



**KEMAMPUAN AIR REBUSAN DAUN SALAM (*Eugenia polyantha wight*)
TERHADAP JUMLAH MAKROFAG PADA GAMBARAN HISTOLOGI
PERIODONTITIS AGRESIF (PENELITIAN PADA TIKUS MODEL)**

**THE ABILITY OF BOILING WATER OF BAY LEAVES (*EUGENIA
POLYANTHA WIGHT*) TO MACROFAG ON HISTOLOGY PRIODONTITIS
AGRESIF (MOUSE MODELS)**

Ridha Andayani, Abdillah Imron Nst, Afini Rahimi

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Syiah Kuala

Abstrak

Aggregatibacter actinomycetemcomitans merupakan bakteri dominan pada periodontitis agresif. Daun salam (*Eugenia polyantha w*) bersifat sebagai anti-inflamasi, antimikroba, analgesik dan antibakteri. Saat ini, belum banyak penelitian potensi daun salam dalam respon inflamasi yang diperankan oleh makrofag. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui kemampuan air rebusan daun salam dengan konsentrasi 20%, 40%, dan 80% terhadap jumlah sel makrofag pada gambaran histologi periodontitis agresif. Penelitian ini merupakan penelitian eskperimental laboratoris yang menggunakan tikus putih *rattus norvegiccus* dibagi empat kelompok, tiga kelompok perlakuan air rebusan daun salam dengan konsentrasi 20%, 40%, dan 80%, dan satu kelompok kontrol akuades. Pada hari pertama kelompok perlakuan dan kelompok kontrol diinokulasi bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* sampai hari ketujuh. Hari kedelapan sampai kesepuluh kelompok perlakuan diaplikasikan air rebusan daun salam dan kelompok kontrol diaplikasikan akuades. Hari kesebelas tikus dieuthanasi, selanjutnya dilakukan pengambilan sampel histologi jaringan periodontal tikus diamati secara mikroskopik. Hasil penelitian menunjukkan perbandingan jumlah makrofag kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p \leq 0,05$). Dapat disimpulkan, kandungan air rebusan daun salam dapat membantu respon inflamasi yang diperankan oleh sel makrofag.

Kata kunci : *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, daun salam, periodontitis agresif.

Abstract

Aggregatibacter actinomycetemcomitans is known as dominant bacteria in periodontitis aggressive. Bay leaves (*Eugenia polyantha w*) have chemical compound as an anti-inflammatory, antimicrobial, analgesic, and antibacterial. There were little information on the potential of bay leaves in the inflammatory response that facilitated by macrophages. This research is an experimental laboratorial research using white mice (*rattus norvegiccus*) divided into three treatment groups with bay leaves decoction in the concentration of 20%, 40%, and 80%, and control group with distilled water. In day 1th-7th, the treatment and control group were inoculated with *aggregatibacter actinomycetemcomitans*. In the morning and afternoon of 8th-10th, the treatment groups immersed with bay leaves decoction, while the control immersed with distilled water. On Day 11th, mice were euthanatized to prepare and resulted periodontal tissue. The result of microscopically number of macrophages were categorized by descriptive statistic. The comparison of the number of macrophages between treatment group and control group that analyzed with Kruskal-Wallis in Microsoft Excel-Analyze it v2.30 were significant ($p \leq 0.05$). Based on the result that concluded the bay leaves improving inflammatory response that participated by macrophages.

Key word: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, bay leaves, Aggressive Periodontitis

PENDAHULUAN

Jaringan periodontal merupakan jaringan di sekitar gigi yang berfungsi sebagai penyangga/pendukung gigi, terdiri dari jaringan gingiva, sementum, ligamen periodontal, dan tulang alveolar.¹ *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*) merupakan bakteri patogen jaringan periodontal dan penyebab terjadinya periodontitis agresif.¹ Periodontitis agresif merupakan inflamasi pada jaringan pendukung gigi yang menyebabkan kerusakan progresif dari ligamen periodontal dan tulang alveolar.¹

Inflamasi merupakan tindakan protektif melawan jejas sel.² Fenomena yang terjadi dalam proses inflamasi meliputi kerusakan mikrovaskular, meningkatnya permeabilitas kapiler dan migrasi leukosit dan makrofag menuju jaringan inflamasi.² Inflamasi terbagi menjadi dua pola dasar, inflamasi akut yaitu inflamasi yang berlangsung relatif singkat, dari menit sampai beberapa hari, dan ditandai dengan perubahan vaskular, eksudasi cairan dan protein plasma serta akumulasi leukosit yang menonjol. Inflamasi akut dapat berkembang menjadi suatu inflamasi kronis jika agen penyebab injuri masih tetap ada. Inflamasi kronis yaitu respon proliferasi dimana terjadi proliferasi fibroblas, endotelium vaskuler, dan infiltrasi sel mononuklear (limfosit, sel plasma dan makrofag). Respon inflamasi meliputi suatu perangkat komplek yang mempengaruhi perubahan vaskular dan selular.² Kesic L, Petrovic M, Obradovic R, dan Pecic A menyatakan bahwa salah satu bakteri utama yang mempunyai kemampuan menembus dan merusak jaringan periodontal adalah *A. actinomycetemcomitans*.¹

A. actinomycetemcomitans merupakan bakteri Gram negatif, nonmotil, anaerob fakultatif, pendek (0,4-1 µm), berbentuk batang dengan ujung membulat.^{1,3} Bakteri ini menggunakan sel epitelium sebagai reservoir saat perlekatan inisial dan pada akhirnya berpindah ke permukaan gigi.^{4,5} Faktor virulen yang dimiliki oleh bakteri ini adalah leukotoksin, lipopolisakarida (LPS), dan

Cytolethal distending toxin (Cdt).^{1,6,7} Leukotoksin memainkan peran yang signifikan pada patogenesis periodontitis agresif oleh *A. actinomycetemcomitans*.^{1,4,8}

Penggunaan tumbuhan herbal di Indonesia sebagai obat-obatan pada hakekatnya merupakan bagian dari kebudayaan bangsa Indonesia.⁵ Salah satunya adalah daun salam (*Eugenia polyantha w*) selain digunakan sebagai bumbu penyedap makanan, daun salam juga berfungsi sebagai obat kumur.⁹ Bagian tanaman salam yang paling banyak dimanfaatkan adalah daunnya. Winarto (2004) menyatakan daun salam mempunyai kandungan kimia yaitu tanin, flavonoid, dan minyak asiri 0,05 % yang terdiri dari eugenol dan sitral.¹⁰ Kandungan kimia daun salam merupakan bahan aktif yang mempunyai efek farmakologi. Tanin dan flavonoid merupakan bahan aktif yang mempunyai efek anti-inflamasi dan antimikroba, sedangkan minyak asiri mempunyai efek analgetik.⁹ Penelitian yang dilakukan oleh Sumono dan Wulan (2009) membuktikan bahwa kemampuan air rebusan daun salam (*Eugenia polyantha w*) dengan konsentrasi 50%, 75%, dan 100% dapat menurunkan jumlah koloni bakteri *Streptococcus sp*, semakin tinggi konsentrasi rebusan daun salam, jumlah koloni bakteri *Streptococcus sp* semakin sedikit.⁹ Penelitian lain oleh Noveriza dan Miftakhurohman juga membuktikan bahwa ekstrak metanol daun salam dapat menghambat pertumbuhan *F. oxysporum*, meskipun persentase penghambatan tertinggi hanya sebesar 57,16% pada konsentrasi 5%.¹¹

Berdasarkan uraian di atas maka dilakukan penelitian invitro pada tikus untuk mengetahui kemampuan air rebusan daun salam (*Eugenia polyantha w*) dengan konsentrasi 20%, 40%, dan 80% terhadap jumlah makrofag pada gambaran histologi periodontitis agresif.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratories. Sampel pada penelitian ini adalah isolat *Aggregatibacter*

actinomycetemcomitans ATCC 702358 yang berasal dari Laboratorium Fakultas Kedokteran Gigi (FKG) Universitas Indonesia (UI), daun salam (*Eugenia polyantha* w) yang berasal dari Banda Aceh, dan tikus putih *Rattus norvegicus* diperoleh dari Fakultas Kedokteran Hewan (FKH) Universitas Syiah Kuala. Pengujian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala untuk pemeliharaan dan pembiakan bakteri. Laboratorium Hewan Coba Mencit dan Tikus Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala dan Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala untuk pengujian aktivitas kandungan kimia daun salam (*Eugenia polyantha* w) terhadap jumlah makrofag pada gambaran histologi periodontitis agresif. Jumlah sampel dari tiap kelompok perlakuan akan dihitung menggunakan sampel *Size Retentional*. Kelompok perlakuan menggunakan air rebusan daun salam (*Eugenia polyantha* w) berjumlah 3 (20 %, 40 %, dan 80 %).

Langkah pertama kultur *A. actinomycetemcomitans* pada media AaGM pada suhu 37°C selama 24 jam dengan suasana anaerob. Selanjutnya uji konfirmasi bakteri dengan pewarnaan Gram.¹² Pembuatan suspensi *A. actinomycetemcomitans* dalam media cair TSB 5 ml dan dihomogenkan dengan Vortex. Kekeruhan sel dihitung menggunakan spektrofotometri dengan panjang gelombang 625 nm dengan nilai absorbansi 0,08-0,10.¹³

Selanjutnya, 10 helai daun salam segar warna hijau tua dicuci kemudian dimasukkan kedalam panci infus ditambahkan akuades sebanyak 100 ml dan ditambah lagi akuades sebanyak dua kali bobot daun salam kemudian dipanaskan selama 15 menit mulai dihitung ketika suhunya mencapai 90°C sambil sekali-kali diaduk. Air rebusan diserkai selagi panas melalui kain flannel. Untuk mencukupi kekurangan air dan dapat menambahkan air melalui ampasnya. Selanjutnya hasil rebusan diencerkan hingga mendapat konsentrasi 20 %, 40 %, dan 80 % dengan menambahkan akuades.¹⁴

Langkah berikutnya tikus putih jantan dengan usia 2-3 bulan (200-300 gram) diadaptasikan dengan lingkungan penelitian selama 1 hari dan diberi pakan standar dan minum air putih.¹⁴ Untuk menjadikannya periodontitis agresif tikus diinokulasi bakteri *A. actinomycetemcomitans* dengan dosis 0,5 untuk konsentrasi 20 %, 1 ml untuk konsentrasi 40 %, 2 ml untuk konsentrasi 80 %, dan 0,25 ml untuk kelompok kontrol, tikus terdeteksi periodontitis agresif setelah hari ke tujuh.¹⁵ Bakteri *A. actinomycetemcomitans* diberikan dalam dosis sesuai dengan konsentrasi masing-masing.¹⁶

Pada hari ke delapan untuk kelompok perlakuan diaplikasikan air rebusan daun salam (*Eugenia polyantha* w) dengan konsentrasi 20 %, 40 %, dan 80 % pada setiap tikus dengan cara disemprotkan pada jaringan periodontalnya dengan menggunakan spuit 1 ml dan untuk kelompok kontrol diaplikasikan akuades diberikan sebanyak dua kali sehari, pagi dan sore hari selama tiga hari berturut-turut.

Pada hari ke sebelas tikus dimatikan, setiap tikus diambil jaringan periodontalnya dengan cara dipotong menggunakan *Scalpel*. Potongan jaringan periodontalnya dimasukkan ke dalam larutan fiksasi buffer netral formalin (BNF) 10 %. Lalu dehidrasi dengan alkohol bertingkat (alkohol 70 %, 80%, 90 %, 95 %), alkohol absolut (I dan II), xylol (I dan II), dan parafin (I dan II).¹⁷

Proses ini dilakukan pada masing-masing cairan selama dua jam. Tahap selanjutnya penjernihan (*clearing*) menggunakan xylol/benzol masing-masing jaringan direndam selama 1 ½ jam. Kemudian proses pencetakan (*embedding*), proses ini dikerjakan di dekat sumber panas dengan alat-alat yang telah dihangatkan terlebih dahulu untuk mencegah pembekuan parafin sebelum proses selesai. Zat yang digunakan adalah parafin histoplast yang memiliki titik cair 56-57 °C. Irisan sampel jaringan direndam dalam parafin cair selama 2 jam. Cetakan diisi dengan parafin cair kemudian jaringan diletakkan di dalamnya dengan bantuan pinset. Blok parafin yang sudah setengah beku diberi label untuk memudahkan identifikasi jaringan. Tahap

selanjutnya adalah pendinginan blok parafin pada suhu 4-5°C. Setelah dingin blok parafin dilepaskan dari cetakannya dan siap untuk tahap pengirisan jaringan menggunakan alat mikrotom (5µm). Hasil potongan yang berbentuk pita (*ribbon*) tersebut dibentangkan di atas *waterbath* yang bersuhu 46°C. Potongan jaringan tersebut kemudian ditempelkan pada gelas objek dengan menggunakan albumin dan dimasukkan ke inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam sampai jaringan melekat sempurna.^{16,17}

Selanjutnya, preparat diwarnai dengan pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (HE). Preparat dideparafinisasi dengan dicelupkan secara bertahap ke dalam larutan xylol I dan II masing-masing selama 2 menit. Dichelupkan ke dalam alkohol absolut selama 2 menit, alkohol 95 %, 90 %, dan 80 % masing-masing selama 1 menit. Setelah itu preparat dicuci dengan air mengalir selama 1 menit. Pewarnaan Hematoksilin dilakukan selama 8 menit lalu dicuci pada air yang mengalir selama 30 menit. Untuk pewarnaan Eosin, preparat direndam di dalam larutan Eosin selama 2-3 menit kemudian dicuci dengan air yang mengalir selama 30 detik. Proses berikutnya preparat dicelupkan masing-masing sebanyak 10 celupan ke dalam alkohol 95 % dan alkohol absolut (I dan II). Kemudian dilakukan selama 1 menit dan selanjutnya di dalam xylol II selama 2 menit.^{16,17}

Terakhir adalah penutupan jaringan yang dilakukan dengan cara menempatkan gelas objek di atas kertas tisu pada tempat yang datar. Gelas objek ditetesi dengan bahan perekat yaitu Entellan. Setelah itu jaringan ditutup dengan *cover glass* secara hati-hati dan dilakukan pengamatan histologi.^{16,17}

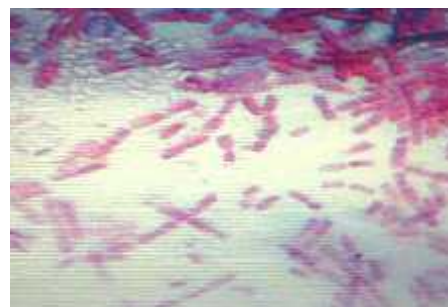
HASIL

Kultur *A. actinomycetemcomitans* yang dilakukan pada media AaGM dengan teknik goresan selama 24 jam pada suhu 37°C menunjukkan adanya koloni *A. actinomycetemcomitans* yang berbentuk bulatan kecil berwarna putih kekuningan dengan permukaan yang cembung (Gambar 1).



Gambar 1. Hasil Kultur *A. actinomycetemcomitans*

Uji Konfirmasi pewarnaan Gram menunjukkan bahwa bakteri ini berbentuk kokobasilus (batang dengan ujung membulat) dan berwarna kemerahan (Gambar 2)



Gambar 1. Hasil pewarnaan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Masing-masing tikus pada tiap kelompok ditandai dengan pemberian nomor 1 – 4 pada bagian ekornya. Periodontitis agresif dibuat di gingiva rahang atas dan rahang bawah tikus dengan menggunakan spuit insulin dengan cara menyemprotkan bakteri pada gingiva rahang atas dan rahang bawah tikus. Periodontitis terdeteksi pada hari ketujuh setelah inokulasi bakteri *A. actinomycetemcomitans*. Gambaran klinis periodontitis agresif ditandai dengan terjadinya proses inflamasi seperti *rubor*, *kalor*, *tumor*, *dolor*, dan *functio laese* (Gambar 3).



(a)



(b)



(c)



(d)

Gambar 3. (a) Gingiva Rahang Atas Tikus Sehat. (b) Gingiva Rahang Bawah Tikus Sehat. (c) Gingiva rahang atas tikus setelah inokulasi bakteri *A. actinomycetemcomitans*. (d) Gingiva rahang bawah tikus setelah inokulasi bakteri *A. actinomycetemcomitans*.

Air rebusan daun salam (*Eugenia polyantha w*) diaplikasikan pada gingiva tikus setiap pagi dan sore hari selama 3 hari menggunakan spuit insulin. Air rebusan daun salam (*Eugenia polyantha w*) disemprotkan di gingiva rahang atas dan rahang bawah. Dosis pemberian air rebusan daun salam (*Eugenia polyantha*

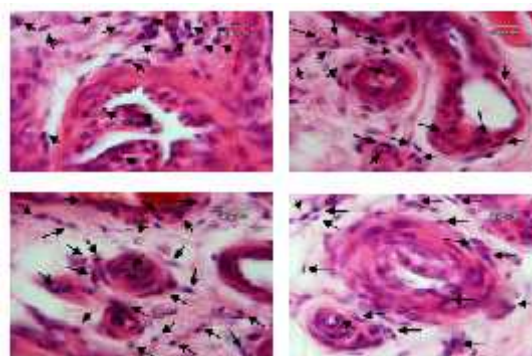
w) dan dosis pemberian *A. actinomycetemcomitans* seperti pada tabel 1.

Tabel 1. Dosis Air rebusan daun salam dan *A. actinomycetemcomitans* yang diberikan pada tikus.

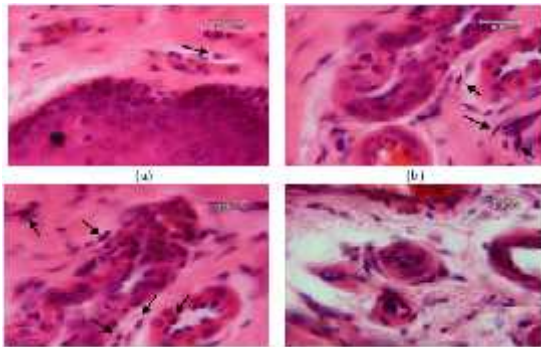
No	Dosis daun salam	Dosis <i>A.a</i>	Kelompok
1	0,5 ml	0,5 ml	20%
2	0,25 ml	0,25 ml	Kontrol
3	1 ml	1 ml	40%
	2 ml	2 ml	80%

Pada hari kesebelas, untuk pengambilan sampel, tikus dieuthunasi dengan menggunakan *chloroform*. Kemudian pemotongan jaringan periodontal rahang atas dan bawah tikus dimasukkan ke dalam larutan fiksasi dengan buffer netral formalin (BNF) 10 % untuk membuat sedian histologi.

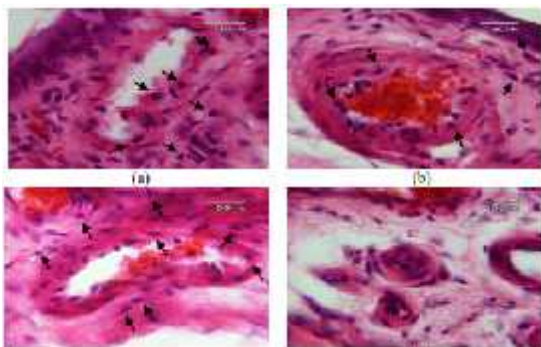
Hasil pewarnaan H&E untuk kelompok kontrol menunjukkan banyaknya makrofag pada jaringan periodontal (Gambar 4) dan untuk kelompok perlakuan yaitu aplikasi air rebusan daun salam (*Eugenia polyantha w*) dengan konsentrasi 20%, 40% dan 80% juga terlihat makrofag dalam jumlah sedikit dibandingkan dengan kelompok kontrol (Gambar 4,5,6,7)



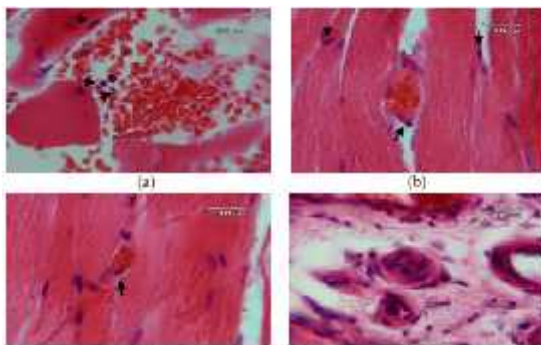
Gambar 4. Foto mikroskopik jumlah makrofag banyak yang terjadi pada jaringan periodontal tikus kelompok kontrol. H&E, 100 x.



Gambar 5. (a)(b)(c) Foto mikroskopik jumlah makrofag ringan yang terjadi pada jaringan periodontal tikus kelompok perlakuan air rebusan daun salam (*Eugenia polyantha w*) konsentrasi 20 %. H&E, 100 x, (d) Foto mikroskopik jumlah makrofag banyak yang terjadi pada jaringan periodontal tikus kelompok kontrol. H&E, 100 x.



Gambar 6. (a)(b)(c) Foto mikroskopik jumlah makrofag moderat yang terjadi pada jaringan periodontal tikus kelompok perlakuan air rebusan daun salam (*Eugenia polyantha w*) konsentrasi 40 %. H&E, 100 x, (d) Foto mikroskopik jumlah makrofag banyak yang terjadi pada jaringan periodontal tikus kelompok kontrol. H&E, 100 x.



Gambar 7. (a)(b)(c) Foto mikroskopik jumlah makrofag ringan yang terjadi pada jaringan

periodontal tikus kelompok perlakuan air rebusan daun salam (*Eugenia polyantha w*) konsentrasi 80 %. H&E, 100 x, (d) Foto mikroskopik jumlah makrofag banyak yang terjadi pada jaringan periodontal tikus kelompok kontrol. H&E, 100 x.

Hasil gambar histologi untuk kelompok kontrol terlihat jumlah makrofag lebih banyak dari fibroblas. Untuk kelompok perlakuan 20% secara histologi terlihat sedikit jumlah makrofag dibanding fibroblas. Kelompok perlakuan 40% secara histologi terlihat sedikit jumlah makrofag dibanding fibroblas, dan untuk kelompok perlakuan 80% secara histologi juga terlihat sedikit jumlah makrofag dibandingkan fibroblas. Berdasarkan analisis statistik didapatkan katagori berdasarkan jumlah makrofag data penelitian, katagori tersebut dapat dilihat pada tabel 5.2.

Tabel 5.2. ketagori dari hasil statistik

Kategori	Skor	Ket
$\geq 0 - \leq 2,99$	0	Tidak terdapat infiltrasi sel makrofag
$\geq 3 - \leq 4,49$	1	Infiltrasi sel makrofag sedikit
$\geq 4,5 - \leq 9,29$	2	Infiltrasi sel makrofag moderat
$\geq 9,3 - \geq 24$	3	Infiltrasi sel makrofag banyak

Berdasarkan ketagori tersebut di atas dilakukan analisis terhadap jumlah makrofag antara kelompok perlakuan, hasil analisis dapat dilihat pada tabel 5.3.

Tabel 5.3. Hasil pengamatan histologi jumlah makrofag pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

Ke lompok	Jumlah Makrofag	Skor
Kontrol	11	3
Kontrol	13	3
Kontrol	24	3
20%	1	0
20%	3	1
20%	5	2
40%	5	2
40%	7	2
40%	4	1
80%	3	1
80%	3	1
80%	1	0

Hasil penelitian pada semua tikus baik kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan menunjukkan terjadinya peningkatan jumlah makrofag yang di amati secara histologi, walaupun secara klinis hanya satu dari empat tikus yang terlihat adanya pembengkakan pada gingiva rahang atas dan rahang bawah.

Berdasarkan hasil analisis statistik menggunakan Kruskal-Wallis dengan Microsoft Excel-Analyse it v 2.30 menunjukkan bahwa air rebusan daun salam (*Eugenia polyantha w*) berpengaruh secara bermakna dalam membantu jumlah makrofag ($p=0,05$), tabel analisis dapat dilihat pada lampiran.

PEMBAHASAN

A. *actinomycescomitans* yang digunakan pada penelitian ini adalah *A. actinomycetemcomitans* dari strain laboratorium, namun untuk menghindari terjadinya kontaminasi yang mungkin terjadi selama penyimpanan, maka pada penelitian ini juga dilakukan uji konfirmasi dengan pewarnaan Gram. Hasil pewarnaan Gram *A. actinomycetemcomitans* terlihat berwarna kemerahan dan koloninya berbentuk kokobasilus. Terbentuknya warna merah merupakan karakteristik bakteri Gram negatif yang disebabkan oleh ketidakmampuan dinding selnya menyerap warna kristal violet. Susunan dinding sel pada bakteri Gram

negatif terdiri dari tiga lapisan, namun lapisan peptidoglikannya lebih tipis dan lapisan lemaknya lebih tebal sehingga zat warna kristal violet luntur saat pencucian dengan alkohol dan dinding selnya menyerap warna merah dari safranin.⁵⁰

Daun salam (*Eugenia polyantha w*) adalah tanaman yang banyak digunakan masyarakat baik sebagai bumbu masakan juga digunakan sebagai obat.^{5,9,33} Badan POM (Pemeriksa Obat dan Makanan) telah menetapkan daun salam sebagai salah satu dari sembilan obat unggulan yang telah diteliti atau diuji secara klinis untuk menanggulangi masalah kesehatan tertentu.³³ Daun salam (*Eugenia polyantha w*) memiliki potensi sebagai efek farmakologi, anti-inflamasi, antimikroba, analgesik dan antibakteri.⁹ Hasil penelitian Sumono dan Wulan (2009) menunjukkan bahwa daun salam (*Eugenia polyantha w*) mengandung senyawa kimia yang terdiri dari tanin, flavonoid, minyak asiri, saponin, triterpenoid dan alkaloid yang bersifat sebagai farmakologis.⁹

Sampel penelitian adalah tikus putih (*ratus norvegicus*), karena tikus putih relatif tenang, mudah ditangani, selain itu bentuk dan susunan jaringan periodontalnya tidak berbeda dengan jaringan periodontal manusia.⁵⁹ Tikus putih yang digunakan jenis kelamin jantan dan berusia 2 – 3 bulan. Tikus laboratorium adalah spesies tikus *ratus norvegicus* yang dibesarkan dan disimpan untuk penelitian ilmiah. Tikus putih telah digunakan dalam banyak penelitian eksperimental mengenai penyakit, pengaruh obat-obatan dan topikal lain dalam kesehatan dan kedokteran.⁶⁰

Bakteri *A. actinomycetemcomitans* mempunyai kemampuan melakukan penetrasi ke epitel gingiva, bakteri ini memproduksi leukotoksin yang dapat membunuh netrofil dan monosit. Dinding sel bakteri Gram negatif mengandung lipopolisakarida (LPS, endotoksin) yang mana dikeluarkan setelah bakteri mati, selain sebagai pencetus terjadinya proses inflamasi, LPS juga dapat menyebabkan nekrosis jaringan. Selain itu bakteri ini juga memproduksi enzim kolagenase yang dapat merusak kolagen tipe 1. Hal ini dapat mendorong terjadinya

degradasi kolagen dan gangguan pada jaringan ikat periodontal.⁶¹

Inflamasi merupakan respon tubuh terhadap jejas dan benda asing atau mikroorganisme yang masuk ke tubuh penjamu. Penelitian ini membuktikan bahwa respon tersebut sangat tergantung pada seberapa besar bakteri *A. actinomycetemcomitans* yang masuk ke tubuh tikus. Sebagaimana diperlihatkan pada hasil dimana tikus pada kelompok perlakuan 80% yang diinokulasikan lebih banyak daripada kelompok perlakuan lainnya yang secara klinis menunjukkan pembengkakan pada gingiva rahang atas dan bawahnya. Walau demikian, kelompok tikus lainnya secara histologi tetap menunjukkan adanya respon inflamasi. Ini dibuktikan dengan adanya ciri-ciri terjadinya respon inflamasi seperti vasodilatasi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Baratawidjaja GK dan Rengganis I yang menyebutkan pada jaringan yang mencirikan telah terjadi respon inflamasi ditemukan vasodilatasi yang menghasilkan peningkatan volume darah.⁶⁵

Volume darah yang meningkat di jaringan dapat menimbulkan perdarahan. permeabilitas vaskular yang memungkinkan sel-sel inflamasi seperti PMN dan sel makrofag untuk menyingkirkan bahan-bahan asing dan mati di jaringan yang cedera.⁶⁵

Hal ini sesuai dengan hasil penelitian ini, dimana ditemukan sejumlah makrofag yang merupakan salah satu sel fagosit yang dikeluarkan untuk respon inflamasi.

Pada sediaan histologi, didapatkan jaringan periodontal tikus memperlihatkan minimnya kehadiran sel-sel PMN, dominasi sel fagosit yang ditemukan adalah sel makrofag. Hasil ini juga telah mengkonfirmasi bahwa air rebusan daun salam terbukti memiliki fungsi anti-inflamasi, dimana kandungan air rebusan daun salam dapat menekan aktivitas PMN yang secara klinis akan memperlihatkan ciri-ciri *rubor*, *dolor*, dan *kalor*. Sebaliknya, air rebusan daun salam berdasarkan penelitian ini dapat membantu respon inflamasi. Berdasarkan hasil analisis statistik menggunakan Kruskal-Wallis dengan Microsoft ExcelAnalyse it v 2.30 menunjukkan bahwa air rebusan daun salam (*Eugenia polyantha w*) berpengaruh

secara bermakna dalam membantu jumlah makrofag ($p=0,05$). Kehadiran makrofag dalam proses inflamasi seperti diketahui merupakan satu indikasi jejas ataupun infeksi sedang memasuki tahap penyembuhan. Hasil ini sesuai dengan tampilan histologi penelitian dimana ditemukan sejumlah fibroblas. Peran fibroblas sangat besar pada proses perbaikan yaitu bertanggung jawab pada persiapan menghasilkan produk struktur protein yang akan digunakan selama proses rekonstruksi jaringan.⁶⁶ Fibroblas akan aktif bergerak dari jaringan sekitar inflamasi ke daerah inflamasi, kemudian akan berproliferasi serta mengeluarkan beberapa substansi seperti kolagen, elastin, *hyaluronic acid*, *fibronectin* dan *proteoglycans* yang berperan dalam rekontruksi jaringan baru.⁶⁶ Hal ini terjadi karena daun salam memiliki efek anti-inflamasi yang dapat meringankan respon inflamasi serta dapat mempercepat proses penyembuhan.

Kemampuan daun salam dalam membantu jumlah makrofag karena mempunyai kandungan kimia seperti tanin, flavonoid yang bersifat sebagai antiinflamasi, antimikroba dan antibakteri, minyak asiri yang bersifat analgetik dan antibakteri sedangkan saponin, triterpenoid dan alkaloid yang juga bersifat sebagai antibakteri sehingga mampu membatu terjadinya proses inflamasi. Penelitian ini menunjukkan bahwa air rebusan daun salam (*Eugenia polyantha w*) berpengaruh terhadap jumlah makrofag pada periodontitis agresif yang terlihat pada gambaran histologi.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa air rebusan daun salam (*Eugenia polyantha w*) dengan konsentrasi 20%, 40%, dan 80% berpengaruh secara bermakna terhadap jumlah makrofag pada gambaran histologi periodontitis agresif.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kesic L, Petrovic M, Obradovic R, Pejic A. The importance of *aggregatibacter actinomycetemcomitans* in etiology of periodontal disease-mini review. *Acta Medica Medianae* 2009;48:35-37

2. Utami TE, Kuncoro AR, Hutami RI, Sari TF, dan Handajani J. Efek antiinflamasi ekstrak daun sembung (*Paederia scandens*) pada tikus wistar. *Majalah Obat Tradisional* 2011;16:95-100.
3. Taughels W, Haake SK, Sliepen I, Pauwels M, Van Eldere J, Cassiman JJ, Quirynen M. Bacteria interfere with *A. actinomycetemcomitans* colonization. *Journal of Dental Research* 2007; 86:611-617.
4. Quirinen M, Teughels W, Haake SK, Newman MG. Microbiology of periodontal disease. In: Carranza, editors. *Carranza's Clinical Periodontology*. 10th ed. St.Louis: Elsevier. 2007. p.160-161.
5. Wijayakusuma H. Tumbuhan berkasiat obat Indonesia rempah, rimpang dan umbi. Prestasi instan Indonesia. Jakarta 2002.
6. Fine DH, Makowitz K, Furgang D, Velliyagounder K. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* as an early colonizer of oral tissue: epithelium as a reservoir? *Journal of Clinical Microbiology* 2010; 48:4464-4473.
7. Nakanishi FA, Avila-Camos MJ, Kamiji NH, Itano EN. Immunoglobulin G proteolytic activity of *Actinobacillus Actinomycetemcomitans*. *Braz J Microbiol* 2006; 37:42-6.
8. Fine DH, Markowitz K, Furgang D, Fairlie K, Ferrandiz J, Nasri C, et al. *aggregatibacter actinomycetemcomitans* and its relationship to initiation of localized aggressive periodontitis: longitudinal cohort study of initially healthy adolescent. *J Clin Microbiol* 2007; 45:3859-3869.
9. Sumono A dan Wulan A. Kemampuan air rebusan daun salam (*Eugenia polyantha* w) dalam menurunkan jumlah koloni bakteri *Streptococcus* sp. *Majalah Farmasi Indonesia* 2009; 20:112-118.
10. Winarto W.P. memanfaatkan bumbu dapur untuk mengatasi aneka penyakit. *Agromedia Pustaka*. Jakarta 2004.
11. Noveriza R, Miftakhurohmah. Efektivitas ekstrak mentol daun salam (*Eugenia polyantha*) dan daun jeruk peruk (*Cytrus hirtus*) sebagai antijamur pada pertumbuhan *Fusarium oxysporum*. *Jurnal Litri* 2010;16:6-11
12. Benson. *Microbiological applications laboratory manual in general microbiology*. 8th ed. The McGraw-Hill Companies, 2001. p. 93-98
13. Tim mikrobiologi. Penuntun praktikum mikrobiologi. Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala. 2002.
14. Ariyanti R, Wahyuningtyas N, Wahyuni SA. Pengaruh pemberian infusa daun salam (*Eugenia polyantha* wight) terhadap penurunan kadar asam urat darah mencit putih jantan yang diinduksi dengan potassium oksonat. *Pharmakon* 2007;8:56-63.
15. Praptiwi, Muis FS, Hadisaputro S, Suryono. Sumbangan *All-Trans* asam retinoat (ATRA) bagi penyembuhan periodontitis. *Media Medika Indonesia* 2011;45:169-173.
16. Mohamad M. Teknik pembuatan preparat histology dari jaringan hewan dengan pewarnaan hematoksin dan eosin (H&E). *Balai Penelitian Veteriner, Jl. R. E Martadinata* 30, Bogor 2001.
17. Jusuf AA. Histoteknik dasar. *Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia* 20