

Pengaruh Kombinasi Menyikat dengan Pasta Gigi dan Siwak terhadap Amplikon *Porphyromonas gingivalis* pada Santri Pondok Pesantren Ar-Razi

Nydia Rahmawati, Helmin Elyani, Arif Yahya*

*Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

e-mail: nydiaarahmawatii@gmail.com

ABSTRAK

Pendahuluan: *Porphyromonas gingivalis* mendasari hubungan antaraperiodontitis dengan aterosklerosis karena memiliki faktor patogenesitas sehingga mampu menginvasi sel inang. Tahap invasi terpenting yaitu persisten oleh lipopolisakarida (LPS) *P. gingivalis*. Pasta gigi dengan SLS tidak dapat penetrasi pada LPS *P. gingivalis*, namun siwak (*Salvadora persica*) mengandung isothiocyanate yang mampu penetrasi ke LPS *P. gingivalis*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh menyikat dengan kombinasi pasta gigi dan siwak terhadap hasil amplifikasi (*amplicon*) *P. gingivalis* dengan metode RT-PCR (*Real Time-PCR*).

Metode: Penelitian eksperimental dengan desain *pre* dan *post test group*, menggunakan 36 responden (pria dan wanita) terbagi 2 kelompok yaitu penyikatan dengan pasta gigi dan kombinasi pasta gigi dan siwak selama 10 hari. Sampel saliva dan gingiva diambil sebelum dan sesudah perlakuan. Kuantifikasi DNA *P. gingivalis* yaitu *quantification cycle value* (*cq value*) menggunakan 40 siklus untuk mengakumulasi fluoresen hingga melewati *threshold*. Data pengaruh sebelum dan sesudah perlakuan dianalisis dengan uji *Wilcoxon* dan perbedaan kedua pengaruh variabel dianalisis dengan uji *Mann-Whitney* dengan tingkat signifikansi $P < 0,05$.

Hasil: dsDNA *P. gingivalis* pada saliva sebelum penyikatan dengan pasta gigi terdeteksi pada 25,86 siklus dan sesudah perlakuan pada 30,09 siklus ($P > 0,05$), pada gingiva sebelum perlakuan terdeteksi pada 25,73 siklus dan sesudah perlakuan pada 32,08 siklus ($P < 0,05$). dsDNA *P. gingivalis* pada saliva sebelum penyikatan dengan kombinasi pasta gigi dan siwak terdeteksi pada 26,16 siklus dan sesudah perlakuan pada 33,62 siklus ($P < 0,05$), pada gingiva sebelum perlakuan terdeteksi pada 25,94 siklus dan sesudah perlakuan pada 32,57 siklus ($P < 0,05$). Selisih dsDNA *P. gingivalis* sebelum dan sesudah perlakuan pada saliva kelompok 1 yaitu 4,23 dan kelompok 2 yaitu 7,46 ($P > 0,05$). Selisih dsDNA *P. gingivalis* sebelum dan sesudah perlakuan pada gingiva kelompok 1 yaitu 6,35 dan kelompok 2 yaitu 6,62 ($P > 0,05$).

Kesimpulan: Penyikatan dengan pasta gigi dapat menurunkan jumlah *P. gingivalis* pada gingiva secara signifikan, tetapi pada saliva menurun tidak signifikan. Kombinasi penyikatan dengan pasta gigi dan siwak dapat menurunkan jumlah *P. gingivalis* pada saliva dan gingiva secara signifikan. Penyikatan dengan pasta gigi dan kombinasi pasta gigi dan siwak berbeda namun tidak signifikan baik pada saliva dan gingiva.

Kata kunci: siwak, pasta gigi, *Porphyromonas gingivalis*, RT-PCR.

The Effect of Brushing with The Combination of Toothpaste and siwak Towards *Porphyromonas gingivalis* on Ar-Razi Islamic Boarding School Students

ABSTRACT

Introduction: *Porphyromonas gingivalis* underlies the relationship between periodontitis with atherosclerosis because has pathogenicity factor, so it is able to invade host cells. The most important stage is defense stage by lipopolysaccharide (LPS) of *P. gingivalis*. Toothpaste with SLS that can not penetrate on LPS of *P. gingivalis*. However, siwak (*Salvadora persica*) contains isothiocyanate that is able to penetrate the LPS of *P. gingivalis*. This research is intended to prove the effect of brushing teeth with toothpaste and siwak towards *P. gingivalis* with RT-PCR method (*Real Time-PCR*).

Method: This research was laboratory experimental with pre and post test design, used 36 respondents (men and women) divided into 2 which are brushing teeth with toothpaste and the combination of toothpaste and siwak towards *P. gingivalis* during 10 days. The sample on saliva and gingiva were taken before and after treatment. DNA of *P. gingivalis* was quantified with *quantification cycle value* (*cq value*) used 40 times to accumulate the fluorescent through threshold. Data of before and after treatment was analyzed with Wilcoxon test and differences of two variables with Mann-Whitney test with the significance level $P < 0.05$.

Result: dsDNA of *P. gingivalis* on saliva before brushing with toothpaste was detected on 25,86 cycles and after the treatment on 30,09 cycles ($P > 0,05$), on gingiva, before the treatment dsDNA was detected on 25,73 cycles and after the treatment on 32,08 cycles ($P < 0,05$). dsDNA of *P. gingivalis* on saliva before brushing with the combination of toothpaste and siwak was detected on 26,16 cycles and after the treatment on 33,62 cycles ($P < 0,05$), on gingiva, before the treatment dsDNA was detected on 25,94 cycles and after the treatment on 32,57 cycles ($P < 0,05$). Difference dsDNA of *P. gingivalis* before and after treatment in saliva group 1 was 4.23 and group 2 was 7.46 ($P > 0.05$). Difference dsDNA of *P. gingivalis* before and after treatment in group 1 gingiva was 6.35 and group 2 was 6.62 ($P > 0.05$).

Conclusion: The brushing with toothpaste shows *P. gingivalis* on gingiva decreased significantly but on saliva decreased insignificantly. The brushing with the combination of toothpaste and siwak shows *P. gingivalis* on saliva and gingiva decreased significantly. Brushing with toothpaste and the combination of toothpaste and siwak are different but not significant both in saliva and gingiva.

Keywords: siwak, toothpaste, *Porphyromonas gingivalis*, RT-PCR

PENDAHULUAN

Saat ini penyakit periodontal memiliki peran penting terhadap penyakit sistemik lain yaitu penyakit kardiovaskular^{1,2}. Bakteri yang paling banyak teridentifikasi pada plak atheroma pasien dengan periodontitis ialah *Porphyromonas gingivalis*³. DNA *P. gingivalis* ditemukan 52% pada sampel arteri pasien aterosklerosis⁴. Sehingga *P. gingivalis* sering dihubungkan dengan aterosklerosis.

Porphyromonas gingivalis diduga mendasari hubungan antara infeksi oral (periodontitis) dengan kejadian aterosklerosis⁵. Hubungan ini karena *P. gingivalis* memiliki faktor patogenesitas yaitu fimbriae, lipopolisakarida, gingipain, kapsul dan hemagglutinin. Faktor patogenesitas *P. gingivalis* mampu meningkatkan kemampuan invasi pada sel epitel, endotel dan otot polosinang⁶. Invasi *P. gingivalis* terdiri dari lima tahap yaitu 1) pelekatan *P. gingivalis*, 2) penetrasi *P. gingivalis*, 3) penyebaran/ diseminasi *P. gingivalis* 4) pertahanan *P. gingivalis*⁷. Tahap terpenting adalah Tahap pertahanan *P. gingivalis*. *P. gingivalis* dapat berkolonisasi dan menimbulkan inflamasi pada jaringan pendukung gigi (periodontitis) kemudian masuk ke pembuluh darah (bakteremia) sehingga menyebabkan penyakit sistemik⁸. Perlu upaya pengendalian pertumbuhan *P. gingivalis* melalui manajemen kesehatan rongga mulut yaitu dengan menyikat dengan pasta gigi dan siwak.

Pasta gigi memiliki potensi untuk mencegah pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. Pasta gigi mengandung bahan aktif, abrasif dan detergen⁹. Bahan aktif yaitu sodium fluorida dan sodium monofluorosulphate yang bersifat bakterisida terhadap bakteri kariogenik dengan menurunkan kemampuan bakteri menghasilkan asam pada plak serta mencegah demineralisasi enamel gigi¹⁰. Bahan abrasif yaitu silika yang berfungsi untuk menambah kekentalan pasta gigi dan mampu menghilangkan plak pada permukaan gigi¹¹. Detergen yaitu Sodium lauryl sulphate (SLS) yang mempermudah pelepasan sisa-sisa makanan dan plak yang berada pada permukaan mulut¹². SLS tidak efektif terhadap membran luar *P. gingivalis* yang mengandung Lipopolisakarida (LPS), karena LPS dapat membatasi masuknya bahan kimia seperti deterjen dan antibiotik¹³.

Siwak (*Salvadora persica*) merupakan tumbuhan herbal yang banyak digunakan sebagai pembersih gigi karena memiliki sifat antibakteri, anti-plak dan antiinflamasi¹⁴. Berdasarkan hadist, bersiwak adalah sunnah dan terdapat 70 kebaikan salah satunya yaitu membersihkan mulut dan gigi¹⁵. Siwak memiliki sifat antibakteri yang diperankan oleh quercetin dan kaempferol (flavonoid) dengan menghambat sintesis DNA bakteri¹⁶. Alkaloid (salvadorin) dan sulfur bersifat bakterisida¹⁷. Isothiocyanate sebagai bakterisida yang cepat dan kuat terhadap *P. gingivalis* karena dapat penetrasi dan merusak LPS¹⁸. Anti-plak diperankan oleh silika sebagai bahan abrasif untuk menghilangkan plak¹⁹. Antiinflamasi diperankan oleh vitamin C sebagai penghambat proses radang dan memperbaiki

jaringan yang rusak²⁰. Siwak mengandung fluorida dan kalsium untuk remineralisasi gigi²¹. Tanin untuk merangsang produksi saliva²². Resin dapat membentuk lapisan di enamel untuk melindungi gigi dari karies²³. *Salvadora persica* digunakan lima kali sehari secara utuh signifikan mengurangi akumulasi plak²⁴. Siwak terbukti memiliki efek antibakteri pada *P. gingivalis* dengan digunakan secara utuh²⁵.

Namun, peneliti ingin mengetahui pengaruh kombinasi menyikat dengan pasta gigi dan siwak terhadap *amplicon Porphyromonas gingivalis* santri Pondok Pesantren Ar-Razi menggunakan metode RT-PCR (*Real Time-Polymerase Chain Reaction*). Tujuannya untuk mendeteksi dan mengkuantifikasi *P. gingivalis*, kemudian membandingkan *amplicon P. gingivalis* sebelum dan sesudah perlakuan pada saliva dan gingiva. Perlakuan terdiri dari 2 kelompok. Kelompok 1 yaitu responden yang menyikat dengan pasta gigi. Kelompok 2 yaitu responden yang menyikat dengan pasta gigi dan siwak. Hasil kuantitatif *P. gingivalis* dari RT-PCR berupa Cq value (cycle quantification value)³¹.

METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

Penelitian dikerjakan dengan cara *in vivo* dengan jenis penelitian eksperimen laboratorium menggunakan desain penelitian *pre* dan *post test group*. Perlakuan dilaksanakan selama 10 hari yaitu 1 Juli 2019 sampai 11 Juli 2019.

Penelitian dilakukan di Pondok Pesantren Ar-Razi Malang, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang (FK UNISMA), Laboratorium Halal Center Universitas Islam Malang (UNISMA). Siwak yang telah disertifikasi oleh Materia Medica Batu.

Penelitian ini telah disetujui secara etik oleh Komisi Etik Penelitian Universitas Muhammadiyah Malang dengan No. E.5.a./071/KEPK-UMM/V/20189 pada tanggal 28 Mei 2018.

Responden Penelitian

Populasi responden penelitian menggunakan santri pria dan wanita Pondok Pesantren Ar-Razi yang memenuhi kriteria inklusi yaitu 40 orang. Total responden yaitu 36 subyek dengan rumus finit (diketahui) seperti di bawah ini²⁶.

$$n = \frac{Z_{\alpha}^2 \cdot N \cdot p(1-p)}{d^2(N-1) + X^2 p(1-p)}$$

Keterangan:

n= Jumlah sampel

N= Jumlah populasi

Z_{α}^2 = Harga kurva normal yang tergantung dari harga nilai alpha ($Z_{\alpha 0,05} = 1,96$)

p= Perkiraan proporsi (jika tidak diketahui dianggap 50%)

d= delta, presisi absolut atau *margin of error* yang diinginkan (1-5%)

Kesalahan yang dapat ditoleransi ditetapkan sesuai keinginan peneliti adalah d (*margin of error*) (Eriyanto, 2007). Sehingga peneliti menetapkan nilai d adalah 5% dengan tingkat keyakinan 95%.

$$n = \frac{(1,96)^2 \cdot 40 \cdot 0,5(1-0,5)}{(0,05)^2(40-1) + (1,96)^2 \cdot 0,5(1-0,5)}$$

$n = 36,3$ subyek (dibulatkan 36 subyek) orang

Responden dibagi dalam 2 kelompok yaitu kelompok 1 (penyikatan dengan pasta gigi) dan kelompok 2 (kombinasi penyikatan dengan pasta gigi dan siwak). Kedua kelompok menyikat gigi setelah sarapan dan sebelum tidur malam karena penyikatan gigi dengan benar (sesudah makan pagi dan sebelum tidur malam) mengalami penurunan dari tahun 2007 hingga 2013 yaitu 7,3% menjadi 2,3%²⁷. Kelompok 2 dikombinasi dengan siwak sebagai sikat gigi sebelum wudhu shalat wajib 5 waktu yaitu subuh, dzuhur, ashar, magrib dan isya'. Sesuai hadist dari Abu Hurairah r.a., dari Nabi SAW. beliau bersabda, "seandainya aku tidak (khawatir) akan memberatkan umatku, niscaya aku perintahkan mereka (agar menggosok gigi) dengan siwak setiap akan salat." (HR. Muslim)²⁸. Siwak digunakan lima kali sehari secara utuh signifikan mengurangi akumulasi plak²⁹. Secara in vitro, siwak yang dipotong (tanpa ekstraksi) terbukti memiliki efek antibakteri pada *P. gingivalis* secara signifikan²⁵. Wanita yang sedang menstruasi tetap menggunakan siwak sesuai shalat wajib 5 waktu kemudian berkumur. Sikat gigi, pasta gigi dan siwak yang digunakan seragam dan dilakukan selama 10 hari. Cara menyikat gigi dan bersiwak disamakan dengan teknik *bass*. Peneliti melakukan *follow up* penggunaan pasta gigi, siwak dan keluhan melalui grup di *social media*.

Pengambilan Sampel Responden

Sampel yang dikumpulkan dari setiap responden adalah saliva dan gingiva. Sampel saliva diambil dengan metode *spitting* (saliva dikumpulkan di dasar mulut dengan bibir tertutup selama satu menit atau sebanyak 2 ml, kemudian dikeluarkan ke dalam tabung reaksi), ditutup dengan kapas dan aluminium foil. Sampel gingiva diambil dengan *swab* pada supragingiva bawah yang sering digunakan untuk mengunyah. *Swab* menggunakan *cotton swab* steril lalu dicelupkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 2 ml *normal saline* (NS). Kemudian tabung reaksi ditutup kapas dan aluminium foil. Sampel disimpan dalam kulkas suhu 2-8°C. Pengambilan sampel dilakukan 2 kali yaitu sebelum dan sesudah perlakuan.

Pembuatan Isolat DNA *Porphyromonas gingivalis*

500 µl sampel saliva dan gingiva dicampur dengan 500 µl aquades sehingga didapatkan 1 ml sampel. 1 ml sampel disentrifugasi selama 2 menit pada 16.000xg*, bagian supernatan dibuang. *Porphyromonas gingivalis* merupakan bakteri gram

negatif sehingga tahap selanjutnya adalah melisis sel dengan menambahkan 600 µl larutan Nuclei Lysis. Sampel diinkubasi selama 5 menit pada suhu 80°C, didinginkan pada suhu ruangan. Sampel ditambahkan 3 µl cairan RNase, dicampur dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 60 menit. Sampel didinginkan pada suhu ruangan. Protein diendapkan dengan menambahkan 200 µl cairan Protein Precipitation pada sampel sebelumnya, divortex selama 20 detik pada kecepatan tinggi. Sampel diinkubasi pada es selama 5 menit dan disentrifugasi pada 16.000xg* selama 3 menit.

Pengendapan DNA dengan cara bagian supernatan yang mengandung DNA dipindahkan ke tabung bersih yang berisi 600 µl isopropanol pada suhu ruangan, dicampur dan disentrifugasi selama 2 menit pada 16.000xg*. Supernatan dituang perlahan lalu dikeringkan dengan *absorbent paper*. 600 µl etanol 70% ditambahkan dalam tabung, dicampur dan disentrifugasi selama 2 menit pada 16.000xg*. Etanol diaspirasi dari pellet DNA dan dikeringkan dengan angin selama 10-15 menit hingga benar-benar kering. Terakhir pellet DNA direhidrasi dengan 100 µl cairan rehydration ditambahkan dalam tabung semalaman pada 4°C. DNA diisolasi dengan Wizard Genomic DNA Purification Kit. Setelah diisolasi, DNA direhidrasi dengan 100 µl cairan *rehydration* semalaman pada 4°C.

Pemeriksaan Isolat DNA *Porphyromonas gingivalis* dengan Real Time-PCR

Isolat DNA diperiksa dengan *Real Time-PCR* CFX Connect™. Semua reagen yang dibutuhkan dan dikondisikan pada suhu kamar. Reagen on-ice dikeluarkan dan dihindarkan dari paparan cahaya langsung. Larutan mastermix dibuat sesuai dengan rekomendasi 78 sampel seperti pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Komponen Pembuatan Larutan Mastermix

Komponen	Volume (µl)	Konsentrasi
5x HOT FIREPol® Evagreen® qPCR Mix Plus	4	1x
Primer Forward (10 pmol/ µl)	0,16-0,5	80-250 nM
Primer Reverse (10 pmol/ µl)	0,16-0,5	80-250 nM
Sampel DNA	3	50 ng-5 pg
ddH2O	12	
Total	20	

Larutan mastermix dihomogenisasi dengan vortex, dibagikan dengan jumlah yang sama (17 µl) pada setiap well PCR tube strip. 3 µl sampel DNA ditambah ke setiap well PCR tube strip yang sudah terisi mastermix dengan hati-hati agar tidak terdapat *air bubble*. Larutan tersebut dicampurkan dengan cara *up and down, spin down* untuk menurunkan larutan. *Optic module* dibuka, *well PCR tube strip* yang telah berisi sampel dan mastermix dimasukkan. *Optic module* ditutup, lalu program qPCR diatur seperti **Tabel 2**.

Tabel 2. Program RT-PCR Sesuai Protokol HOT FIREPol® Evagreen® qPCR Mix Plus

Tahapan Siklus	Parameter	
	Suhu	Waktu
Inisial Denaturasi	95°C	12 menit
Denaturasi	95°C	15 s
Annealing –Ekstensi	63,3°C	20 s
Analisis Melting Curve	65-95°C, 0,5°C increment, 5 s	
Jumlah siklus	40	Siklus

Pengaturan running CFX Manager 3.0 dibuka, lalu memberi nama sampel pada *plate*. tombol “Run” diklik untuk memulai proses PCR. Data siap untuk dianalisis dan dibuat dilaporkan hasil pengujian.

Kuantifikasi Data

Kuantifikasi dari RT-PCR adalah *quantification cycle value* (*cq value*) yaitu pada siklus berapa fluoresen pertama kali terdeteksi³⁰. Siklus terdiri dari tahap denaturasi, *annealing* dan ekstensi dan diulang hingga 40 siklus untuk mengakumulasi fluoresen hingga melewati *threshold*. Semakin banyak dsDNA target yang terbentuk maka *Cq value* terjadi pada siklus lebih awal³¹.

Melting curve adalah analisis setelah PCR untuk memperkirakan spesifisitas produk berdasarkan karakteristik lelehnya. Jika dsDNA meleleh pada suhu yang sama maka memiliki komposisi, urutan dan panjang basa yang sama³².

Tabel 3. Karakteristik Sampel Responden

Karakteristik Sampel	Sebelum Perlakuan		Setelah Perlakuan	
Jenis Kelamin	Laki-Laki	Perempuan	Laki-laki	Perempuan
Usia (tahun)	19-21	19-21	19-21	19-21
Jumlah Responden	20	19	20	19

Teknik Analisis Data

Data kuantifikasi *Porphyromonas gingivalis* berupa *Cq value* (*cycle quantification value*) dengan satuan siklus akan dilakukan uji SPSS versi 16.0. Peneliti melakukan uji normalitas dan uji homogenitas *Cq value*. Data tidak terdistribusi normal dan homogen sehingga dilakukan uji statistik non parametrik untuk menguji pengaruh sebelum dan sesudah perlakuan dengan uji wilcoxon. Menguji kedua pengaruh variabel menggunakan uji *mann-whitney*.

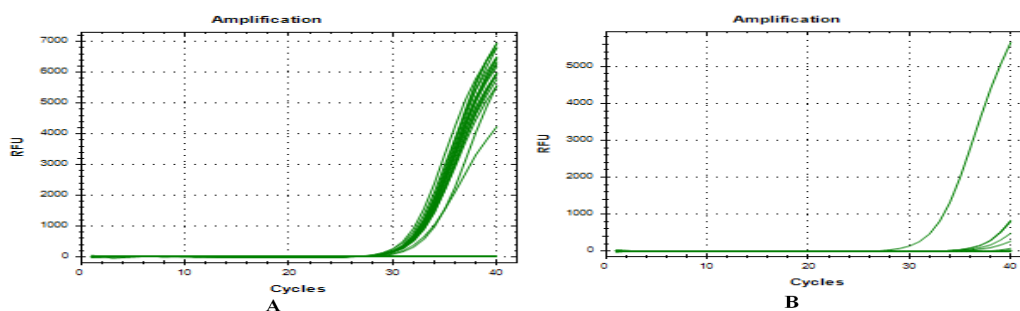
HASIL PENELITIAN

Karakteristik Sampel

Karakteristik sampel berdasarkan kriteria inklusi yang ditentukan oleh peneliti untuk dilakukan perlakuan selama 10 hari. Jumlah responden sebelum dan sesudah perlakuan sama yaitu 39 responden dengan kelompok pria 20 dan wanita 19 responden. Karakteristik sampel pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 3.

Hasil Pemeriksaan *Porphyromonas gingivalis* pada Responden yang Menyikat dengan Pasta Gigi

Pada penelitian menggunakan 40 siklus untuk mendeteksi dsDNA *P. gingivalis*. Semakin banyak dsDNA *P. gingivalis* maka terdeteksi pada siklus lebih awal atau *cq value* lebih sedikit. Sebaliknya, semakin sedikit dsDNA *P. gingivalis* maka terdeteksi pada siklus lebih akhir atau *cq value* lebih besar³¹. *Cq value* *P. gingivalis* pada saliva sebelum dan sesudah menyikat dengan pasta gigi selama 10 hari ditunjukkan pada Gambar 1.



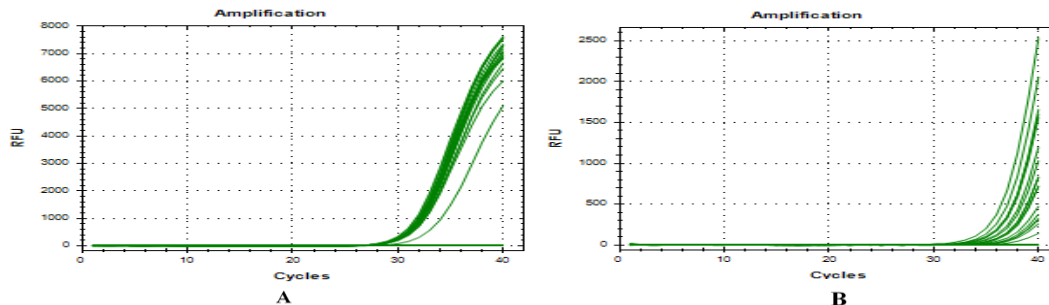
Gambar 1. Hasil Amplikon *Porphyromonas gingivalis* pada Sampel Saliva Responden yang Menyikat dengan Pasta Gigi (A) Sebelum Perlakuan (B) Setelah Perlakuan

Keterangan: Gambar 1 menunjukkan hasil kurva amplifikasi dsDNA *P. gingivalis* pada saliva dilihat dari (A) amplifikasi sebelum perlakuan terdeteksi pada rerata *Cq value* 25,86 siklus (B) amplifikasi setelah perlakuan terdeteksi pada rerata *Cq value* 30,09 siklus (*threshold*= 6 RFU).

Sedangkan Cq value *P. gingivalis* pada gingiva sebelum dan sesudah menyikat dengan pasta gigi selama 10 hari ditunjukkan pada **Gambar 2**.

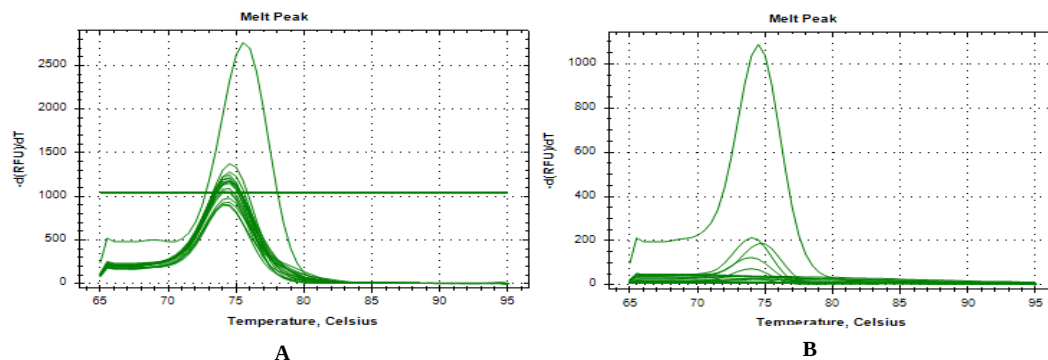
Berdasarkan **Gambar 1** dsDNA *P. gingivalis* pada saliva sudah penyikatan dengan pasta gigi selama 10 hari terdeteksi pada rerata Cq value yang lebih besar dibandingkan sebelum perlakuan. Pada **Gambar 2**, dsDNA *P. gingivalis* pada gingiva sudah penyikatan dengan pasta gigi selama 10 hari terdeteksi pada rerata Cq value yang lebih besar dibandingkan sebelum perlakuan.

Melting curve digunakan untuk memperkirakan spesifisitas DNA *P. gingivalis* berdasarkan *melting temperature* (Tm) dan puncak kurva. Jika dsDNA meleleh pada Tm dan puncak kurva yang sama maka dsDNA memiliki panjang dan komposisi basa dan urutan yang sama³². *Melting curve* *P. gingivalis* pada saliva sebelum dan sesudah menyikat dengan pasta gigi selama 10 hari ditunjukkan pada **Gambar 3**. Sedangkan, *melting curve* *P. gingivalis* pada gingiva sebelum dan sesudah menyikat dengan pasta gigi selama 10 hari ditunjukkan pada **Gambar 4**.

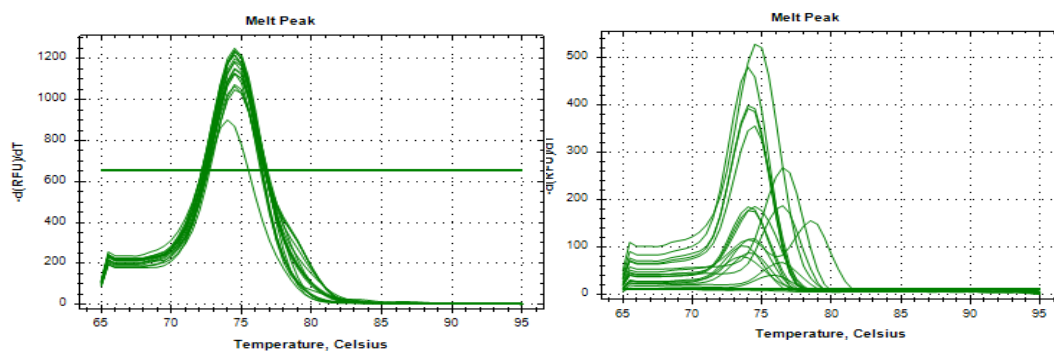


Gambar 2. Hasil Amplikon *Porphyromonas gingivalis* pada Sampel gingiva Responden yang Menyikat dengan Pasta Gigi
Keterangan: Gambar 2 menunjukkan hasil kurva amplifikasi dsDNA *P. gingivalis* dilihat dari (A) amplifikasi sebelum perlakuan terdeteksi pada rerata Cq value 25,73 siklus (B) amplifikasi sesudah perlakuan terdeteksi pada rerata Cq value 32,08 siklus (*threshold* = 6 RFU).

Keterangan: Gambar 2 menunjukkan hasil kurva amplifikasi dsDNA *P. gingivalis* pada gingiva dilihat dari (A) amplifikasi sebelum perlakuan terdeteksi pada rerata Cq value 25,73 siklus (B) amplifikasi sesudah perlakuan terdeteksi pada rerata Cq value 32,08 siklus (*threshold* = 6 RFU).



Gambar 3. Melting Curve *Porphyromonas gingivalis* pada Sampel Saliva Responden yang Menyikat dengan Pasta Gigi
Keterangan: Gambar 3 menunjukkan hasil *melting curve* dsDNA *P. gingivalis* dilihat dari (A) *melting curve* sebelum perlakuan menunjukkan *melting temperature* di 74,50°C (B) *melting curves* sesudah perlakuan menunjukkan *melting temperature* di 74-74,50°C (*threshold* = 6 RFU)



Berdasarkan **Gambar 3**, dsDNA *P. gingivalis* pada salivasetelah penyikatan dengan pasta gigi selama 10 hari, didapatkan bentuk puncak dan Tm pada suhu yang berbeda-beda. Namun sebelum perlakuan bentuk puncak dan Tm pada suhu yang sama. Pada **Gambar 4**, dsDNA *P. gingivalis* pada gingivasetelah penyikatan dengan pasta gigi selama 10 harididapatkan didapatkan bentuk puncak dan Tm pada suhu yang berbeda-beda. Namun sebelum perlakuan bentuk pucak dan Tm pada suhu yang sama.

***Porphyromonas gingivalis* pada Saliva Responden yang Menyikat dengan Pasta Gigi**

Berdasarkan perbandingan Cq value DNA *Porphyromonas gingivalis* pada saliva responden sebelum dan sesudah menyikat dengan pasta gigitunjukkan pada **Tabel 4**di bawah ini.

Tabel 4. Rerata Cq Value DNA *P. gingivalis* pada Saliva Responden yang Menyikat dengan Pasta Gigi

Penyikatan dengan Pasta Gigi	N	Rerata Siklus $\pm$ SD
Sebelum Perlakuan	18	25,86 $\pm$ 0,97 ^a
Sesudah Perlakuan	18	30,09 $\pm$ 9,13 ^a

Keterangan: Tabel 4 menunjukkan rerata $\pm$ SD perhitungan Cq valueDNA *P. gingivalis* pada saliva. Notasi yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan ($P>0,05$).

Sesudah penyikatan dengan pasta gigi, Cq value semakin besar maka jumlah dsDNA *P. gingivalis* pada salivasemakin sedikit. Penyikatan dengan pasta gigi selama 10 hari menurunkan jumlah dsDNA *Porphyromonas gingivalis* pada saliva sehingga memerlukan siklus 14% lebih banyak dibandingkan sebelum perlakuan ($P>0,05$).

***Porphyromonas gingivalis* pada Gingiva Responden yang Menyikat dengan Pasta Gigi**

Berdasarkan perbandingan Cq value DNA *Porphyromonas gingivalis* pada gingiva responden sebelum dan sesudah menyikat dengan pasta gigi ditunjukkan pada **Tabel 5** di bawah ini.

Tabel 5. Rerata Cq Value DNA *P. gingivalis* pada Gingiva Responden yang Menyikat dengan Pasta gigi

Penyikatan dengan Pasta Gigi	N	Rerata Siklus $\pm$ SD
SebelumPerlakuan	18	25,73 $\pm$ 0,51 ^a
SesudahPerlakuan	18	32,08 $\pm$ 2,34 ^b

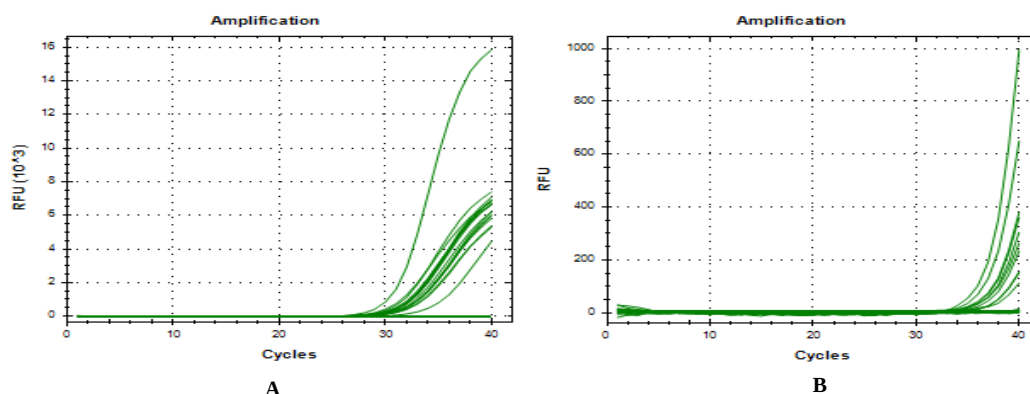
Keterangan: Tabel 5menunjukkan rerata $\pm$ SD perhitungan Cq value DNA *P. gingivalis* pada gingiva. Notasi yang beda menunjukkan ada perbedaan yang signifikan ($P<0,05$).

Sesudah penyikatan dengan pasta gigi, Cq value semakin besar maka jumlah dsDNA *P. gingivalis* pada gingivasemakin sedikit. Penyikatan dengan pasta gigi selama 10 hari menurunkan jumlah dsDNA *Porphyromonas gingivalis* pada gingiva sehingga memerlukan siklus 19,79% lebih banyak dibandingkan sebelum perlakuan ($P<0,05$).

Hasil Pemeriksaan *Porphyromonas gingivalis* pada Responden yang Menyikat dengan Pasta Gigi dan Siwak

Pada penelitian ini menggunakan 40 siklus untuk mendeteksi *P. gingivalis*. Semakin banyak dsDNAP. *gingivalis* maka terdeteksi pada siklus lebih awal atau cq value lebih sedikit. Sebaliknya, semakin sedikit dsDNA *P. gingivalis* makaterdeteksi pada siklus lebih akhir atau cq value lebih besar²⁷.

Cq value*P. gingivalis* pada saliva sebelum dan sesudah kombinasi menyikat dengan pasta gigi dan siwak selama 10 hariditunjukkan pada **Gambar 5**.



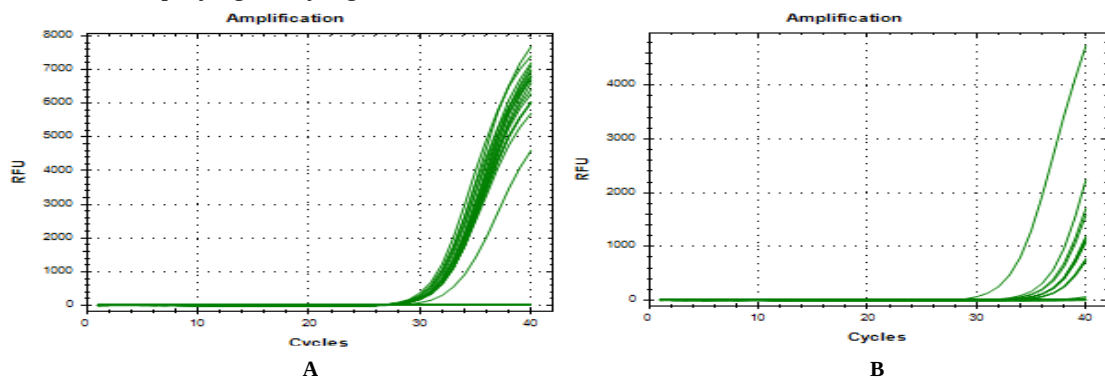
Gambar 5. Hasil Amplicon *Porphyromonas gingivalis* pada Sampel Saliva Responden yang Kombinasi Menyikat dengan Pasta Gigi dan Siwak

Keterangan: Gambar 5 menunjukkan hasil amplifikasidsDNA *P. gingivalis* pada saliva dilihat dari (A) amplifikasisebelum perlakuan terdeteksi pada rerata Cq value 26,16 siklus (B) amplifikasisesudah perlakuan terdeteksi pada rerata Cq value 33,62 siklus (threshold= 6 RFU).

Sedangkan C_q value *P. gingivalis* pada gingiva sebelum dan sesudah kombinasi menyikat dengan pasta gigi dan siwak selama 10 hari ditunjukkan pada **Gambar 6**.

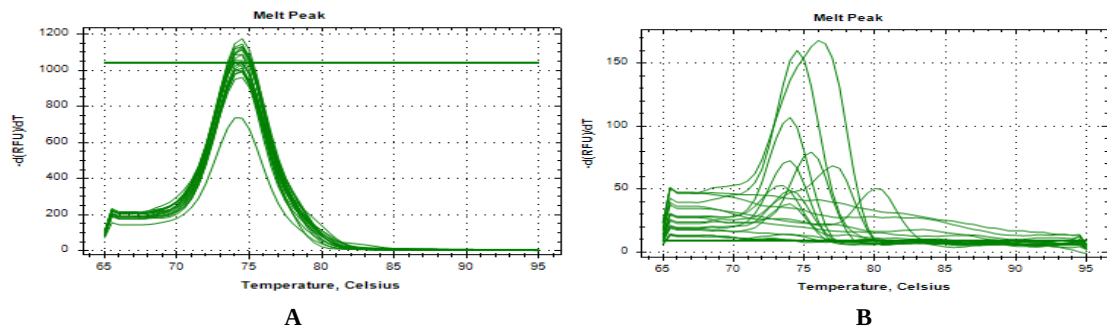
Berdasarkan **Gambar 6** dsDNA *P. gingivalis* pada saliva setelah kombinasi penyikatan dengan pasta gigi dan siwak selama 10 hari terdeteksi pada rerata C_q value yang lebih besar dibandingkan sebelum perlakuan. Pada **Gambar 6**, dsDNA *P. gingivalis* pada gingiva setelah kombinasi penyikatan dengan pasta gigi dan siwak selama 10 hari terdeteksi pada rerata C_q value yang lebih besar dibandingkan sebelum perlakuan.

Pada kurva *melt peak* dapat menganalisis *melting curve*. *Melting curve* untuk memperkirakan spesifisitas produk berdasarkan *melt temperature* (T_m) dan bentuk puncak. Jika dsDNA meleleh pada T_m dan bentuk puncak yang sama maka dsDNA memiliki panjang dan komposisi, urutan dan panjang basa yang sama³².



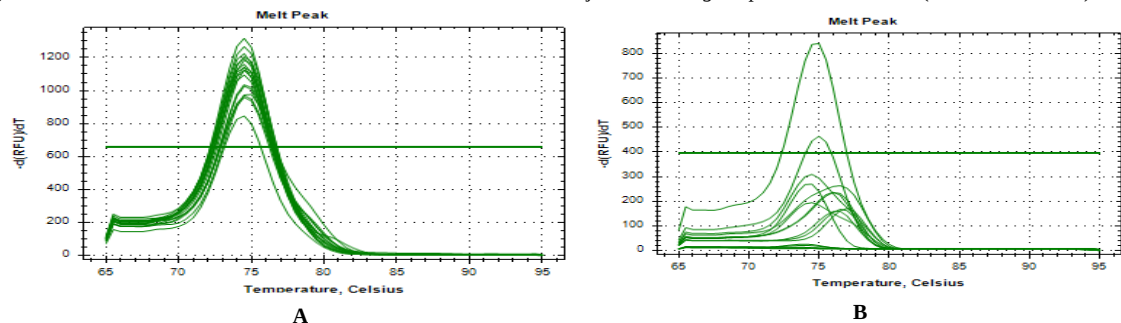
Gambar 6. Hasil Pemeriksaan *Porphyromonas gingivalis* pada Sampel gingiva Responden yang Kombinasi Menyikat dengan Pasta Gigi dan Siwak

Keterangan: Gambar 6 menunjukkan hasil amplifikasi dsDNA *P. gingivalis* pada gingiva dilihat dari (A) amplifikasi sebelum perlakuan terdeteksi pada rerata C_q value 25,94 siklus (B) amplifikasi sesudah perlakuan terdeteksi pada rerata C_q value 32,57 siklus (threshold= 3 RFU).



Gambar 7. *Melting Curve Porphyromonas gingivalis* pada Sampel Saliva Responden yang Kombinasi Menyikat dengan Pasta Gigi dan Siwak

Keterangan: Gambar 7 menunjukkan hasil *melting curve* dsDNA *P. gingivalis* dilihat dari (A) *melting curve* sebelum perlakuan menunjukkan *melting temperature* di suhu 74,50°C (B) *melting curve* sesudah perlakuan menunjukkan *melting temperature* di 74-80°C (threshold= 6 RFU).



Gambar 8. *Melting Curve Porphyromonas gingivalis* pada Sampel Gingiva Responden yang Kombinasi Menyikat dengan Pasta Gigi dan Siwak

Keterangan: Gambar 8 menunjukkan hasil *melting curve* dsDNA *P. gingivalis* dilihat dari (A) *melting curve* sebelum perlakuan menunjukkan *Melt Temperature* di suhu 74,50°C (B) *melting curve* sesudah perlakuan menunjukkan *Melt Temperature* di suhu 74-77°C (threshold= 6 RFU).

***Porphyromonas gingivalis* pada Saliva Responden yang Menyikat dengan Pasta Gigi dan Siwak**

Berdasarkan perbandingan Cq value DNA *Porphyromonas gingivalis* pada saliva responden sebelum dan sesudah menyikat dengan pasta gigi dan siwak ditunjukkan pada **Tabel 6** di bawah ini.

Tabel 6. Rerata Cq Value *P. gingivalis* pada Saliva Responden yang Kombinasi Menyikat dengan Pasta Gigi dan Siwak

Penyikatan dengan Pasta Gigi dan Siwak	N	Rerata Siklus $\pm$ SD
Sebelum Perlakuan	18	26,16 $\pm$ 0,42 ^a
Sesudah Perlakuan	18	33,62 $\pm$ 3,94 ^b

Keterangan: Tabel 6 menunjukkan rerata $\pm$ SD perhitungan Cq value DNA *P. gingivalis* pada saliva. Notasi yang beda menunjukkan ada perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$).

Sesudah kombinasi penyikatan dengan pasta gigi dan siwak, Cq value semakin besar maka jumlah dsDNA *P. gingivalis* pada saliva semakin sedikit. Penyikatan dengan pasta gigi selama 10 hari menurunkan jumlah dsDNA *Porphyromonas gingivalis* pada saliva sehingga memerlukan siklus 22,19% lebih banyak dibandingkan sebelum perlakuan ($P < 0,05$).

***Porphyromonas gingivalis* pada Gingiva Responden yang Menyikat dengan Pasta Gigi dan Siwak**

Berdasarkan perbandingan Cq value DNA *Porphyromonas gingivalis* pada gingiva responden yang menyikat dengan pasta gigi dan siwak sebelum dan sesudah perlakuan ditunjukkan pada **Tabel 7** bawah ini.

Tabel 7. Rerata Cq Value DNA *P. gingivalis* pada gingiva Responden yang Kombinasi Menyikat dengan Pasta Gigi dan Siwak

Penyikatan dengan Pasta Gigi dan Siwak	N	Rerata Siklus $\pm$ SD
Sebelum Perlakuan	18	25,94 $\pm$ 0,54 ^a
Sesudah Perlakuan	18	32,57 $\pm$ 4,24 ^b

Keterangan: Tabel 7 menunjukkan rerata $\pm$ SD perhitungan Cq value DNA *P. gingivalis* pada gingiva. Notasi berbeda menunjukkan ada perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$).

Sesudah kombinasi penyikatan dengan pasta gigi dan siwak, Cq value semakin besar maka jumlah dsDNA *P. gingivalis* pada gingiva semakin sedikit. Penyikatan dengan pasta gigi selama 10 hari menurunkan jumlah dsDNA *Porphyromonas gingivalis* pada gingiva sehingga memerlukan siklus 20,36% lebih banyak dibandingkan sebelum perlakuan ($P < 0,05$).

Perbandingan Hasil Pemeriksaan *Porphyromonas gingivalis* pada Kedua Kelompok

Berdasarkan perbandingan Cq value *Porphyromonas gingivalis* pada saliva sesudah penyikatan dengan pasta gigi terhadap penyikatan

dengan pasta gigi dan siwak ditunjukkan pada **Tabel 8** serta pada gingiva sesudah penyikatan dengan pasta gigi terhadap penyikatan dengan pasta gigi dan siwak ditunjukkan pada **Tabel 9**.

Tabel 8. Rerata Cq Value DNA *P. gingivalis* pada Saliva

Kelompok	N	Δ Rerata Cq value (siklus) $\pm$ SD
Penyikatan dengan Pasta Gigi	18	4,23 $\pm$ 8,99 ^a
Penyikatan dengan Pasta Gigi dan Siwak	18	7,46 $\pm$ 4,01 ^a

Keterangan: Tabel 8 menunjukkan selisih rerata Cq value $\pm$ SD perhitungan Cq value DNA *P. gingivalis* pada saliva. Notasi yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan ($P > 0,05$).

Penyikatan dengan pasta gigi dan siwak selama 10 hari memiliki Cq value yang lebih besar dibandingkan penyikatan dengan pasta gigi saja. Maka jumlah amplicon *Porphyromonas gingivalis* pada saliva responden yang menyikat dengan pasta gigi dan siwak lebih sedikit dibandingkan hanya dengan pasta gigi. Penyikatan dengan pasta gigi dan siwak memerlukan siklus lebih besar yaitu 43,30% dibandingkan hanya dengan pasta gigi saja ($P > 0,05$).

Tabel 9. Rerata Cq Value DNA *P. gingivalis* pada Gingiva

Kelompok	N	Δ Rerata Cq value (siklus) $\pm$ SD
Penyikatan dengan Pasta Gigi	18	6,35 $\pm$ 2,17 ^a
Penyikatan dengan Pasta Gigi dan Siwak	18	6,62 $\pm$ 4,46 ^a

Keterangan: Tabel 9 menunjukkan selisih rerata Cq value $\pm$ SD perhitungan Cq value DNA *P. gingivalis* pada gingiva. Notasi yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan ($P > 0,05$).

Penyikatan dengan pasta gigi dan siwak selama 10 hari memiliki Cq value yang lebih besar dibandingkan penyikatan dengan pasta gigi saja. Maka jumlah amplicon *Porphyromonas gingivalis* pada gingiva responden yang menyikat dengan pasta gigi dan siwak lebih sedikit dibandingkan hanya dengan pasta gigi. Penyikatan dengan pasta gigi dan siwak memerlukan siklus lebih besar yaitu 4,07% dibandingkan hanya dengan pasta gigi saja ($P > 0,05$).

PEMBAHASAN

Karakteristik Sampel

Pada penelitian ini, responden terdiri dari pria dan wanita karena pria dan wanita dengan keadaan gigi dan mulut yang sehat tidak memiliki perbedaan *Porphyromonas gingivalis* yang signifikan³³. Rentang usia 19-21 tahun karena usia 12-18 tahun merupakan usia paling rentan terjadi karies gigi untuk gigi permanen³⁴. Peneliti menggunakan sampel saliva dan gingiva (supragingiva) responden karena pada seseorang yang sehat, *P. gingivalis* lebih mudah dideteksi pada sampel saliva dan supragingiva³⁵.

Pengaruh Menyikat dengan Pasta Gigi terhadap *Porphyromonas gingivalis*

Pada hasil penelitian telah menunjukkan bahwa sesudah penyikatan dengan pasta gigi, jumlah *Porphyromonas gingivalis* pada saliva menurun namun tidak signifikan. Hal ini dikarenakan beberapa faktor yaitu pasta gigi yang digunakan hanya mengandung satu bahan aktif (sodium monofluorosulphate) dan SLS (sodium lauryl sulphate), membran sel *P. gingivalis* yang mengandung lipopolisakarida (LPS) dan jumlah *P. gingivalis* yang banyak terdeteksi pada saliva.

Hal ini didukung dengan penelitian sebelumnya bahwa pasta gigi yang mengandung kombinasi dua bahan aktif yaitu triklosan atau sodium fluoride atau sodium karbonat dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif (*Escherichia coli*) secara efektif dibandingkan pasta gigi yang hanya mengandung satu bahan aktif baik sodium monofluorosulphate ataupun sodium fluoride saja^{36,37}. Faktor pertahanan *P. gingivalis* mempengaruhi hasil penelitian, hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa *P. gingivalis* memiliki pertahanan yaitu membran luar yang mengandung lipopolisakarida (LPS) sebagai pelindung dari bahan kimia yaitu detergen atau SLS (sodium lauryl sulphate) dan antibiotik¹³.

Faktor selanjutnya adalah jumlah *P. gingivalis* yang banyak terdeteksi pada saliva. Hal ini mendukung penelitian sebelumnya yaitu jumlah *P. gingivalis* lebih banyak terdeteksi pada saliva³⁵. Hal ini dikarenakan adanya GCF (Gingival Crevicular Fluid) yang meningkat setelah menyikat gigi dan makan, sehingga dapat mengeluarkan mikroorganisme yang memiliki habitat asli di celah gingiva ke saliva, salah satunya *P. gingivalis*³⁸. Komposisi terbanyak saliva adalah protein saliva yaitu proline, statherine, dan glikoprotein³⁹. Ketiga protein merupakan protein reseptor bagi fimbriae *P. gingivalis* sehingga dapat berikatan langsung⁴⁰. Sehingga pemakaian pasta gigi dengan satu bahan aktif saja tidak mampu menurunkan jumlah *P. gingivalis* yang banyak terdeteksi pada saliva.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sesudah penyikatan dengan pasta gigi, jumlah *Porphyromonas gingivalis* pada gingiva menurun secara signifikan. Hal ini dikarenakan beberapa faktor yaitu kolonisasi *P. gingivalis* yang sedikit pada gingiva, penyikatan gigi dengan metode bass dan kandungan bahan abrasif pada pasta gigi.

Faktor kolonisasi *P. gingivalis* yang sedikit pada plak supragingiva mempengaruhi hasil penelitian ini, disebabkan plak supragingiva yang mudah ditembus oksigen, sehingga *P. gingivalis* tidak dapat berkolonisasi maksimal karena tidak membutuhkan oksigen untuk tumbuh⁴¹. Plak supragingiva sulit ditembus oksigen setelah 24 jam karena matriks plak yang semakin kompleks, namun penyikatan dengan pasta gigi pada penelitian dilakukan saat pagi sebelum sarapan dan malam sebelum tidur dengan rentang waktu sekitar 14-16 jam^{42,43}. Waktu yang hanya sekitar 14-16 jam menyebabkan plak belum kompleks dan

mudah ditembus oksigen, sehingga hanya sedikit *P. gingivalis* yang dapat berkolonisasi.

Faktor selanjutnya yaitu penyikatan dengan metode Bass, hal ini mendukung penelitian sebelumnya bahwa penyikatan gigi dengan metode Bass lebih efektif menurunkan plak dibandingkan metode Roll⁴⁴. Pada metode Bass, bulu sikat mampu menyentuh tepi gusi sehingga dapat menghilangkan plak yang ada di tepi gusi (plak supragingiva)⁴⁵. Pasta gigi yang mengandung bahan abrasif yaitu sodium silicate berfungsi untuk menghilangkan plak di permukaan gigi dan gusi¹¹. Sehingga penyikatan dengan metode bass dengan pasta gigi yang mengandung bahan abrasif mampu menurunkan jumlah *P. gingivalis* pada gingiva.

Sebelum penyikatan dengan pasta gigi, dsDNA yang terdeteksi spesifik *P. gingivalis* karena peneliti menggunakan primer spesifik *P. gingivalis* dengan konsentrasi yang tepat, walaupun sampel diencerkan sebelum isolasi DNA. Sesudah penyikatan dengan pasta gigi, dsDNA yang terdeteksi tidak spesifik *P. gingivalis*. Hal ini disebabkan penyikatan dengan pasta gigi dan pengenceran sampel sebelum isolasi DNA, sehingga jumlah dsDNA *P. gingivalis* menjadi semakin sedikit dibandingkan sebelum perlakuan.

Hal ini didukung penelitian sebelumnya bahwa amplicon yang tidak spesifik dapat dikarenakan persiapan larutan mastermix lebih dari 2 jam, konsentrasi primer yang terlalu tinggi, primer DNA yang tidak spesifik dan sampel DNA template yang terlalu sedikit³⁰. Berdasarkan beberapa faktor pasta gigi yang dapat mengurangi jumlah *P. gingivalis* pada saliva dan gingiva, sehingga amplicon yang tidak spesifik dapat dikarenakan jumlah dsDNA *P. gingivalis* yang sedikit

Pengaruh Kombinasi Menyikat dengan Pasta Gigi dan siwak terhadap *Porphyromonas gingivalis*

Pada hasil penelitian telah menunjukkan bahwa sesudah kombinasi penyikatan dengan pasta gigi dan siwak, jumlah *Porphyromonas gingivalis* pada saliva menurun secara signifikan. Hal ini dikarenakan senyawa aktif siwak yang keluar pada saliva.

Hal ini didukung penelitian *in vitro* yang membuktikan bahwa potongan siwak (tanpa ekstraksi) yang ditanam dalam agar memiliki antibakteri yang tinggi terhadap *Porphyromonas gingivalis*²⁵. Hal ini dikarenakan senyawa aktif siwak yang keluar pada saliva dan memiliki sifat bakterisida langsung pada *P. gingivalis*. Senyawa aktif tersebut adalah isothiocyanate dan flavonoid¹⁸. Isothiocyanate merupakan antibakteri utama yang dapat penetrasi melalui lipopolisakarida (LPS) sehingga *P. gingivalis* tidak mampu mempertahankan potensi membrannya dan lisis¹⁸. Flavonoid bersifat bakterisida dengan menghambat sintesis DNA bakteri¹⁶. Sehingga kedua senyawa aktif siwak dapat menurunkan jumlah *P. gingivalis* secara signifikan pada saliva, walaupun jumlah *P. gingivalis* banyak terdeteksi pada saliva.

Pada hasil penelitian menunjukkan bahwa sesudah kombinasi penyikatan dengan pasta gigi dan

siwak, jumlah *Porphyromonas gingivalis* pada gingiva menurun secara signifikan. Hal ini dikarenakan beberapa faktor yaitu kolonisasi *P. gingivalis* yang sedikit pada gingiva, penyikatan gigi menggunakan siwak dengan metode bass dan kandungan bahan abrasif pada siwak.

Faktor yang mempengaruhi penelitian ini yaitu jumlah kolonisasi *P. gingivalis* yang sedikit pada gingiva, dikarenakan waktu pematangan plak yang sedikit. Penyikatan dengan pasta gigi dilakukan saat pagi sebelum sarapan dan malam sebelum tidur, kemudian dikombinasi dengan bersiwak lima kali sehari yaitu saat wudhu sebelum shalat wajib 5 waktu. Watak kombinasi penyikatan ini menyebabkan pematangan plak yang singkat sehingga *P. gingivalis* tidak dapat berkolonisasi secara maksimal.

Faktor selanjutnya yaitu penyikatan siwak dengan metode Bass, mendukung penelitian sebelumnya bahwa penyikatan dengan siwak lima kali sehari dapat menurunkan plak, gingivitis dan skor indeks gingiva yang lebih baik dibandingkan penyikatan dengan pasta gigi saja^{29,46,47}. Hal ini sesuai dengan penjelasan sebelumnya bahwa penyikatan dengan metode Bass lebih efektif dalam mengurangi plak karena serabut siwak dapat menyentuh tepi gusi⁴⁵. Siwak mengandung bahan abrasif yaitu silika yang dapat menghilangkan plak pada permukaan gigi dan gusi^{48,14}. Sehingga siwak yang disikat pada gigi dengan metode Bass dan kandungan bahan abrasif mampu menurunkan jumlah *P. gingivalis* pada gingiva.

Sebelum kombinasi penyikatan dengan pasta gigi dan siwak, dsDNA yang terdeteksi spesifik *P. gingivalis*, namun sesudah penyikatan dengan pasta gigi dan siwak, dsDNA yang terdeteksi tidak spesifik *P. gingivalis*. Ada beberapa faktor yang dapat menyebabkan amplicon yang tidak spesifik, seperti yang dijelaskan sebelumnya. Berdasarkan beberapa faktor kandungan siwak yang dapat mengurangi jumlah *P. gingivalis* pada saliva dan gingiva, sehingga amplicon yang tidak spesifik dapat dikarenakan jumlah dsDNA *P. gingivalis* yang sedikit.

Perbedaan Menyikat dengan Pasta Gigi dan Kombinasi Menyikat dengan Pasta Gigi dan Siwak terhadap *Porphyromonas gingivalis*

Penyikatan dengan pasta gigi saja dan kombinasi penyikatan dengan pasta gigi dan siwak, tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan dalam menurunkan jumlah *Porphyromonas gingivalis*. Hal ini dikarenakan pasta gigi dan siwak mampu menormalkan pH saliva sesudah mengkonsumsi karbohidrat dan dapat menghilangkan plak supragingiva.

Faktor yang mempengaruhi pH saliva menjadi asam antara lain konsumsi karbohidrat, kemudian digunakan bakteri asidogenik seperti *Streptococcus mutans* dan *Lactobacillus* sebagai nutrisi dan dipecah menjadi asam, sehingga mendukung pertumbuhan *P. gingivalis* karena dapat tumbuh pada pH 6,5-7,0⁴⁹. Pasta gigi dan siwak dapat menormalkan pH (7,5-8,5), hal ini didukung bahwa pasta gigi yang mengandung

SLS (Sodium lauryl sulphate) dapat meningkatkan pH rongga mulut menjadi normal, sedangkan siwak mengandung isothiocyanate dan tannin^{50,51,22}. Isothiocyanate dan tannin dapat meningkatkan aliran saliva sehingga kemampuan buffer bikarbonat saliva meningkat dan pH saliva akan menjadi normal⁵⁰.

Penyikatan dengan pasta gigi dan siwak dapat menghilangkan plak supragingiva, didukung dengan penyikatan yang menggunakan metode Bass. Metode Bass lebih efektif menurunkan plak dibandingkan metode Roll karena bulu sikat ataupun serabut siwak dapat menyentuh tepi gusi sehingga mampu menghilangkan plak yang ada di tepi gusi (plak supragingiva)^{44,45}. Pasta gigi dan siwak mengandung bahan abrasif yaitu silika dan memiliki fungsi yang sama yaitu mampu membersihkan plak pada permukaan gigi dan gusi^{11,14,48}. Sehingga pasta gigi dan siwak memiliki kemampuan yang sama dalam mengurangi jumlah *P. gingivalis* pada saliva dan gingiva.

KESIMPULAN

1. Kombinasi penyikatan dengan pasta gigi dan siwak dapat menurunkan jumlah *Porphyromonas gingivalis* pada saliva dan gingiva santri Pondok Pesantren Ar-Razi.
2. Penyikatan dengan pasta gigi dapat menurunkan jumlah *Porphyromonas gingivalis* pada gingiva santri Pondok Pesantren Ar-Razi.
3. Tidak ada Perbedaan efek menyikat dengan pasta gigi dan kombinasi dengan pasta gigi dan siwak menurunkan jumlah *Porphyromonas gingivalis*.

SARAN

1. Sampel saliva dan gingiva yang dipakai untuk dilakukan isolasi DNA sebanyak 1 ml.

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada Ikatan Orang Tua Mahasiswa (IOM) selaku pemberi dana pada penelitian ini dan kepada dr. Dini Sri Damayanti, M.Kes selaku reviewer jurnal.

DAFTAR PUSTAKA

1. Seymour GJ, Ford PJ, Cullinan MP, Leishman S, Yamazaki K. *Relationship Between Periodontal Infections and Systemic Disease. Clinical Microbiology and Infection* 13: 3-10. PubMed PMID:17716290. 2007.
2. Inaba H, Amano A. *Roles Of Oral Bacteria in Cardiovascular Diseases From Molecular Mechanisms to Clinical Cases: Implication of Periodontal Diseases in Development of Systemic Diseases. Journal of Pharmacological Sciences* 113:103-109. 2010.
3. Figuero E, Sánchez-Beltrán M, Cuesta-Frechoso S, et al. *Detection Of Periodontal Bacteria In Atheromatous Plaque by Nested Polymerase Chain Reaction. J Periodontol* 82:1469-77. 2011.
4. Toyofuku T, Inoue Y, Kurihara N, Kudo T, Jibiki

- M, Sugano N, et al. Differential detection rate of periodontopathic bacteria in atherosclerosis. *Surg Today* 41: 1395-1400. 2011.
5. Segura-Egea JJ, Martín-González J, Castellanos-Cosano L. Endodontic Medicine: Connections Between Apical Periodontitis and Systemic Diseases. *Int Endod J* 48: 933-951. 2015.
 6. Li, L., Michel, R., Cohen, J., Decarlo, A. and Kozarov, E. Intracellular Survival and Vascular Cell-To-Cell Transmission of *Porphyromonas gingivalis*. *BMC Microbiology* 8: 1-11. 2008.
 7. Olsen, I. and Progulske-fox, A. Invasion of *Porphyromonas gingivalis* strains into vascular cells and tissue. *Journal Oral Microbiology* 7: 28788. 2015.
 8. Tomas I, Diz P, Tobias A, Scully C, Donos N. Periodontal Health Status and Bacteraemia from Daily Oral Activities: Systematic Review/Meta Analysis. *J Clin Periodontol* 39: 213-28. 2012.
 9. Nadhia A, Sunariani J. Penurunan Sensitivitas Rasa Manis Akibat Pemakaian Pasta Gigi yang Mengandung Sodium Lauryl Sulfate 5%. *Jurnal PDGI* 58: 10-13. 2009.
 10. Rigalli, A., Ricci D., Puche R.C. Instability of Sodium Monofluorophosphate In Effervescent Tablets. *Fluoride* 39: 27-30. 2014.
 11. Putt MS, Milleman JL, Ghassemi A. Extrinsic Tooth Stain Removal Efficacy of A Sodium Bicarbonate Dual-phase Dentifrice Containing Calcium and Phosphate in A Six-Week Clinical Trial. *J Clin Dent* 15: 71-5. 2004.
 12. Hartono, R. Studi Komposisi Pasta Gigi Detergen dan Pasta Gigi Non Detergen terhadap Pertumbuhan Plak dan Sekresi Saliva. Skripsi. Program Sarjana Universitas Hasanuddin. Makassar. 2013.
 13. Nikaido H. Molecular Basis of Bacterial Outer Membrane Permeability Revisited. *Microbiol Mol Biol Rev* 67: 593-656. 2003.
 14. Haque, M. M. and Alsareii, S. A. A. Review of the Therapeutic Effects of Using Miswak (*Salvadora persica*) on Oral Health. *Saudi Med J* 36: 530-543. 2015.
 15. Zaki, M. Metode Pemahaman dan Pengamalan Hadits Jamaah Tabligh. *Jurnal Pengembangan Masyarakat Islam* 8. 2015.
 16. Slobodníková, L., Fialova A., Rendekova K., Kovac J., Mucaji P. Antibiofilm Activity of Plant Polyphenols. *Molecules*. 21: 1-15. 2016.
 17. Tubaishat RS, Darby ML, Bauman DB, Box CE. Use of Miswak Versus Toothbrushes: Oral Health Beliefs And Behaviours Among A Sample Of Jordanian Adults. *Int J Dent Hyg* 3: 126-36. 2005.
 18. Sofrata A, Brito F, Al-Otaibi M, Gustafsson A. Short Term Clinical Effect of Active and Inactive *Salvadora persica* Miswak on Dental Plaque and Gingivitis. *J Ethnopharmacol* 137: 1130-4. 2011.
 19. El-Mostehy, M, R. Siwak as An Oral Health Device (Preliminary Chemical and Clinical Evaluation). *Journal Pharmacology Departement of Odontology*. Faculty of Dentistry. University of Kuwait. 1998.
 20. El-Mostehy, D.R., M. Ragai., A.A. Al-Jassem., I.A. Al-Yassin, A.R. El-Gindy and E. Shoukry. Siwak as An Oral Health Device (Preliminary Chemical and Clinical Evaluation). *Journal of Pharmacology* 26: 41-50. 1983.
 21. Kaur S, Abdul Jalil R, Akmar SL. The Immediate Term Effect of Chewing Commercially Available Meswak (*Salvadora persica*) on Levels of Calcium, Chloride, Phosphate and Thiocyanate in Whole Saliva. *Ann Dent Univ Malaya* 11: 51-59. 2004.
 22. Sukkarwalla, A., Ali, S. M., Lundberg, P. and Tanwir, F. Efficacy of Miswak on Oral Pathogens. *Dental research journal* 10: 314-20. 2013.
 23. Al-Lafi T, Ababneh H. The Effect of The Extract of The Miswak (Chewing Sticks) Used in Jordan and The Middle East on Oral Bacteria. *Int Dent J* 45(3): 218-22. 1995.
 24. Gazi M I, Lambourne A, Chagla A H. The Antiplaque Effect of Toothpaste Containing *Salvadora persica* Compared Chlorhexidine Gluconate : A Pilot Study. *Clinical Prev Dent* 9: 3-8. 1987.
 25. Sofrata, A., Institutet, K. and Claesson, R. Strong Antibacterial Effect of Miswak. *J Periodontol* 79: 1474-79. 2008.
 26. Kothari CR. Research Methodology: Methods and Techniques. Second edition. USA: New Age International Pvt Ltd: 98. 2009.
 27. Kemenkes RI. Profil Kesehatan Indonesia tahun: Situasi Kesehatan gigi dan Mulut. Jakarta: Kemenkes RI. 2014.
 28. Zaki, M. Metode Pemahaman dan Pengamalan Hadits Jamaah Tabligh. *Jurnal Pengembangan Masyarakat Islam* 8. 2015.
 29. Gazi M I, Lambourne A, Chagla A H. The antiplaque effect of toothpaste containing *Salvadora persica* compared chlorhexidine gluconate : A pilot study. *Clinical Prev Dent* 9: 3-8. 1990.
 30. Ruiz-villalba, A., Pelt-verkuil, E. Van, Gunst, Q. D., & Ruijter, J. M. Amplification of Nonspecific Products in Quantitative Polymerase Chain Reactions (qPCR). *Biomolecular Detection and Quantification* 14: 7-18. 2017.
 31. Nolan T., Huggett J., Sanchez E. Good Practice Guide for the Application of Quantitative PCR (qPCR). *LGC*: 8-9. 2013.
 32. Rielo E., Nunes SCC., Pais AACC., Skepo M. Structural Characterization of Bubbles Formed in DNA Melting Monte Carlo Simulation Study. *ACS Omega* 2: 1915-1921. 2017.
 33. Griffen, AL., Becker MR., Lyons SR., Moeschberger ML., Leys EJ. Prevalence of *Porphyromonas gingivalis* and Periodontal Health

- Status. *Journal of Clinical Microbiology* 36: 3239–3242. 1998.
34. Wong, D.L., Hockenberry, M., Wilson, D., Winkelstein, & Schwartz. Buku Ajar Keperawatan Pediatrik (Vol 1. Edisi ke-4) (Agus Sutarna, Neti Juniarti, H.Y Kuncara, Penerjemah.). Jakarta: EGC. 2008.
 35. Okada A., Sogabe K., Takeuchi H., Okamoto M., Nomura Y., Hanada N. *Characterization of Specimens Obtained by Different Sampling Methods for Evaluation of Periodontal Bacteria. Journal of Oral Science* 59: 491-498. 2017.
 36. Mohammed SG. *Comparative Study of In Vitro Antibacterial Activity of Miswak Extracts and Different Toothpastes. American Journal of Agriculur and Biological Sciences* 8: 82-88.2013.
 37. Rossi AD., Ferreira DCA., Silva RAB., Queiroz AM., Silva LAB. *Antimicrobial Activity of Toothpastes Containing Natural Extracts, Chlorhexidine or Triclosan. Brazilian Dental Journal* 25:186-190. 2014.
 38. Patil, S., Rao, R. S., Amrutha, N., Sanketh, D. S., Fdylw, R., Yhu, I. R. Uet al. *Oral Microbial FloraIn Health Acquisition of Mutans streptococci. World J Dent* 4: 262- 266. 2013.
 39. Kumar B., Kashyap N., Avinash A., Chevuri R., Sagar MK., Shrikant K. *The Composition, Function and Role of Saliva in Maintaining Oral Health: A Review. Int J Contemp Dent Med.* 2017.
 40. Holt SC, Kesavalu L, Walker S, Genco CA. *Virulence Factors of Porphyromonas gingivalis. Periodontol* 28:168-238.1999.
 41. Bostanci, N. and Belibasakis, G.N. *Porphyromonas Gingivalis: AnInvasive and Evasive Opportunistic Oral Pathogen.FEMS Microbiol Lett* 333: 1–9.2012.
 42. Bester E, Kroukamp O, Wolfaardt GM, et al. *Metabolic differentiation in biofilms as indicated by carbon dioxide production rates. Appl Environ Microbiol* 76: 1189-97. 2010.
 43. Marsh, P. *Dental Plaque as A Biofilm and A Microbial Community Implications for Health and Disease. BMC Oral Health* 6: 14. 2006.
 44. Ristika E. Perbedaan Efektivitas Menyikat Gigi Antara Metode Bass dan Metode Roll terhadap Plak Gigi di SDIT Muhammadiyah Al-Kautsar Sukoharjo. Skripsi. Program Sarjana Kedokteran Gigi. Surakarta. 2014.
 45. Riyanti E. Pengenalan dan Perawatan Kesehatan Gigi Anak Sejak Dini. *Jurnal Kedokteran Gigi Anak* 1. 2005.
 46. Al-Otaibi M, Al-Harthy M, Soder B, GustafssonA,ngmar-ManssonB. *Comparative Effect of Chewing Sticks and Toothbrushing on PlaqueRemovaland Gingival Health. Oral Health Prev Dent* 1:301- 7. 2003.
 47. Saha S, Mohammad S, Saha S, Samadi F. *Efficiency of Traditional Chewing Stick (Miswak) as An Oral Hygiene Aid Among Muslim School Children in Lucknow: A Cross-Sectional Study. J Oral Biol Craniofac Res* 2: 176-180.2012.
 48. Ezmirly S T, Cheng J C and Wilson S R. *Saudi Arabian Medicinal PlantsSalvadora persica. Planta Medica* 35:191-2.1979.
 49. Baliga, S., Muglikar, S., & Kale, R. *Salivary pH: A Diagnostic Biomarker. Journal of Indian Society of Periodontology* 17: 461-465.2013.
 50. Halawany, H. S. *A Review on Miswak (Salvadora persica) and Its Effect on Various Aspects of Oral Health. The Saudi Dental Journal* 24: 63-69.2012.
 51. Yustika AD. Studi Perbandingan Penggunaan Pasta Gigi Detergen dan NonDetergen terhadap Derajat Keasaman (pH) Saliva Anak Usia 10-12 Tahun di Madrasah Ibtidaiyah Al-Ma'arif Kebumen Kecamatan Banyubiru. Skripsi. Program Sarjana Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta. 2016.
 52. Pitts NB., Zero DT., Ekstrand K., Weintraub JA., Gomez FR., Tagami J. et al. *Dental Caries. Macmilan Publisher Limited* 3: 1-16. 2017.
 53. Sumerti NN. Merokok dan Efeknya terhadap Kesehatan Gigi dan RonggaMulut. *Jurnal Kesehatan Gigi* 4: 49-58.2016.
 54. Kaurow C., Wowor V.N.S., Pangemanan D.H.C. *Gambaran Status Karies Peminum Alkohol di Desa*

