasil uji terhadap proporsi serotipe c *S. mutans* di dalam saliva menunjukkan nilai p= 0,586 **Dengan demikian hipotesis minor 3.2.2.2 yang menyatakan ada perbedaan antara proporsi serotipe c *S. mutans* di dalam saliva pendertia resesi gingiva yang hipersensitif dengan yang non hipersensitif ditolak.**

Tabel 5.4 Hasil Uji Analisis pH plak dan Saliva pada Penderita Dentin Hipersensitif dan Non Hipersensitif

	N	Minimum-Maksimum	Rerata ±Std.Deviasi	Nilai P
pH Plak	36	6,5-7,5	6,722± 0,347	0,000
pH Saliva	36	7,0-8,0	7,3472± 0,35	0,079

Keterangan: Mann-Whitney test, $p<0,05$ bermakna

Hasil uji Mann-Whitney terhadap perbedaan pada sampel plak hipersensitif dan non hipersensitif terhadap pH plak menunjukkan adanya perbedaan bermakna dengan nilai $p= 0,000$. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa hipotesis minor 3.2.2.3 yang menyatakan ada perbedaan tingkat keasaman plak pada penderita resesi gingiva antara yang hipersensitif dengan yang non hipersensitif diterima.

Uji Mann-Whitney antara kelompok hipersensitif dan non hipersensitif menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna terhadap ph saliva dengan nilai $p=0.79$, karena nilai $p > 0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa hipotesis minor 3.2.2.4 yang menyatakan ada perbedaan tingkat keasaman saliva pada penderita resesi gingiva antara yang hipersensitif dengan yang non hipersensitif ditolak.

Tabel 5.5 Hasil uji korelasi Spearman antara pH dan proporsi serotipe c *S. Mutans*

pH Plak	Proporsi S.Mutans			Proporsi S.Mutans		
	Serotipe C dalam		pH Saliva	Serotipe C dalam		-0,568 ^{**}
	Plak	rs		rs	Saliva	
	rs	-0,281				
	p	0,097		p		0,000
	N	36		N		36

Keterangan: Nilai $p<0,001$ bermakna, rs= nilai korelasi Spearman, N= Jumlah Sampel

Menurut Hastono S.P, nilai rs dalam hubungan korelasi Spearman (rs) adalah sebagai berikut³⁶ :

0,00-0,25 = Tidak ada hubungan

0,26-0,50 = Hubungan sedang

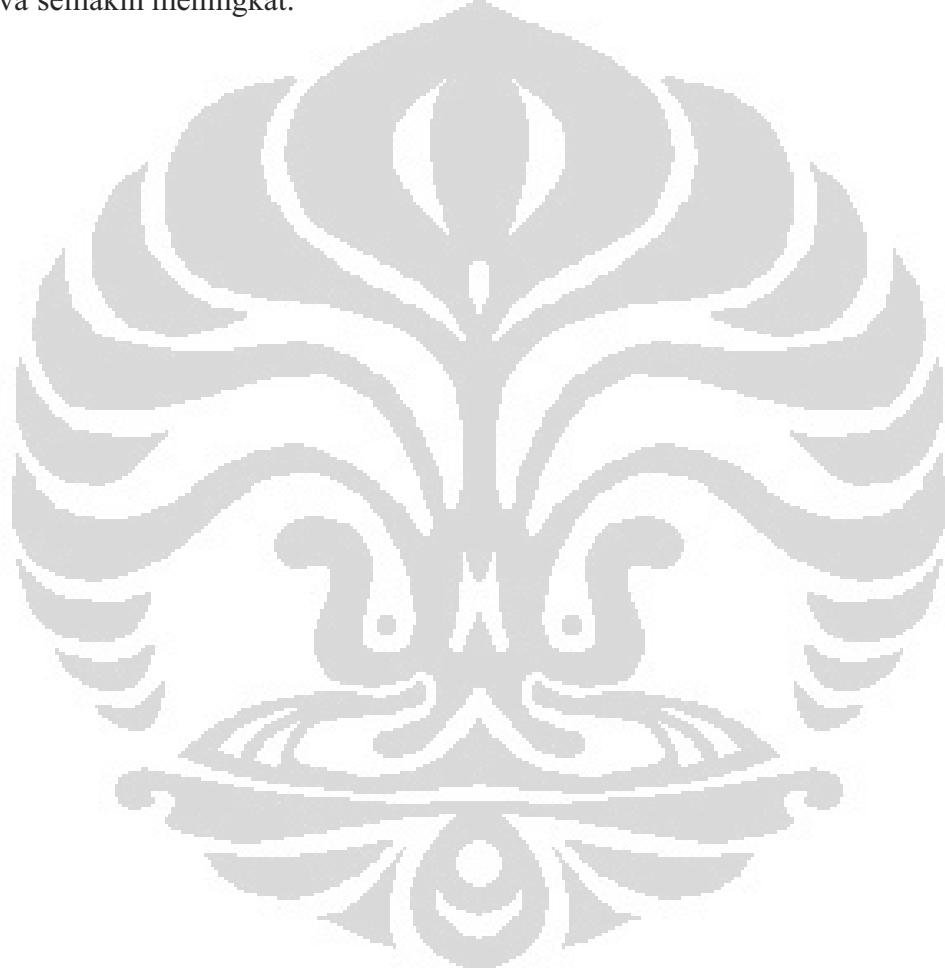
0,51-0,75 = Hubungan kuat

0,76 – 1 = Hubungan sangat kuat (Sempurna)

Hasil uji Spearman menunjukkan tidak ada hubungan antara pH plak terhadap proporsi *S. mutans* di dalam plak. Disimpulkan bahwa **Hipotesis 3.2.2.5**

yang menyatakan adanya hubungan tingkat tingkat keasaman plak dengan proporsi serotipe c *S. mutans* ditolak.

Uji korelasi Spearman menunjukkan hubungan negatif yang kuat ($p=-0.568$) antara pH saliva dengan proporsi serotipe c *S. mutans* dalam saliva, dengan demikian dapat disimpulkan bahwa **Hipotesis 3.2.2.6 yang menyatakan adanya hubungan tingkat tingkat keasaman saliva dengan proporsi serotipe c *S. mutans* diterima**. Hasil uji menunjukkan semakin rendah ph saliva, proporsi serotipe c *S. mutans* dalam saliva semakin meningkat.



BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis perbandingan kuantitas *S mutans* serotipe c pada penderita resesi gingiva dengan dentin hipersensitif dengan dentin non sensitif dan dihubungkan dengan tingkat keasaman sampel plak dan saliva. Pengambilan sampel dilakukan sejak bulan April 2014 si klinik Periodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia. Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan dari penelitian pendahuluan yang dilakukan di bagian Periodonsia yang telah dilakukan oleh Saputri D. Sampel plak yang digunakan berasal dari gigi kaninus dan premolar karena sering mengalami hipersensitif dentin akibat posisinya pada lengkung rahang.¹²

Menurut laporan literatur, dentin hipersensitif rata-rata terjadi pada usia 20-50 tahun.³⁴ Rentang usia pada penelitian ini dibatasi karena di bawah usia 20 tahun dianggap belum terjadi resesi gingiva, sedangkan pada usia di atas 50 tahun terjadinya hipersensitif dentin berkurang karena adanya sklerosis sebagai desensitasi alami dan pembentukan dentin sekunder.³⁵ Gigi yang mengalami atrisi dan abrasi tidak dimasukkan ke dalam penelitian ini karena proses trauma yang berlangsung terus menerus dapat merangsang perlindungan alami misalnya pembentukan dentin sekunder dan sklerosis. Penderita penyakit sistemik maupun penyakit gangguan pada lambung dan kehamilan merupakan kriteria eksklusi dari penelitian ini karena dapat mempengaruhi suasana asam di dalam rongga mulut.

Penghitungan jumlah proporsi bakteri pada penelitian ini menggunakan *Real Time PCR* karena alat ini lebih akurat dalam mengidentifikasi dan kuantifikasi bakteri dan dapat dipercaya untuk menentukan konsentrasi bakteri dari sampel saliva dan plak. Penggunaan metode identifikasi dengan alat ini lebih memudahkan dimana sampel plak yang akan digunakan tidak harus langsung, namun dapat disimpan dalam keadaan beku dan dapat digunakan dalam jangka waktu yang panjang. Penggunaan alat ini dapat dihubungkan dengan penemuan klinis dimana alat ini tidak hanya menentukan ada atau tidaknya bakteri, namun dapat ditemukan proporsi jumlah bakteri. Keunggulan *Real Time PCR* ini menjadi alasan peneliti memilih alat

ini dibandingkan dengan *PCR* konvensional yang hanya dapat melihat ada atau tidaknya bakteri.

Penggunaan *Real Time PCR* diikuti dengan penggunaan primers yang spesifik untuk mengidentifikasi sampel sesuai dengan spesies bakteri dan populasi bakteri total. Pada penelitian ini primers universal *16s RNA* digunakan untuk menghitung jumlah total bakteri pada sampel.

Penghitungan serotipe c pada penelitian ini tidak menggunakan satuan, melainkan hanya menggunakan proporsi. Penggunaan proporsi disebakan karena tidak didapatkan kurva standar dari serotipe c *S. Mutans* yang ideal. Hasil yang di dapat pada penelitian ini adalah proporsi serotipe c *S. Mutans* yang dibandingkan dengan total bakteri.

Kegagalan dalam mendapat kurva standar serotipe c *S. Mutans* disebabkan oleh berbagai faktor seperti kualitas bakteri, penyimpanan bakteri, isolasi yang kurang baik, suhu ruangan yang tidak sesuai, proses pipeting yang tidak akurat, kalibrasi alat dan kesalahan operator sehingga bakteri yang dibiakkan tidak teramplifikasi. Penghitungan jumlah bakteri tidak dapat menggunakan satuan karena tidak didapatkan kurva standar serotipe c *S. mutans*. Kuantitas serotipe c *S. mutans* dalam penelitian ini dinyatakan dalam bentuk proporsi.

Pada penelitian yang dilakukan sebelumnya oleh Saputri D., disimpulkan bahwa jumlah serotipe c *S. mutans* dari sampel plak tidak berbeda bermakna antara penderita resesi gingiva dengan dentin hipersensitif ataupun non sensitif. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh peneliti dimana hasil menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan.

Kesimpulan lain dari penelitian sebelumnya adalah adanya jumlah serotipe c *S. mutans* dari sampel saliva lebih banyak pada penderita resesi gingiva dengan dentin hipersensitif daripada non sensitif. Hal ini tidak sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan dimana peneliti menyimpulkan proporsi serotipe c *S. mutans* di dalam plak tidak berbeda dengan di dalam saliva penderita resesi gingiva baik yang hipersensitif maupun non hipersensitif. Hasil berbeda didapatkan karena adanya perbedaan jumlah sampel. Penelitian sebelumnya menggunakan total sepuluh sampel saliva, sedangkan penelitian yang dilakukan saat ini menggunakan

20 sampel saliva dari kelompok hipersensitif dentin dan 16 sampel saliva non sensitif.

Pada penelitian ini ditemukan adanya perbedaan pH plak pada penderita resesi gingiva yang hipersensitif dentin dengan non hipersensitif. Selain itu, juga ditemukan adanya hubungan yang erat antara penurunan pH saliva dengan peningkatan proporsi serotipe c *S. mutans*. Semakin rendah pH saliva, semakin tinggi proporsi serotipe c *S. mutans* dalam saliva.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa serotipe c *S. mutans* tidak mempengaruhi tingkat keasaman dalam plak maupun saliva, pH plak pada penderita hipersensitif dentin lebih rendah bila dibandingkan dengan yang non sensitif, dan semakin rendah pH saliva, semakin tinggi proporsi serotipe c *S. mutans* dalam saliva

Kekurangan dari penelitian ini adalah tidak ditemukannya kurva standar hasil amplifikasi serotipe c *S. mutans* yang di biakkan, sehingga hasil yang didapatkan hanya berupa proporsi terhadap jumlah total bakteri. Ketrampilan peneliti yang terbatas juga mempengaruhi hasil penggerjaan dan identifikasi hasil penelitian.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 KESIMPULAN

- 7.1.1 Proporsi serotipe c *Streptococcus mutans* di dalam plak dan saliva tidak berbeda pada penderita resesi gingiva yang hipersensitif maupun non hipersensitif.
- 7.1.2 Ada perbedaan tingkat keasaman plak pada penderita resesi gingiva antara yang hipersensitif dengan yang non hipersensitif.
- 7.1.3 Tidak ada perbedaan tingkat keasaman saliva pada penderita resesi gingiva antara yang hipersensitif dengan yang non hipersensitif
- 7.1.4 Tidak ada hubungan antara penurunan tingkat keasaman plak terhadap meningkatnya proporsi serotipe c *Streptococcus mutans*.
- 7.1.5 Ada hubungan yang erat antara penurunan tingkat keasaman saliva terhadap meningkatnya proporsi serotipe c *Streptococcus mutans*.

7.2 SARAN

Saran dari penelitian ini:

- 7.2.1 Penelitian dilakukan kembali dengan alat pengukur keasaman yang lebih akurat.
- 7.2.2 Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan teknik yang lebih baik untuk mendapatkan kurva standard dalam menentukan nilai satuan serotipe c streptococcus mutans.

DAFTAR REFERENSI

1. Steiner GG, Pearson JK AJ. Changes of the marginal periodontium as a result of labial tooth movement in monkeys. *J Periodontol* 1981;52:314.
2. MS W. Dentin Hypersensitivity, the Biofilm and Remineralization: What is the Connection? *Adv Dent Res* 2009;21:21-24. Title. *Adv Dent Res* 2009;21:21-24.
3. Porto I, Andrade A, Montes MAJR. Diagnosis and Treatment of Dentinal Hypersensitivity. *J Oral Sci.* 2009;51:323-32.
4. Caranza FA. *Periodontal Pathology*. In: Carranza FA(ed). Philadelphia: Saunders; 1990:118.
5. O'leary T, Drake R, Crump P AM. The Incidence of Recession in young males: A Further Study. *J Periodontol* 1972;42:264-267.
6. Gillam DG. The Management of Dentine Hypersensitivity. *Dent. Nurs.* 2009;5:451-56.
7. Orchardson R CW. Clinical Features of Hypersensitive Teeth. *Br. Dent. J* 1987;162:253-56.
8. Wilkins EM. *Dentin Sensitivity. Clinical Practice of the Dental Hygienist*. 8th ed. (Wilkins W&, ed.). Philadelphia: Lippincott; 1999:595-602.
9. Kawada-Matsuo M, Shibata Y YY. Role of Two Component Signaling Response Regulators in Acid Tolerance of *Streptococcus mutans*. *Oral Microbiol Immunol* 2009;24:173-76.
10. Lau K, Kral T. Isolation and Characterization of Low-Ph Fluoride- Resistant Mutants of *Streptococcus mutans*. *Oral Microbiol Immunol* 1987;2:136-39.
11. LeGeros RZ. New Approach for Treating Tooth Hypersensitivity. *New York Sci. Dent. J* 2010:47.
12. Saputri D. Kuantifikasi serta Distribusi Serotipe *Streptococcus Mutans* dan *Streptococcus Sobrinus* dari Sampel Plak dan Saliva Analisis pada Penderita Resesi Gingiva dengan Dentin Hipersensitif Menggunakan Real Time PCR. Tesis FKG UI.2012.
13. Mesakh A. Analisis Kuantitatif Ekspresi mRNA LuxS *Streptococcus Mutans* pada Akumulasi Plak dan Sensitifitas Dentin yang Berbeda. 2013:53.
14. Carranza T. *Clinical Periodontology*. 8th ed. W.B.Saunders Company; 1996.

15. Kawasaki A, Ishikawa K, Suge T, Shimizu H, Suzuki K, Matsuo T. Effect of Plaque Control on the Patency and Occlusion of Dentine Tubules in Situ. *J Oral Rehabil*. 2001;28:439-49.
16. Tilliss TSI KJ. *Dentin Hypersensitivity. Clinical Practice of the Dental Hygienist*. 9th ed. (Wilkins W&, ed.). Philadelphia: Lippincott; 2005:711-25.
17. Taani D, Awartani F. Prevalence and Distribution of Dentin Hypersensitivity and Plaque in A Dental Hospital Population. *Quintessence Int* 2001;32:372-76.
18. Brannstrom M, Strom A. The hydrodynamics of the dentines, its possible relationship to dentinal pain. *Int Dent J* 1972;22:219-227.
19. Wilson S, HM Dick. *Topley and Wilson's Principles of Bacteriology, Virology and Immunity*. 7th ed. London: Edward Arnold Publishers Ltd; 1984.
20. Marsh P, Martin M. *Oral Microbiology*. 4th ed. Oxford, Wright; 1999:6-12,20,46-52.
21. Schoeken MJM, Van Den Hoeven Js, Franken HCM. Comparative Recovery of Streptococcus mutans on Five Isolation Media, Including a New Smile Selectiv Medium. *JDent Res* 1986:65.
22. Nakano K, Nemoto H, Nomura R, et al. Serotype distribution of Streptococcus mutans a pathogen of dental caries in cardiovascular specimens from Japanese patients Printed in Great Britain. 2007:551-556.
23. Dzink JL, Tanner AC, Haffajee AD, et al. : Gram-Negative Species Associated with Active Destructive Periodontal Lesions. *J Clin Periodontol* 1985;12:648.
24. Moore WE, Holdeman LV, Cato EP et al. Comparative bacteriology of juvenile periodontitis. *Infect Immun* 1985;48:507.
25. Kroes I, Lepp PW R DA. Bacterial diversity within the human subgingival crevice. *Proc Natl Acad Sc* 1999;96:145-47.
26. Contreras A, Slots J. Herpesviruses in Human Periodontal Disease. *J Periodontal Res* 2000;35:3.
27. Amerongen A. Ludah dan Kelenjar Ludah. *Gajah Mada Univ. Press* 1991.
28. Woofter C. The prevalence and etiology of gingival recession. *Periodont Abstr* 1969;17:45.

29. Loe H, Anerud A, Boysen H. The natural history of periodontal disease in man: Prevalence, severity and extent of gingival recession. *J Periodontol* 1992;63:498.
30. Stetler K, Bissada N. , Significance of the width of keratinized gingiva on the periodontal status of teeth with submarginal restorations. *J Periodontol* 1987;58:697-700.
31. Suzuki N, Yoshida A, Nakano Y. Quantitative Analysis of Multi-Species Oral Biofilms by TaqMan Real-Time PCR. *Clin Med Res* 2005;3:176-85.
32. Paster B, Dewhirst F. . Molecular Microbial Diagnosis. *Periodontol* 2000 2009;51:38-44.
33. Shemesh M, Tam A, Aharoni R, Steinberg D. Genetic Adaptation of Streptococcus mutans during Biofilm Formation on Different Types of Surfaces. *BMC Microbiol*. 2010;10.
34. Ohot T, Yamashita Y, Shimazaki Y, Kushiyama M, Koga T. Simple and Rapid Detection of Streptococcus Mutans and Streptococcus Sorbinus in Human Saliva by Polimerase Chain Reaction. *Oral Microbiol Immunol* 2000;15:258-62.
35. Dahlan M.S. *Statistik Untuk Kedokteran Dan Kesehatan*. 5th ed. Jakarta: Salemba Medika; 2010.
36. Hastono S. Analisis Data. Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Indonesia. Jakarta: 2001:129-134.



**UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI**

JLN. SALEMBA RAYA NO. 4 JAKARTA PUSAT 10430
TELP. (62-21) 31930270, 3151035
FAX. (62-21) 31931412

SURAT KETERANGAN LOLOS ETIK

Nomor: 22/Ethical Clearance/FKG/VI/2014

Setelah membaca dan mempelajari/mengkaji usulan penelitian yang tersebut di bawah ini:

Judul

:" Pengaruh Serotipe *Streptococcus Mutans* Terhadap Derajat Keasaman Plak dan Saliva Pada Penderita Hipersensitif Dentin (Analisis Menggunakan *Real Time*)"

Nama Peneliti

: Albert, drg. 1106125015

Sesuai dengan keputusan Anggota Komisi Etik, maka dengan ini Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia menerangkan bahwa penelitian tersebut dinyatakan lolos etik.

Mengetahui:
Dekan FKG/VI,

Jakarta, 03 Juni 2014
Ketua Komisi Etik Penelitian FKG/VI

Dr. drg. Yosi Kusuma Eriwati, MSi
NIP 195601261980032003

Drg. Lisa Rinanda Amir, PhD
NIP 197609172010122002

**INFORMASI DAN SURAT PERMOHONAN KESEDIAAN PARTISIPASI
DALAM PENELITIAN**

Kepada Yth,

Bpk/Ibu/Sdr _____

di tempat

Dengan Hormat,

Bersama ini saya mohon kesediaan Bapak/Ibu/Sdr untuk berpartisipasi sebagai subjek penelitian saya yang berjudul :

**PENGARUH SEROTIPE *STREPTOCOCCUS MUTANS* TERHADAP
DERAJAT KEASAMAN PLAK DAN SALIVA PADA PENDERITA
HIPERSENSITIF DENTIN
(Analisis Menggunakan *Real Time PCR*)**

Dengan tujuan untuk mengetahui apakah jumlah dan distribusi serotipe *Streptococcus mutans* pada penderita hipersensitif dentin.

Dalam penelitian ini kepada Bpk/Ibu/Sdr akan dilakukan :

1. Wawancara
2. Pemeriksaan klinis dan tes sensitifitas gigi
3. Pengambilan sampel plak pada gigi yang mengalami resesi gingiva
4. Pengambilan sampel saliva (air liur)

Prosedur pengambilan sampel pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Pengambilan sampel plak menggunakan tusuk gigi steril yang diusapkan ke permukaan gigi pada daerah yang mengalami resesi gingiva
2. Pengambilan saliva tanpa stimulasi langsung ke dalam tabung menggunakan corong

3. Pengukuran senitifitas gigi menggunakan metode sebagai berikut:
 - a. Permukaan gigi sampel ditiup dengan menggunakan alat *3 way syringe*
 - b. Permukaan gigi sampel digores dengan sonde *halfmoon*
 - c. Permukaan gigi sampel disemprot dengan air dari alat *3 way syringe*

Adapun ketidaknyamanan yang akan dialami selama prosedur penelitian tersebut adalah waktu kunjungan yang diperlukan adalah kurang lebih selama lima belas menit untuk wawancara, pemeriksaan klinis dan tes sensitifitas serta pengambilan sampel plak dan saliva yang akan diperiksa di laboratorium. Pengambilan sampel ini tidak menimbulkan rasa sakit dan tidak ada efek samping.

Keuntungan menjadi subjek penelitian ini yaitu mendapatkan pemeriksaan gigi dan konsultasi masalah kesehatan gigi secara cuma-cuma, mendapatkan data kondisi gigi hipersensitif secara laboratorik dan untuk pemeriksaan laboratorium tidak dikenakan biaya apapun. Diharapkan hasil penelitian ini secara keseluruhan dapat membantu solusi perawatan dentin hipersensitif di masa yang akan datang.

Jika Bpk/Ibu/Sdr bersedia, surat pernyataan persetujuan menjadi subjek penelitian yang terlampir harap ditandatangani dan dikembalikan kepada drg.Albert. Perlu diketahui bahwa surat persetujuan tersebut tidak mengikat dan Bpk/Ibu/Sdr dapat mengundurkan diri dari penelitian ini kapan saja selama penelitian berlangsung.

Demikian semoga keterangan saya di atas dapat dimengerti dan atas kesediaan Bpk/Ibu/Sdr untuk berpartisipasi dalam penelitian ini saya ucapkan banyak terima kasih.

Jakarta,

Peneliti,

drg. Albert
Peserta Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Periodontia
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia

PENJELASAN BAGI SUBJEK PENELITIAN

Penelitian:

PENGARUH SEROTIPE *STREPTOCOCCUS MUTANS* TERHADAP DERAJAT KEASAMAN PLAK DAN SALIVA PADA PENDERITA HIPERSENSITIF DENTIN

(Analisis Menggunakan *Real Time PCR*)

Peneliti : drg. Albert

Saya mengucapkan banyak terima kasih kepada Bpk/Ibu/Sdr atas kesediaannya meluangkan waktu untuk menjadi subjek penelitian ini. Pada kesempatan ini, saya ingin Bpk/Ibu/Sdr mengetahui dan memahami tujuan serta manfaat penelitian, sehingga mamahami apa yang dilakukan, diperiksa dan didapatkan sebagai hasil penelitian ini. Saya berharap Bpk/Ibu/Sdr bersedia ikut dalam penelitian sebagai relawan/ subjek penelitian dan semoga partisipasi ini dapat memberikan andil besar dalam perawatan terhadap dentin hipersensitif dan merupakan amalan Bpk/Ibu/Sdr khususnya bagi penderita dentin hipersensitif dan bagi dunia kedokteran gigi dalam mengetahui peran bakteri *streptococcus mutans* pada dentin hipersensitif.

Apakah yang dimaksud dengan dentin hipersensitif?

Dentin hipersensitif adalah rasa sakit yang timbul pada dentin yang terbuka akibat respon terhadap rangsang kimia, termal, taktil atau osmotik karena dentin telah kehilangan lapisan sementumnya. Keadaan ini akan menyebabkan rasa yang tidak nyaman pada gigi.

Apakah penyebab dentin hipersensitif?

Penyebab dentin hipersensitif multifaktorial, diantaranya adalah kehilangan enamel akibat erosi atau abrasi, pengaruh biofilm plak, permukaan akar yang

kehilangan struktur sementumnya serta resesi gingiva yang terjadi karena penuaan, penyakit periodontal dan kebiasaan buruk pasien. Semua hal ini berpengaruh terhadap tubuli dentin dan menyebabkan hipersensitifitas.

Apakah yang dimaksud dengan *streptococcus mutans*?

S.mutans merupakan bakteri gram positif yang merupakan agen penyebab utama karies gigi karena berperan dalam pembentukan biofilm yang dikenal sebagai plak pada permukaan gigi. Bakteri ini bersifat asidogenik yaitu menghasilkan asam dan asidurik yaitu mampu hidup pada suasana asam. Bakteri ini mampu merusak tubuli dentin dan produk asam yang dihasilkan dapat menyebabkan demineralisasi pada permukaan gigi dan menyebabkan dentin hipersensitif. *S.mutans* terdiri dari serotipe c,e dan f

Apakah tujuan dan manfaat penelitian ini?

Tujuan dari penelitian ini adalah menganalisis pengaruh serotipe *S. mutans* pada tingkat keasaman sampel plak dan saliva antara dentin hipersensitif .

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah untuk menambah pengetahuan tentang peranan *streptococcus mutans* terhadap derajat keasaman yang terjadi pada penderita dentin hipersensitif agar dapat dilakukan perawatan yang tepat dalam pengobatan.

Berapa lama penelitian akan dilakukan?

Penelitian terhadap Bpk/Ibu/Sdr akan dilakukan dalam satu kali pertemuan dan memakan waktu pemeriksaan 20 menit

Bagaimana mengenai biaya?

Semua biaya pemeriksaan klinis maupun laboratorium akan ditanggung oleh peneliti, sehingga Bpk/Ibu/Sdr tidak akan dikenakan biaya.

LEMBAR PERSETUJUAN

Setelah membaca dan mendapat penjelasan mengenai penelitian dan paham terhadap apa yang dilakukan dan diperiksa pada penelitian yang berjudul:

**PENGARUH SEROTIPE *STREPTOCOCCUS MUTANS* TERHADAP
DERAJAT KEASAMAN PLAK DAN SALIVA PADA PENDERITA
HIPERSENSITIF DENTIN
(Analisis Menggunakan *Real Time PCR*)**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama :

Alamat :

Telp. :

Dengan ini saya menyatakan saya setuju menjadi subjek pada penelitian ini.

Jakarta, 2014

(.....)

Subjek Penelitian

LEMBAR PEMERIKSAAN KLINIS

Nama : _____

Umur : _____

Jenis Kelamin : L / P

Dentin hipersensitif : Ya/ Tidak

Indeks Plak : _____

Indeks Kalkulus : _____

Skor Plak pada gigi yang dijadikan Sampel

Resesi Gingiva

Rahang Atas			Rahang Bawah		
	B	L		B	L
13			33		
14			34		
23			43		
24			44		

Rahang Atas			Rahang Bawah		
	B	L		B	L
13			33		
14			34		
23			43		
24			44		

Indeks plak Silness & Loe 1964

0 = Tidak ada plak

1 = Terdapat plak pada probe (tidak terlihat mata)

2 = Plak terlihat mata

3 = Jumlah Plak banyak

Indeks Kalkulus

0 = tidak ada kalkulus

1 = Kalkulus supragingiva

2 = Kalkulus subgingiva

3 = Kalkulus supragingiva +
subgingiva

Lampiran 6: Hasil Penghitungan Proporsi Serotipe C Strptococcus Mutans

Hasil Penghitungan Proporsi Serotipe c *S. Mutans* pada Plak dan Saliva Penderita Dentin Hipersensitif dan Non sensitif

Kondisi Dentin/ No.Sampel	$2^{-\Delta ct \text{ saliva}}$	$2^{-\Delta ct \text{ plak}}$
non 1	ND	ND
non 2	0.0000021091	ND
non 3	ND	0.000000033498
non 4	0.0001526490	ND
non 5	ND	ND
non 6	0.0068205863	ND
non 7	0.0068205863	ND
non 8	0.0068205863	0.000000251248
non 9	0.0000026036	ND
non 10	0.0000026036	ND
non 11	ND	0.000006286373
non 12	ND	0.000000226645
non 13	0.0005969075	ND
non 14	0.0005969075	ND
non 15	ND	ND
non 16	ND	ND
sensitif 1	0.0000018041	0.000033280227
sensitif 2	0.0000473840	ND
sensitif 3	0.0003429028	0.000009108602
sensitif 4	0.0000265524	ND
sensitif 5	0.0000265524	0.000014569515
sensitif 6	0.0000265524	ND
sensitif 7	0.0000265524	ND
sensitif 8	0.0000265524	ND
sensitif 9	0.0000010523	0.310331903784
sensitif 10	0.0000010523	ND
sensitif 11	0.0000010523	ND
sensitif 12	0.0000010523	0.000046270446
sensitif 13	0.0000482092	ND
sensitif 14	0.0000482092	ND
sensitif 15	0.0000482092	0.000070685829
sensitif 16	0.0000482092	0.000015724099
sensitif 17	0.0000482092	ND
sensitif 18	0.0000001881	ND
sensitif 19	0.0000001881	ND
sensitif 20	0.0000001881	ND

Lampiran 7: Analisis Data

Tests of Normality

	Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
tingkat resesi gingiva	,839	36	,000
ph plak	,654	36	,000
ph saliva	,778	36	,000
proporsi S.Mutans serotipe C dalam saliva	,352	36	,000
proporsi S.Mutans serotipe C dalam plak	,158	36	,000

a. Lilliefors Significance Correction

Descriptive Statistics

Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
1,00	4,00	2,6806	,87139
6,50	7,50	6,7222	,34733
7,00	8,00	7,3472	,35495
,0000000000	,0068205863	,000627394767	,001899335368
,0000000000	,3103319038	,008625787230	.051721050685
			5
			8

Man Whitney antara pasien sensitif dan tidak sensitif

Ranks

	klasifikasi pasien	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ph plak	Sensitif	20	13,30	266,00
	Non Sensitif	16	25,00	400,00
	Total	36		
ph saliva	Sensitif	20	15,98	319,50
	Non Sensitif	16	21,66	346,50
	Total	36		
proporsi S.Mutans serotipe C dalam saliva	Sensitif	20	19,35	387,00
	Non Sensitif	16	17,44	279,00
	Total	36		
proporsi S.Mutans serotipe C dalam plak	Sensitif	20	20,00	400,00
	Non Sensitif	16	16,63	266,00
	Total	36		

Test Statistics^a

	ph plak	ph saliva	proporsi S.Mutans serotipe C dalam saliva	proporsi S.Mutans serotipe C dalam plak
Mann-Whitney U	56,000	109,500	143,000	130,000
Wilcoxon W	266,000	319,500	279,000	266,000
Z	-3,980	-1,756	-,545	-1,171
Asymp. Sig. (2-tailed)	,000	,079	,586	,242
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,001 ^b	,109 ^b	,604 ^b	,352 ^b

a. Grouping Variable: klasifikasi pasien

b. Not corrected for ties.

Spearman test

		Correlations							
		klasifik asi pasien	tingkat resesi gingiva	tingkat sensitivita s dentin	ph plak	ph saliva	proporsi S.Mutans serotipe C dalam saliva	proporsi S.Mutans serotipe C dalam plak	
S	klasifikasi pasien	Correlation Coefficient	1,000	-,763**	-,881**	,673**	,297	-,092	-,198
p		Sig. (2-tailed)	.	,000	,000	,000	,079	,593	,247
e		N	36	36	36	36	36	36	36
m	tingkat resesi gingiva	Correlation Coefficient	-,763**	1,000	,822**	-,528**	-,197	-,068	,196
a		Sig. (2-tailed)	,000	.	,000	,001	,249	,694	,253
n'		N	36	36	36	36	36	36	36
s	tingkat sensitivitas dentin	Correlation Coefficient	-,881**	,822**	1,000	-,534**	-,391*	,071	,057
r		Sig. (2-tailed)	,000	,000	.	,001	,019	,682	,742
r		N	36	36	36	36	36	36	36
h	ph plak	Correlation Coefficient	,673**	-,528**	-,534**	1,000	,185	,220	-,281
o		Sig. (2-tailed)	,000	,001	,001	.	,279	,197	,097
as		N	36	36	36	36	36	36	36
h	ph saliva	Correlation Coefficient	,297	-,197	-,391*	,185	1,000	-,568**	,049
o		Sig. (2-tailed)	,079	,249	,019	,279	.	,000	,777
as		N	36	36	36	36	36	36	36
h	proporsi S.Mutan dalam saliva	Correlation Coefficient	-,092	-,068	,071	,220	-,568**	1,000	-,033
o		Sig. (2-tailed)	,593	,694	,682	,197	,000	.	,848
as		N	36	36	36	36	36	36	36
h	proporsi S.Mutan dalam plak	Correlation Coefficient	-,198	,196	,057	-,281	,049	-,033	1,000

s serotipe	Sig. (2- tailed)	,247	,253	,742	,097	,777	,848	.
C dalam plak	N	36	36	36	36	36	36	36

**. Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

