Viabilitas neutrofil yang diinkubasi dalam ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dan dipapar dengan *Streptococcus mutans* (Viability of neutrophil incubated in temulawak rhizome extract (*Curcuma xanthorrhiza*) and exposed by *Streptococcus mutans*)

Ika Wahyu Purnamasari, Pudji Astuti, Tantin Ermawati

Bagian Biomedik

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Jember, Indonesia

ABSTRACT

Streptococcus mutans are bacteria that have important role in caries development. When caries lesion is developing, it may invade to deeper tissues such as dental pulp and initiate cellular defenses such as neutrophil. Neutrophil is type of leukocytes which are important in phagocytosis process. If neutrophil fails in phagocytosis, neutrophil will be lysis and cause viability of neutrophil unprotected. Temulawak rhizome extract is predicted to increase viability of neutrophil because it contains curcuminoids, volatile oil, saponin, flavonoid, and tannin. This research aimed of this research was to determine the viability of neutrophil exposed by *S. mutans* and incubated in temulawak rhizomes extract 2.5%, 5%, 7.5%, 10%, and 20%. Twenty four samples were divided into 6 groups, consisting of negative control, temulawak rhizome extract 2.5%, 5%, 7.5%, 10%, and 20%. The viability of neutrophil was observed under an inverted microscope using trypan blue staining. This study concluded that temulawak rhizome extract 2.5%, 5%, 7.5%, and 10% could increase viability of neutrophil exposed by *S. mutans*. Temulawak rhizome extract 5% has the effective concentration to increase viability of neutrophil.

Keywords: neutrophil, *Streptococcus mutans*, temulawak rhizomes extract, viability

ABSTRAK

Streptococcus mutans merupakan bakteri yang berperan penting dalam proses terjadinya karies. Ketika lesi karies berkembang, *S. mutans* dapat mengadakan invasi ke pulpa dan menyebabkan respon pertahanan sel seperti neutrofil. Neutrofil merupakan sel darah putih yang berperan terhadap proses fagositosis. Apabila neutrofil mengalami kegagalan dalam fagositosis, neutrofil dapat lisis sehingga viabilitas neutrofil tidak dapat dipertahankan. Ekstrak rimpang temulawak diduga dapat meningkatkan viabilitas neutrofil yang dipapar *S. mutans* karena mempunyai kandungan kurkuminoid, minyak atsiri, saponin, flavonoid, dan tanin. Penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui viabilitas neutrofil yang dipapar *S. mutans* dan diinkubasi dengan ekstrak rimpang temulawak konsentrasi 2,5%, 5%, 7,5%, 10%, dan 20%. Dua puluh empat sampel dibagi menjadi 6 kelompok, yaitu kelompok kontrol, kelompok dengan ekstrak rimpang temulawak konsentrasi 2,5%, 5%, 7,5%, 10%, dan 20%. Viabilitas neutrofil diamati dengan mikroskop *inverted*, dengan pewarnaan *trypan blue*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak rimpang temulawak konsentrasi 2,5%, 5%, 7,5%, 10% dapat meningkatkan viabilitas neutrofil yang dipapar *S. mutans*. Disimpulkan bahwa konsentrasi paling efektif meningkatkan viabilitas neutrofil adalah ekstrak rimpang temulawak 5%.

Kata kunci: ekstrak rimpang temulawak, neutrofil, *Streptococcus mutans*, viabilitas

Koresponden: Ika Wahyu Purnamasari, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember, Jl. Kalimantan 37, Jember 68121, Indonesia. E-mail: iwcassie@gmail.com

PENDAHULUAN

Obat tradisional atau yang biasa disebut jamu telah diakui keberadaannya sejak jaman dahulu baik di Indonesia maupun negara-negara lainnya dan sampai sekarang tetap dimanfaatkan dan bahkan cenderung meningkat.¹ Salah satu tanaman yang umum digunakan untuk pengobatan tradisional adalah temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*).

Rimpang *C. xanthorrhiza* merupakan salah satu bahan ramuan obat tradisional yang penting di berbagai daerah di Indonesia. Rimpang temulawak memberi pengaruh positif terhadap sistem pencernaan, kantong empedu, dan hati.^{2,3}

Rimpang temulawak diketahui mengandung kurkuminoid, minyak atsiri, saponin, flavonoid dan

tannin.⁴ Kurkuminoid pada temulawak terdiri dari tiga macam senyawa fenolik, yaitu kurkumin, demetoksikurkumin dan bisdemetoksikurkumin. Keberadaan ketiga senyawa tersebut menyebabkan aktivitas antioksidan yang kuat pada sistem biologis.⁵ Minyak atsiri dari temulawak terdiri atas felandren, kamfer, borneol, sineal, dan *xanthorrhizol*,³ yang merupakan komponen minyak atsiri temulawak yang tidak ditemukan pada *Curcuma* yang lain.⁶ Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Rukayadi, dibuktikan bahwa isolasi *xanthorrhizol* dari ekstrak metanol temulawak konsentrasi 50 μmol^{-1} mampu menghambat pertumbuhan biofilm *Streptococcus mutans*.⁷ Mangunwardoyo dkk juga membuktikan bahwa isolasi *xanthorrhizol* dari ekstrak metanol

temulawak konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40% dan 50% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutan*.⁴

S. mutan merupakan bakteri yang mempunyai peranan penting dalam proses terjadinya karies. Saat lesi karies berkembang, bakteri dapat mengadakan invasi ke jaringan gigi yang lebih dalam seperti dentin, tubuli dentin dan pulpa. Bakteri dan toksinnya yang menembus tubuli dentin serta mencapai pulpa akan menyebabkan reaksi inflamasi,⁷ yang merupakan reaksi jaringan tubuh terhadap invasi organisme mikro patogen, trauma karena luka, terbakar, atau bahan kimia.⁸ Salah satu jenis leukosit yang berperan pada respon sel inflamasi adalah neutrofil.

Neutrofil bertugas membunuh bakteri dengan cara fagositosis. Pada proses fagositosis, neutrofil membunuh bakteri dengan enzim hidrolitik dan senyawa bakterisida yaitu lisozim, protein pengikat besi laktoferin, leukin, dan fagositin, serta protein kationik.⁹ Proses fagositosis oleh neutrofil adalah mekanisme yang efektif membunuh bakteri, meski tidak selalu berhasil.¹⁰ Kegagalan fagositosis dapat menyebabkan sel neutrofil lisis dan menumpahkan enzim hidrolitik serta senyawa bakterisida yang dapat menyebabkan kerusakan pada jaringan sekitar.¹¹ Lisisnya sel neutrofil mengarah pada viabilitas atau kelangsungan hidup neutrofil yang tidak terjaga.

Viabilitas neutrofil harus dipertahankan agar neutrofil mampu menjalankan fungsinya sebagai sel fagosit. Salah satu tanaman yang diduga dapat meningkatkan viabilitas sel neutrofil adalah rimpang temulawak, yang mengandung berbagai bahan aktif, yaitu kurkuminoid, minyak atsiri (*xanthorrhizol*), saponin, flavonoid, dan tannin.⁴ Rimpang temulawak juga memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri dan anti-inflamasi.¹² Berdasarkan uraian tersebut, maka dilakukan penelitian untuk mengetahui efek inkubasi dalam ekstrak rimpang temulawak terhadap viabilitas neutrofil yang dipapar *S. mutans*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian *in vitro*, dengan rancangan *post-test only control group* ini, dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi dan Laboratorium *Bioscience* Rumah Sakit Gigi dan Mulut pada Universitas Jember, pada bulan Desember 2013 sampai Januari 2014.

Sampel diambil dari darah vena perifer laki-laki dewasa sehat, tidak mempunyai riwayat kelainan darah dan penyakit sistemik, serta tidak memiliki kebiasaan merokok yang jumlahnya 24; terbagi dalam 6 kelompok perlakuan, yaitu kelompok I atau kontrol (neutrofil + *S. mutan*), kelompok II (neutrofil + ekstrak rimpang temulawak konsentrasi 2,5% + *S.*

mutan), kelompok III (neutrofil + ekstrak rimpang temulawak 5% + *S. mutan*), kelompok IV (neutrofil + ekstrak rimpang temulawak konsentrasi 7,5% + *S. mutan*), kelompok V (neutrofil + ekstrak rimpang temulawak 10% + *S. mutan*), dan kelompok VI (neutrofil + ekstrak rimpang temulawak 20% + *S. mutan*). Penelitian dilakukan dalam beberapa tahap, yaitu pembuatan ekstrak rimpang temulawak, kultur *S. mutan*, isolasi neutrofil, uji viabilitas neutrofil dan penghitungan viabilitas neutrofil dengan pewarnaan *trypan blue*.

Proses pembuatan ekstrak rimpang temulawak menggunakan teknik remaserasi dengan etanol 70%. Rimpang temulawak segar dibersihkan dan dicuci menggunakan air mengalir sampai semua tanah dan kotoran yang menempel hilang, kemudian dipotong tipis-tipis dan dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C selama 3-5 hari. Rimpang temulawak yang sudah kering digiling dengan *blender* dan diayak hingga menjadi bubuk halus, kemudian direndam dalam etanol 70% selama 6 jam sambil sesekali diaduk, kemudian didiamkan sampai 18 jam untuk selanjutnya dilakukan penyaringan. Proses maserasi diulangi dua kali dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama. Maserat hasil penyaringan dikumpulkan menjadi satu dan diuapkan dengan evaporator sampai diperoleh ekstrak kental.¹² Pengenceran dengan akuades steril dilakukan pada ekstrak rimpang temulawak hingga didapatkan konsentrasi 2,5%, 5%, 7,5%, 10%, dan 20%.

Pembuatan kultur *S. mutan* dilakukan dengan mengambil satu ose *S. mutan* dalam stok, kemudian dicampur dengan 2 ml BHI-B ke dalam tabung reaksi. Tabung reaksi dimasukkan ke dalam *desicator* dan ditutup rapat. *Desicator* dimasukkan ke inkubator suhu 37°C selama 24 jam, diukur tingkat kekeruhan pada suspensi *S. mutan* dalam tabung reaksi dengan menggunakan spektrofotometer hingga didapatkan kekeruhan 0,5 McFarland setara dengan $1,5 \times 10^8$ CFU/mL. Selanjutnya akuades steril ditambahkan pada suspensi *S. mutan* dan diukur dengan *densitochek* hingga kekeruhan menjadi 0,3 McFarland.

Prosedur selanjutnya, yaitu isolasi neutrofil. *Histopaque* 1199 sebanyak 3 cc dilapiskan pada tabung falcon, kemudian *ficoll* sebanyak 3 cc dilapiskan di atas lapisan *histopaque* 1119 tersebut. Darah yang sudah bercampur heparin sebanyak 6 cc dilapiskan di atas 2 lapisan tersebut, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 1900 rpm selama 30 menit pada suhu 25°C hingga diperoleh 6 lapisan, yaitu lapisan plasma, sel darah mononuklear, *ficoll*, granulosit (neutrofil) *histopaque* 1119, dan eritrosit. Tiga lapisan pertama diambil dengan mikropipet, kemudian lapisan neutrofil diambil secara hati-hati.

Tabel 1 Hasil penghitungan viabilitas neutrofil yang dipapar *S.mutans* dan diinkubasi dengan ekstrak rimpang temulawak

Kelompok Perlakuan	Rerata Viabilitas $\pm$ SD
Kelompok I: neutrofil + <i>S.mutan</i> (kelompok kontrol)	44,50 $\pm$ 7,42
Kelompok II: neutrofil + ekstrak rimpang temulawak 2,5% + <i>S.mutan</i>	54,50 $\pm$ 2,65
Kelompok III: neutrofil + ekstrak rimpang temulawak 5% + <i>S.mutan</i>	55,75 $\pm$ 8,22
Kelompok IV: neutrofil + ekstrak rimpang temulawak 7,5% + <i>S.mutan</i>	55,00 $\pm$ 8,04
Kelompok V: neutrofil + ekstrak rimpang temulawak 10% + <i>S.mutan</i>	53,00 $\pm$ 6,68
Kelompok VI: neutrofil + ekstrak rimpang temulawak 20% + <i>S.mutan</i>	39,75 $\pm$ 6,40

Sebanyak 1000 μ L HBSS ditambahkan pada lapisan neutrofil, disentrifugasi dengan kecepatan 1700 rpm selama 10 menit pada suhu 37°C, lalu supernatan diambil dari lapisan granulosit. Sebanyak 2000 μ L HBSS ditambahkan pada lapisan neutrofil dan dilakukan *pipetting*. Pengamatan populasi sel dilakukan di bawah mikroskop *inverted* dengan perbesaran 400x. *Fungizone Amphotericin B* 10 μ L dan 40 μ L *Penicillin Streptomycin solution stabilized* ditambahkan pada suspensi neutrofil untuk mencegah kontaminasi, kemudian dilakukan *pipetting*.

Uji viabilitas diawali dengan melapiskan 75 μ L sel neutrofil pada 24 *well microplate* yang dasarnya telah diberi *coverslip*. Selanjutnya inkubasi dilakukan selama 15 menit pada suhu 37°C kemudian dicek di bawah mikroskop. Neutrofil diresuspensi dengan 1000 μ L medium M199 dan diinkubasi selama 30 menit dengan suhu 37°C. Pada kelompok I tidak diberi perlakuan (kontrol), pada kelompok II ditambahkan 175 μ L ekstrak rimpang temulawak 2,5%, pada kelompok III ditambahkan 175 μ L ekstrak rimpang temulawak 5%, kelompok IV ditambahkan 175 μ L ekstrak rimpang temulawak 7,5%, pada kelompok V ditambahkan 175 μ L ekstrak rimpang temulawak 10%, dan kelompok VI ditambahkan 175 μ L ekstrak rimpang temulawak 20%.

Pipetting dan inkubasi dilakukan selama 3 jam pada suhu 37°C. Selanjutnya, ditambahkan suspensi *S.mutan* dengan densitas 0,3 McFarland sebanyak 75 μ L pada masing-masing *well microplate* lalu dilakukan *pipetting*. Inkubasi dilakukan selama 3 jam pada suhu 37°C. Medium inkubasi dibuang dan sel dicuci dengan medium M199 sebanyak dua kali, kemudian neutrofil diresuspensi dengan 1000 μ L medium M199. Pada sampel yang akan diwarnai dengan *trypan blue*, medium M199 dibuang dan ditambahkan 100 μ L HBSS, kemudian ditambahkan 100 μ L *trypan blue*. Setelah dilakukan inkubasi selama 3 menit kemudian, dilakukan penghitungan viabilitas neutrofil dengan cara menghitung sel yang hidup dibagi seratus jumlah sel neutrofil secara keseluruhan, kemudian dilakukan penghitungan persentase viabilitas sel neutrofil. Sel neutrofil yang viabel tampak berwarna bening dan tampak jernih, sedangkan sel neutrofil yang tidak *viabel* berwarna gelap.

HASIL

Data hasil penelitian viabilitas neutrofil yang dipapar *S.mutans* dan diinkubasi dengan ekstrak rimpang temulawak terlihat pada Tabel 1 yang menunjukkan bahwa kelompok III, yaitu kelompok dengan ekstrak rimpang temulawak 5% memiliki rata-rata viabilitas neutrofil yang tertinggi sedangkan kelompok VI, yaitu kelompok ekstrak rimpang temulawak 20% menunjukkan rata-rata viabilitas yang terendah. Gambar histogram rata-rata viabilitas neutrofil dapat dilihat pada Gambar 1.

Gambar 1 Diagram batang rata-rata viabilitas neutrofil yang dipapar dengan *S.mutans* dan diinkubasi dengan ekstrak rimpang temulawak

Data hasil penelitian dianalisis dengan uji *Kolmogorov-Smirnov*, menunjukkan data tersebut terdistribusi normal dan uji *Levene* menunjukkan data yang homogen. Analisis dengan *one way Anova* menunjukkan $p=0,016$ ($p<0,05$) sehingga diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada keenam kelompok penelitian. Uji *LSD* menunjukkan perbedaan yang signifikan lebih rinci antar kelompok penelitian; kelompok kontrol memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok ekstrak rimpang temulawak 5% (III) dan 7,5% (IV). Kelompok ekstrak rimpang temulawak 2,5% (II) memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok ekstrak rimpang temulawak 20% (VI). Kelompok ekstrak rimpang temulawak 5% (III) berbeda secara signifikan dengan kelompok ekstrak rimpang temulawak 20% (VI). Kelompok ekstrak rimpang temulawak 7,5% (IV)

memiliki beda yang signifikan dengan kelompok ekstrak rimpang temulawak 20% (VI). Kelompok ekstrak rimpang temulawak 10% (V) memiliki beda yang signifikan dengan kelompok ekstrak rimpang temulawak 20% (VI).

PEMBAHASAN

Kelompok kontrol (I), yang tidak diinkubasi dengan ekstrak rimpang temulawak memiliki rata-rata viabilitas yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok II, III, IV, dan V. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak rimpang temulawak dapat meningkatkan viabilitas neutrofil yang dipapar dengan *S. mutan*. Hasil analisis data secara statistik menggunakan uji LSD pada kelompok II, III, IV, dan V menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan pada keempat kelompok tersebut, sehingga diketahui bahwa keempat kelompok tersebut memiliki efek yang serupa dalam meningkatkan viabilitas sel neutrofil yang dipapar dengan *S. mutan*, meskipun kelompok III memiliki efek yang tertinggi dalam meningkatkan viabilitas neutrofil dengan rata-rata viabilitas, yaitu 55,75.

Berbagai hasil penelitian menunjukkan bahwa rimpang temulawak memiliki banyak kandungan zat aktif yang bermanfaat dan memiliki berbagai khasiat. Temulawak mengandung kurkuminoid, selain minyak atsiri, saponin, flavonoid, dan tanin. Kurkuminoid merupakan komponen aktif dengan persentase terbesar pada rimpang temulawak yaitu (1,6-2,2%).⁴ Kurkuminoid dari rimpang temulawak dapat berperan sebagai antioksidan, anti-inflamasi, antibakteri, antihepatotoksik, antikolesterol, dan antikanker. Dalam penelitian ini diduga kandungan kurkuminoid dari tumbuhan temulawak berperan dalam viabilitas neutrofil. Oleh Jancinova *et al.*,¹⁵ diungkapkan kurkuminoid memiliki mekanisme yang dapat menurunkan pembentukan *reactive oxygen species* dan mencegah terjadinya *oxidative burst* pada neutrofil yang berpotensi merusak jaringan di sekitarnya.

Neutrofil adalah sel darah putih atau leukosit yang berperan dalam garis pertahanan tubuh pertama terhadap benda asing, salah satunya bakteri. Neutrofil menyerang bakteri dan menghancurkannya dengan fagositosis melalui reaksi biokimia yang kompleks dan melibatkan berbagai enzim dan senyawa kimia. Neutrofil memfagositosis dan membunuh bakteri dengan proses degranulasi pada granula primernya. Granula primer pada neutrofil mengandung enzim-enzim hidrolitik dan senyawa bakterisida, yaitu lisozim, protein pengikat besi laktoferin, leukin, dan fagositin serta protein kationik yang mampu membunuh bakteri. Neutrofil juga menghancurkan

bakteri dengan bakterisida berupa pengoksidasi kuat meliputi superoksida (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2), dan ion-ion hidroksil (OH).¹⁰ Superoksida, hidrogen peroksida, dan ion-ion hidroksil disebut juga sebagai ROS.

Reactive oxygen species merupakan radikal bebas atau oksidan yang sangat reaktif; ROS adalah sebuah molekul atau atom yang mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbit terluarnya. Radikal ROS yang bersifat tidak stabil ini berupaya mendapatkan pasangan elektron dari molekul lain.¹⁶ Setiap ROS yang terbentuk dapat memulai suatu reaksi berantai yang terus berlanjut sampai ROS itu dihilangkan oleh ROS lain atau sistem antioksidannya.¹⁷ Produksi ROS yang secara berlebihan dapat menyebabkan ketidakseimbangan antara ROS dan sistem antioksidannya yang berujung pada stres oksidatif yang dapat memicu terjadinya kerusakan pada asam lemak tidak jenuh ganda (PUFA) yang terdapat pada membran sel neutrofil.¹⁸

Astuti mengungkapkan bahwa PUFA pada membran sel sangat rentan terhadap peroksidasi lipid karena mengandung banyak ikatan rangkap. Keberadaan karbon-karbon yang memiliki ikatan rangkap akan melemahkan ikatan karbon-hidrogen, sehingga atom hidrogen tersebut rentan teroksidasi. Apabila atom hidrogen pada karbon α -metilen dari ikatan rangkap PUFA menghilang karena oksidasi dari ROS, maka akan terjadi peroksidasi lipid yang menyebabkan hilangnya integritas dan permeabilitas membran sel.¹⁶ Sel yang tidak terintegrasi mengarah pada kerusakan dan kematian sel tersebut atau tidak viabel.

Antioksidan tambahan akan dibutuhkan untuk mencegah terjadinya kematian sel karena produksi jumlah ROS yang berlebihan. Sumber antioksidan alami terdapat pada kurkumin dalam temulawak. Mekanisme antioksidan pada kurkumin terjadi melalui reaksi pemecahan rantai, yaitu kurkumin memberikan atom H dari senyawa OH yang dimiliki untuk mengikat radikal bebas dan molekul reaktif.¹² Barzegar dan Movahedi juga mengungkapkan bahwa kurkumin terdiri dari dua kelompok senyawa fenolik dan satu kelompok senyawa metilen (CH_2). Kedua kelompok tersebut melepaskan atom hidrogen yang dimiliki untuk menangkap ROS. Berdasar potensi itu, diduga kurkumin dapat menghambat terjadinya peroksidasi lipid pada PUFA membran sel.¹⁹

Kandungan flavonoid dan tanin dalam rimpang temulawak juga diduga berperan dalam usaha mempertahankan viabilitas neutrofil yang dipapar *S. mutan*. Dalam sebuah penelitian *in vitro*, flavonoid dilaporkan memiliki daya antioksidan kuat dengan daya penangkap radikal bebas yang luas dan dapat

menghambat formasi radikal bebas.²⁰ Flavonoid (flavonoid-OH) bekerja sebagai daya penangkap radikal bebas hidroksil dengan meregenerasi OH menjadi H₂O.¹⁶ Tanin juga dapat bersifat sebagai antioksidan karena kemampuannya menghambat peroksidasi lipid. Kennouf *et al.*,²¹ mengungkapkan bahwa tanin memiliki kemampuan yang sama dengan senyawa fenolik dalam menghambat peroksidasi lipid.²¹

S.mutan merupakan bakteri asidogenik yang berperan penting dalam proses karies. Haniastuti²² mengungkapkan bahwa *S.mutan* dapat menyebabkan respon inflamasi berupa kemotaktik dan fagositosis oleh neutrofil pada pulpa gigi jika *S.mutan* telah berpenetrasi sampai pada jaringan pulpa. Hahn dan Liewehr²³ juga mengungkapkan bahwa neutrofil dapat distimulasi oleh *S.mutan* melalui *Lipoteichoic acids* (LTA) yang dihasilkan oleh *S.mutan*.²³

Kemampuan ekstrak rimpang temulawak dalam meningkatkan viabilitas neutrofil yang dipapar oleh *S.mutan* diduga juga dapat disebabkan adanya efek antibakteri ekstrak rimpang temulawak. Minyak atsiri (xanthorrhizol) yang dikandung temulawak memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *S.mutan*.⁶ Dengan efek antibakteri tersebut, diduga ekstrak rimpang temulawak yang diinkubasi selama 3 jam pada neutrofil telah mampu membunuh bakteri sehingga neutrofil tetap viabel.

Hasil penelitian pada tabel 1 menunjukkan kelompok II ekstrak rimpang temulawak 2,5% dan 5% (kelompok III) memiliki rata-rata viabilitas lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol, namun pada kelompok ekstrak rimpang temulawak konsentrasi 7,5% (kelompok IV), 10% (kelompok V) dan 20% (kelompok VI) terjadi penurunan rata-rata viabilitas walaupun pada kelompok ekstrak rimpang temulawak konsentrasi 7,5% (kelompok IV), dan 10% (kelompok V) masih memiliki rerata

viabilitas yang lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak rimpang temulawak tidaklah berbanding lurus dengan meningkatnya rata-rata viabilitas neutrofil. Kelompok ekstrak rimpang temulawak konsentrasi 20% (VI) menunjukkan rata-rata viabilitas terendah yaitu 39,75. Hal ini diduga karena ekstrak rimpang temulawak 20% bersifat sitotoksik terhadap neutrofil. Oleh Helen²⁴ telah diungkapkan bahwa *Curcuma xanthorrhiza* atau temulawak termasuk dalam famili *Zingiberaceae* yang memiliki aktivitas antialergi, antimikroba, anti-inflamasi, antihiperlipdemia, *anti-nociceptive*, *anti-psychiatric*, antioksidan, *hepatoprotective*, sitotoksik *immunomodulatory* dan sitotoksik. Borchers *et al*²⁵ mengungkapkan komponen bioaktif dengan jumlah sedikit tidak menyebabkan efek biologis namun dengan jumlah tertentu, komponen bioaktif memiliki sifat sitotoksik pada sel kanker, tetapi juga dapat bersifat toksik terhadap sel normal.

Berdasarkan hasil penelitian ini, diketahui bahwa ekstrak rimpang temulawak dapat meningkatkan viabilitas neutrofil yang dipapar *S.mutan* dengan konsentrasi paling optimal, yaitu 5%.

Berdasarkan hasil penelitian ini, disimpulkan bahwa ekstrak rimpang temulawak konsentrasi 2,5%, 5%, 7,5%, dan 10% dapat meningkatkan viabilitas neutrofil yang dipapar dengan *S.mutan*. Konsentrasi ekstrak rimpang temulawak yang paling efektif untuk meningkatkan viabilitas neutrofil yang dipapar dengan *S.mutan* adalah konsentrasi ekstrak rimpang temulawak 5%. Berdasarkan hasil ini, disarankan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang kandungan zat aktif pada rimpang temulawak yang dapat meningkatkan viabilitas neutrofil, uji toksisitas ekstrak rimpang temulawak, dan ekstrak rimpang temulawak sebagai obat kumur untuk menghilangkan infeksi atau mencegah karies gigi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Hayati S. Standarisasi ekstrak tumbuhan obat Indonesia, salah satu tahapan penting dalam pengembangan obat asli Indonesia. InfoPOM 2005; 6 (4): 1-5
2. Achmad SA, Hakim EH, Makmur L, Syah, MY, Juliawaty LD, Mujahidin D. Ilmu kimia dan kegunaan: tumbuh-tumbuhan obat Indonesia. Bandung: Institut Teknologi Bandung; 2008
3. Santoso HB. Ragam & khasiat tanaman obat, sehat alami dari halaman asri. Jakarta: Agromedia Pustaka; 2008
4. Mangunwardoyo W, Dessyaty, Usia T. Antimicrobial and identification of active compound *Curcuma xanthorrhiza* roxb. Int J Basic Appl Sci 2012;12(1)
5. Sari DLNS, Cahyono B, Kumoro A. Pengaruh jenis pelarut pada ekstraksi kurkuminoid dari rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* roxb). Chem Info 2013; 1(1): 101-7
6. Husein S, Parhusip A, Romasi ER. Study on antibacterial activity from "temulawak" (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) rhizomes against pathogenic microbes cell destruction. J Appl Industr Biotechnol Tropical Region 2009; 2(1)
7. Rukayadi Y, Hwang JK. In vitro activity of xanthorrhizol against *Streptococcus mutans* biofilms. Lett Appl Microbiol 2006; 42: 400-4
8. Grossman LI, Oliet S, Rio CED. Ilmu endodontik dalam praktek. Edisi 11. Alih bahasa: Abyono R. Jakarta: EGC; 1995
9. Harty FJ, Ogston R. Kamus kedokteran gigi. Alih bahasa: Sumawinata N. Jakarta: EGC; 1995

10. Roeslan BO. Imunologi oral (kelainan di dalam rongga mulut). Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2002
11. Magalhaes MAO. "Effective neutrophil activation during innate immunity understanding the specific roles of Rac1 and Rac 2". [Tesis]. Toronto: University of Toronto; 2009
12. Itokawa H, Shi Q, Akiyama T, Nastchke SLM, Lee KH. Recent advances in the investigation of Curcuminoids. Chinese Medicine 2008; 3(11)
13. Christenson K. "Cell death and clearance-studies of human neutrophils from blood and tissue". [Tesis]. Swedia: University of Gothenburg; 2011. p.34-6
14. Depkes. Keputusan Menkes No.261/MENKES/SK/IV/2009 tentang farmakope herbal Indonesia. Jakarta: Depkes; 2009
15. Jancinova V, Perecko T, Nosal R, Mihlova D, Bauerova K, Drabikova K. Pharmacological regulation of neutrophil activity and apoptosis. Interdisc Toxicol 2011; 4(1): 11-4
16. Astuti S. Isoflavon kedelai dan potensinya sebagai penangkap radikal bebas. J Teknologi Industri dan Hasil Pertanian; 2008; 13(2)
17. Maslachah L, Sugihartuti R, Kurniasanti R. Hambatan produksi reactive oxygen species radikal superoksida (O_2^-) oleh antioksidan vitamin E (α -tocopherol) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang menerima stressor renjatan listrik. Media Kedokteran Hewan 2008; 24(1)
18. Katoch B, Begum R. Biochemical basis of the high resistance to oxidative stress in *Distyostelium discoideum*. J Biosci 2003; 28(5)
19. Barzegar A, Movahedi AM. Intracellular ROS protection efficiency and free radical scavenging activity of curcumin. Plos One 2011; 6(10)
20. Lafuente AG, Guillaumon E, Villares A, Rostagno MA, Martinez JA. Flavonoids as anti-inflammatory agents: implications in cancer and cardiovascular disease. Inflamm Res 2009; 58: 537-52
21. Khennouf S, Amira S, Arrar L, Baghiani A. Effect of some phenolic compounds and quercus tannins on lipid peroxidation. World Appl Sci J 2010; 8 (9): 1144-9
22. Haniastuti T. Chemotactic activity of human neutrophils to *Streptococcus mutans*. Indonesian J Dent 2009; 16(2): 149-62
23. Hahn CL, Liewehr R. Relationship between caries bacteria, host responses, and clinical signs and symptoms of pulpitis. J Endod 2007; 33(3)
24. Helen MPA, Gomathy SK, Jayasree S, Nizzy AM, Rajagopal B, Jeeva S. Phytochemical characterization and antimicrobial activity of *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. Asian Pac J Tropical Biomed 2012; S637- 40
25. Borchers AT, Stern JS, Hackman RM, Keen CL, Gershwin ME. Mushroom, tumors, and immunity. Proc Soc Exp Biol 1999; 221: 281-93