

6/KIM
2002
039

**PEMANFAATAN EKSTRAK SELENIUM
PINANG (*Areca catechu L.*) DENGAN FERMENTASI
ACETOBACTER-SACCHAROMYCES
SEBAGAI ANTISEPTIK OBAT KUMUR**

MERRY ANGGRAENI



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2002**

RINGKASAN

MERRY ANGGRAENI. Pemanfaatan Ekstrak Selenium Pinang (*Areca catechu L.*) dengan Fermentasi *Acetobacter-Saccharomyces* sebagai Antiseptik Bakteri Mulut. Dibimbing oleh NORMAN RAZIEF AZWAR dan NOVIK NURHIDAYAT.

Tumbuhan di Indonesia merupakan sumber senyawa metabolit sekunder yang dapat dimanfaatkan sebagai obat. Obat tradisional telah berabad-abad lamanya dipergunakan secara luas oleh masyarakat. Salah satu tumbuhan ini ialah pinang. Pinang dapat dimanfaatkan sebagai obat kumur yang relatif murah dan berkhasiat baik akan menunjang kesehatan masyarakat. Obat kumur tersebut mengandung antiseptik, yaitu Se. Selenium itu mempunyai peranan hayati dalam tubuh sebagai antikanker, antioksidan, dan antimikrob.

Penelitian ini terbagi menjadi empat tahapan. Tahap pertama ialah pengembangbiakan koloni kombuca berupa mikroba campuran *Acetobacter-Saccharomyces*. Tahap kedua fermentasi ekstrak pinang (daun, buah, akar), pada tahapan tersebut terdapat pengambilan contoh dengan interval waktu tiga hari selama 21 hari. Tahap ketiga adalah uji aktivitas bakteri terhadap ekstrak contoh hasil fermentasi. Tahap keempat pengukuran konsentrasi Se dari setiap hasil fermentasi dengan metode analisis aktivasi neutron.

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, konsentrasi Se yang didapat secara bioekstraksi cenderung naik dan berfluktuasi. Konsentrasi Se optimum terdapat pada akar pinang hari ke-21 (14,03 ppb), diikuti daun pinang hari ke-15 (9,40 ppb), dan konsentrasi Se terkecil buah pinang pada hari ke-9 (3,05 ppb). Lamanya waktu fermentasi dan bertambahnya konsentrasi ekstrak yang digunakan mengakibatkan konsentrasi Se semakin besar. Se yang terkandung dalam ekstrak mempunyai potensi cukup besar untuk digunakan sebagai antiseptik obat kumur, hal tersebut dapat dilihat dari kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans* dibandingkan dengan obat kumur lainnya yang telah umum digunakan masyarakat. Contoh tersebut diekstraksi secara hayati dengan diameter hambat terbesar dihasilkan oleh daun sebesar 0,77 cm (hari ke-1), akar sebesar 0,36 cm (hari ke-15) dan terakhir buah sebesar 0,18 cm (hari ke-15). Naiknya konsentrasi dan lamanya waktu fermentasi seiring dengan bertambahnya diameter zona hambat. Efektivitas ekstrak lebih baik dibandingkan tiga jenis obat kumur yang beredar di masyarakat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans*.

**PEMANFAATAN EKSTRAK SELENIUM
PINANG (*Areca catechu L.*) DENGAN FERMENTASI
ACETOBACTER-SACCHAROMYCES
SEBAGAI ANTISEPTIK OBAT KUMUR**

MERRY ANGGRAENI

Skripsi

Sebagai salah satu syarat memperoleh gelar

Sarjana Sains

Pada

Program Studi Kimia

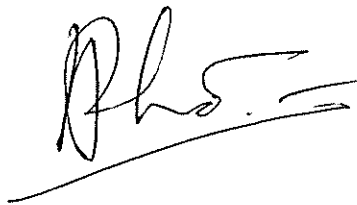
**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2002**

Judul : Pemanfaatan Ekstrak Selenium Pinang (*Areca catechu L.*) dengan fermentasi *Acetobacter-Saccharomyces* sebagai Antiseptik Obat Kumur.

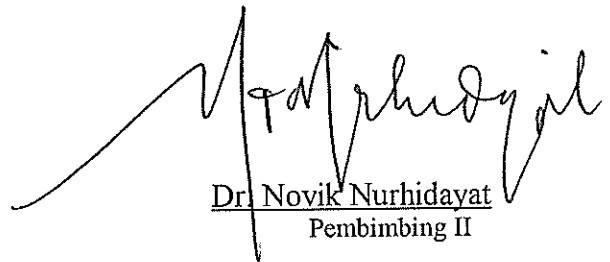
Nama : Merry Anggraeni

NIM : G01497069

Menyetujui,

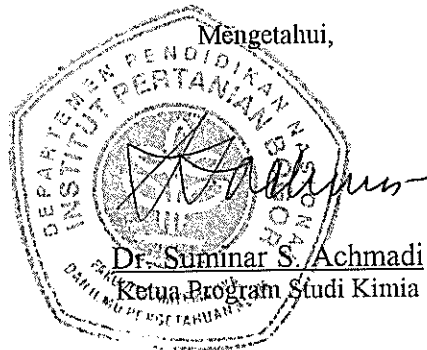


Prof. Dr. H. Norman Razief Azwar
Pembimbing I



Dr. Novik Nurhidayat
Pembimbing II

Mengetahui,



Dr. Suminar S. Achmadi
Ketua Program Studi Kimia

Tanggal Lulus: 22 MAR 2007

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Bandung pada tanggal 5 Maret 1979 sebagai anak bungsu dari kedua bersaudara, anak dari pasangan Firdaus Nazar Yahya, BE dengan May Sumartini.

Tahun 1997 penulis lulus SMU Negeri 16 Bandung dan pada tahun yang sama lulus seleksi masuk IPB melalui Jalur Undangan Masuk IPB di Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.

Selama mengikuti perkuliahan penulis menjadi asisten matakuliah Biokimia pada tahun 1999/2000, serta asisten Kimia Lingkungan pada tahun 2001/2002.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT, sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains. Penelitian yang berjudul Pemanfaatan Ekstrak Selenium Pinang (*Areca cathecu L.*) dengan fermentasi *Acetobacter-Saccharomyces* sebagai Antiseptik Obat Kumur dilaksanakan mulai bulan Maret 2001 sampai Maret 2002 di Laboratorium Mikrobiologi LIPI, Bogor dan Pusdiklat Badan Tenaga Atom Nasional Pasar Jumat, Jakarta.

Terima kasih penulis ucapkan kepada Bapak Dr. Novik Nurhidayat dan Prof. Norman R. Azwar selaku pembimbing yang telah banyak memberikan saran, dorongan dan bantuan selama penelitian dan penyusunan karya ilmiah. Tak lupa kepada "Tim Selenium", Erna, Inge, Inov, Beny, Meita terima kasih atas saran dan bantuannya, serta kepada Mas Hery, Bapak Gino, Ibu Yustina, Ike, Ashar, Dita, Dian, warga Betibels, teman-teman angkatan 34 terima kasih atas dukungannya, dan musik Padi yang telah memberikan semangat selama ini. Ungkapan terima kasih juga disampaikan kepada papa, mama, andung Aisjah Girindra, dan kakakku Melya serta seluruh keluarga atas doa dan kasih sayangnya.

Semoga karya ilmiah ini dapat bermanfaat.

Bogor, Maret 2002

Merry Anggraeni

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
PENDAHULUAN	
Latar Belakang	1
Tujuan	1
Manfaat	1
Hipotesis.....	2
TINJAUAN PUSTAKA	
Tanaman <i>Areca catechu linn</i>	2
Perkembangan Penelitian dan Khasiat Pinang.....	2
Fungsi Selenium	2
Fermentasi	3
Analisis Aktivasi Neutron	4
BAHAN DAN METODE	
Bahan dan Alat.....	5
Metode Penelitian	5
Persiapan Contoh.....	5
Bioekstraksi Pinang	5
Pemurnian <i>Streptococcus mutans</i>	5
Pembuatan Media <i>Streptococcal Selective Broth</i>	6
Uji Aktivitas Antibakteri.....	6
Analisis Se Dengan AAN.....	6
HASIL DAN PEMBAHASAN	
Bioekstraksi	6
Pengujian Daya Hambat Se Terhadap <i>S. mutans</i>	9
Perbandingan Daya Hambat Ekstrak Dengan Antiseptik Obat Kumur Lain.....	9
KESIMPULAN DAN SARAN	
Kesimpulan.....	10
Saran	10
DAFTAR PUSTAKA	10
LAMPIRAN	12

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Konsentrasi Se ekstrak pinang.....	7
2. Diameter hambatan ekstrak contoh terhadap <i>S. mutans</i>	9
3. Perbandingan diameter zona hambatan ekstrak terhadap obat kumur lainnya.....	9

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Hubungan konsentrasi Se dengan waktu fermentasi dalam contoh daun pinang (2,2 g/l)	7
2. Hubungan konsentrasi Se dengan waktu fermentasi dalam contoh daun pinang (4,4 g/l)	7
3. Hubungan konsentrasi Se dengan waktu fermentasi dalam contoh daun pinang (8,8 g/l)	7
4. Hubungan konsentrasi Se dengan waktu fermentasi dalam contoh buah pinang (2,2 g/l)	8
5. Hubungan konsentrasi Se dengan waktu fermentasi dalam contoh buah pinang (4,4 g/l)	8
6. Hubungan konsentrasi Se dengan waktu fermentasi dalam contoh buah pinang (8,8 g/l)	8
7. Hubungan konsentrasi Se dengan waktu fermentasi dalam contoh akar pinang (2,2 g/l)	8
8. Hubungan konsentrasi Se dengan waktu fermentasi dalam contoh akar pinang (4,4 g/l)	8
9. Hubungan konsentrasi Se dengan waktu fermentasi dalam contoh akar pinang (8,8 g/l)	8

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Diagram alir penelitian	13
2. Konsentrasi Se pada beberapa jenis buah dan sayuran hasil ekstraksi kimia di Granada, Spanyol.....	14
3. Kurva kalibrasi spektroskopi gamma.....	15
4. Hasil pengukuran Se contoh dan standar dengan spektroskopi gamma.....	16
5. Kurva cacahan standar	16
6. Hasil analisis Se dengan metode AAN	17
7. Diameter hambatan Se hasil bioekstraksi (cm) pinang terhadap <i>S. mutans</i>	18
8. Komposisi Tiga Jenis Obat Kumur.....	20
9. Gabungan <i>Acetobacter</i> dan <i>Saccharomyces</i> koloni kombucha	21

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Sumber alam hayati terutama tumbuhan di Indonesia sangat melimpah dan beraneka ragam. Keanekaragaman hayati ini merupakan sumber senyawa metabolit sekunder yang dapat dimanfaatkan sebagai obat. Obat tradisional telah berabad-abad lamanya dipergunakan secara luas oleh masyarakat. Tumbuhan obat adalah tumbuhan yang sebagian atau seluruh bagian tanamannya digunakan sebagai obat, bahan atau ramuan obat-obatan (Heyne, 1987).

Jumlah tumbuhan obat di Indonesia berkisar antara ratusan sampai dengan ribuan. Penelitian obat banyak seginya, antara lain penelitian budidayanya, aktivitas kimia dan biologisnya untuk mengetahui kandungan senyawa serta memperkirakan khasiat dari tanaman tersebut. Perkembangan penelitian kimia dan aktivitas biologisnya terhadap tanaman obat ini meningkat pesat dalam 20 tahun terakhir. Penelitian ini meliputi cara ekstraksi, isolasi, dan identifikasi komponen utama khasiat tanaman obat tersebut, salah satunya adalah senyawa berbasis selenium yang berfungsi untuk peningkatan kesuburan reproduksi, tonik, dan antioksidan.

Selenium adalah objek yang banyak dipelajari karena mempunyai dua sifat yaitu sebagai elemen toksik, meskipun demikian selenium juga merupakan mikro elemen yang esensial bagi manusia.

Peranan hayati dari selenium baik pada manusia ataupun hewan awalnya hanya dipertimbangkan dari segi toksitasnya saja, yang akan tampak ketika jumlah asupan elemen selenium lebih tinggi daripada kapasitasnya dalam organisme tubuh yang semakin berkurang. Keracunan yang akut akan mempengaruhi sistem saraf pusat, dan keracunan yang kronis akan mengakibatkan kecacatan pada manusia (Albert, 1988 *di dalam* Diaz *et al*, 1994).

Selenium mempunyai peranan biologis dalam tubuh yaitu sebagai antikanker atau antioksidan, penentu penting dalam pertumbuhan, mengontrol metabolisme hormon tiroid, dan metabolisme testosteron (Rayman, 1997). Asupan bahan makanan yang banyak mengandung selenium terdapat pada bahan makanan sehari-hari yang sangat beragam. Makanan tersebut mempunyai

populasi yang besar di dunia (Bunker *et al.*, 1988; Lavender, 1991 *di dalam* Diaz *et al*, 1994).

Jumlah selenium pada suatu jenis makanan dari tumbuhan berhubungan dengan kadar selenium dalam tanah, dimana tanaman tersebut tumbuh. Bagaimanapun pada areal pertanian, ketersediaan selenium yang terdapat pada tanah itu sedikit, seperti dapat dilihat dari hasil penanaman yang hanya menyerap sedikit sekali elemen tersebut. Sayuran dan buah-buahan yang tumbuh pada tanah yang dimuat selenat, mampu mengakumulasi selenium.

Diketahuinya sejumlah bahan makanan yang mengandung selenium akan dapat mempermudah diperoleh ketersediaan Selenium secara biologis daripada menggunakan bahan kimia murninya. Ketersediannya secara biologis pada tumbuhan yang mempunyai nilai kesehatan cukup tinggi yang dapat dimanfaatkan oleh manusia sebagai tumbuhan obat. Beberapa contoh tanaman obat yang mengandung selenium yaitu pinang, biji salak, kopi, teh, dan daun coklat. Pinang telah banyak digunakan sebagai obat tradisional dalam untuk mengobati luka, membersihkan gigi dan gusi. Tanaman pinang banyak tumbuh pada daerah tropis seperti Indonesia, dan Filipina.

Dalam bidang kesehatan mulut, masalah yang paling sering dihadapi adalah adanya karies atau plak gigi yang terdiri atas kumpulan bakteri yang berkembang biak dan melekat erat pada permukaan gigi. Plak gigi akan dapat dihambat pertumbuhannya dengan cara menghilangkan atau mengurangi bakteri dalam mulut (Muthalib dan Mangunjaja, 1975 *di dalam* Kadir, 1991). Salah satu caranya yaitu berkumur dengan obat kumur yang mengandung antiseptik. Usaha menemukan obat kumur yang relatif murah dan berkhasiat baik akan sangat menunjang kesehatan masyarakat, contohnya pinang yang dikembangkan menjadi formula obat kumur antiseptik.

Tujuan

Penelitian ini bertujuan mengetahui pemanfaatan ekstrak selenium pada pinang (*Areca catechu* Linn) dengan fermentasi *Acetobacter-Saccharomyces* sebagai antiseptik mulut.

Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan pengetahuan kita tentang obat tradisional untuk meningkatkan kualitas obat tersebut

Hipotesis

Pada penelitian ini di duga bahwa di dalam pinang terdapat sejumlah komponen utama senyawa berbasis selenium sebagai antibakteri, hal tersebut dibuktikan dengan peranannya sebagai obat tradisional yang telah dimanfaatkan oleh masyarakat luas. Komponen selenium ini dapat dihasilkan melalui bioekstraksi dengan menggunakan fermentasi *Acetobacter-Saccharomyces*.

TINJAUAN PUSTAKA

Tanaman *Areca catechu* Linn

Areca terdiri sekitar 60 jenis, yang tersebar mulai dari India, Sri Lanka, China bagian selatan, Burma, Thailand, Malaysia, Vietnam, Laos, Kamboja, Indonesia, Papua Nugini, Filipina, dan kepulauan Solomon (kepulauan di Samudera Pasifik). Keanekaragaman jenis tertinggi adalah di Kalimantan. Tanaman tersebut di alam, biasanya tumbuh di hutan hujan tropik yang rapat, pada daerah lembab. Nama umum *A. catechu* Linn adalah *betel nut palm* (internasional), pinang sirih (Indonesia), Jambe (Jawa).

Spesies yang diteliti adalah *A. catechu* dengan klasifikasinya diuraikan sebagai berikut:

divisi	: Spermaphyta
subdivisi	: Angiospermae
klas	: Monocotyl
marga	: <i>Areca</i>
famili	: Palmae
genus	: <i>Areca Linnaeus</i>
spesies	: <i>Areca catechu Linn</i>

Ciri-ciri umum marga *Areca* adalah sebagai berikut: tumbuh tunggal atau berumpun. Batang: ramping dan bercincin dengan, tinggi sampai 10 m, terdapat tajuk pelepah panjang berwarna hijau sampai kuning. Daun: pelepah daun panjang atau pendek, helaian daun memanjang tersusun teratur, bagian ujung biasanya bergerigi. Perbungaan: tumbuh pada ruas batang dibawah pelepah. Bunga: betina terletak di pangkal perbungaan, bunga jantan diujung, berbau harum. Buah: terletak di bagian pangkal tangkai perbungaan, bentuk bulat lonjong (Witono, 1998).

Perkembangan Penelitian dan Khasiat Pinang

Perkembangan penelitian mengenai buah pinang mengarah kepada pemanfaatannya dalam bidang medis terutama sebagai tanaman obat. Analisis buah pinang di Filipina dilaporkan bahwa di dalam buah pinang mengandung senyawa bioaktif yaitu flavonoid diantaranya tanin yang terdapat pada biji pinang. Di Filipina, buah pinang juga umumnya berkenaan dengan obat penguat tetapi bila berlebihan akan membahayakan.

Penggunaan pinang baik di Indonesia, Malaysia, dan Filipina sangat luas, diantaranya dapat dimanfaatkan secara keseluruhan, yaitu akar pinangnya kadang-kadang digunakan untuk ramuan obat disentri, kecuali akar pinang hitam yang akan mengakibatkan pusing kepala apabila dimakan orang, yang dikemukakan Garcia da Orta pada awal tahun 1563 di Malaka, seperti dilaporkan oleh Nadkarni. Pelepah daunnya yang disebut "upih" (bahasa Sunda) digunakan untuk pembungkus makanan, sampul buku, dan campuran untuk memperkuat topi dan sandal, juga dapat dijadikan bahan kertas. Sabut pinang dapat dipakai untuk membersihkan gigi, sedangkan biji pinangnya bila diiris kecil dapat dimakan bersamaan dengan daun sirih yang dikapuri atau kayu manis akan menguatkan dan membersihkan gusi, gigi. Air rebusan biji pinang bila dibiarkan didalam mulut dapat menguatkan gigi. Biji pinang yang digiling halus dan minyak biji pinang dapat dijadikan salep untuk menyembuhkan kudis. Biji pinang yang digiling halus kemudian dicampur air dapat diminum untuk mengeluarkan cacing pita didalam tubuh manusia (Quisumbing, 1951).

Fungsi Selenium

Ketersediaan Se dalam tanaman erat kaitannya dengan ketersediaan unsur tersebut dalam tanah. Secara umum, ketersediaan unsur mineral (M) dalam tanaman mula-mula berasal dari konsentrasi unsur dalam tanah, yaitu dalam bentuk padat berikatan dengan senyawa-senyawa organik (M-padat), kemudian dari tahapan padat, terdapat dalam sejumlah kecil dalam bentuk larutan (M-terlarut), dalam bentuk inilah yang diserap oleh akar tanaman untuk kemudian dialirkan kedalam seluruh jaringan tanaman (Soepardi., 1983 di dalam Dilaga, 1992). Para pakar seperti yang ditulis oleh Church (1971), Stadman (1979), Ammerman *et al* (1978), dan Liener (1980) membagi tiga jenis tanaman berdasarkan kadar Se yang dikandung yaitu seperti genus *Astragalus*

racemosus, *A. bisulcatus*, *A. pectinatus*, *Machaeranthera*, *Oenopsis Stanelya* dan *Xylorhiza* yang mengandung kadar Se sampai 10,000 ppm, kelompok kedua adalah tanaman yang mengandung ratusan ppm Se dan kelompok ketiga adalah tanaman yang mengandung lebih kecil dari 30 ppm.

Menurut analisis Beans pinang mengandung sejumlah flavonoid yaitu tanin yang terlokasi pada biji, serta dengan menggunakan tabel konsumsi makanan masyarakat di Perancis, mereka telah mengukur jumlah asupan sehari-hari yang mengandung Se dari sayuran dan buah-buahan (Diaz *et al.*, 1994). Di dalam tanaman mengandung unsur makro dan mikro. Selenium ini mempunyai peranan penting dalam metabolisme tubuh, diantaranya Se itu sebagai kofaktor pada enzim glutathion peroksidase yang mengkatalisis pengambilan H_2O_2 yang bersifat toksik, berperan dalam pertumbuhan anak, antikanker (Nomura, 1988; Thompson dan Ronan, 1990 di dalam Diaz *et al.*, 1994). Selain itu berperan mengontrol metabolisme hormon tiroid yaitu triiodotreonin deiodonase dapat mengkonversi tetraiodotreonin (T4) menjadi bentuk aktifnya triiodotreonin (T3), daya kebal tubuh dan metabolisme testosteron (Rayman, 1997).

Suatu langkah besar dari ilmu pengetahuan fisiologi yang penting sejak ditemukannya Se sebagai nutrisi yang esensial. Reproduksi wanita setelah melahirkan keturunannya, sebagian mudah terserang penyakit karena kekurangan asupan makanan yang mengandung Se. Menurut Dewan Peneliti Nasional pada tahun 1989 menyatakan bahwa jumlah rata-rata asupan makanan yang mengandung Se berkisar antara 50-200 μ g yaitu untuk laki-laki dewasa 70 μ g/hari dan untuk wanita dewasa 50 μ g/hari (Lavander, 1991).

www Fermentasi

Fermentasi adalah suatu proses degradasi anaerobik dari molekul glukosa atau zat organik lain yang menghasilkan produk. Proses fermentasi ini melibatkan mikroba yaitu *Acetobacter xylinum* dan *Saccharomyces cereviceae*, untuk menjaga pertumbuhan dan fungsi normalnya kedua mikroba memerlukan sejumlah nutrisi sebagai sumber energinya agar dapat menjalani proses tersebut yaitu karbon, nitrogen, sulfur, fosfor, kalsium, mangan, besi dan vitamin.

Melalui fermentasi, khamir memecah gula menjadi glukosa dan fruktosa. Glukosa digunakan

oleh khamir untuk menghasilkan etanol dan CO_2 . Menurut Fraizer (1977), enzim yang dihasilkan oleh khamir adalah enzim invertase yang berfungsi memecah sukrosa menjadi monosakarida (glukosa dan fruktosa), dan enzim zimase yang mengubah monosakarida menjadi etanol pada proses fermentasi.

Selama proses fermentasi dengan sistem kombucha berlangsung akan terbentuk nata atau pelikel selulosa. Faktor penentu pertumbuhan pelikel selulosa adalah pH. Pelikel selulosa yang terbentuk pada permukaan medium cair setelah 24 jam, bilamana menggunakan *Acetobacter xylinum* pada kultivasi diam dengan suhu 30°C. Menurut Hestrin dan Schramm (1954) satu hari setelah inokulasi dan sebelum pembentukan pelikel di permukaan medium akan timbul kekeruhan pada cairan kultivasi. Terbentuknya lapisan selulosik di permukaan yang disebut pelikel dapat dilihat di permukaan medium setelah dua hari pada kondisi kultivasi diam, bersamaan dengan terjadinya proses penjernihan cairan di bawahnya.

Kombucha adalah minuman tradisional hasil fermentasi teh, yang akhir-akhir ini populer di Amerika Serikat. Kombucha berasal dari China, Rusia, Jerman, minuman tradisional ini mempunyai nilai kesehatan yang tinggi bagi tubuh. Berdasarkan beberapa media cetak di Amerika Serikat dengan mengkonsumsi kombucha dapat mengurangi tekanan darah, mengobati kanker, bersifat anti mikroba dan menambah respon kekebalan tubuh. Kombucha teh dapat dibuat dengan memasukkan daun teh ke dalam air dan ditambah gula sekitar 100 g/L (10%) kemudian dididihkan. Setelah suhu air teh sama dengan suhu ruangan, koloni kombucha dimasukkan dan teh diinkubasi sekitar 7-10 hari pada suhu ruang. Setelah koloni mengalami fermentasi, kombucha teh siap dikonsumsi.

Mayser *et al.* (1995) mengemukakan meskipun kombucha menggunakan mikroorganisme, resiko kombucha terkontaminasi oleh mikroorganisme yang berbahaya dan bersifat patogen terhadap kesehatan dapat diabaikan. Oleh karena itu kombucha teh aman untuk dikonsumsi.

Tanaman yang dapat digunakan dalam sistem kombucha adalah tanaman yang mempunyai khasiat obat misalnya teh, daun coklat, biji pinang, dan biji salak.

Minuman hasil fermentasi dengan sistem kombucha ini mengandung asam asetat, kobalamin, sianokobalamin (vitamin B12), enzim, asam folat, asam glukonat dari glukosa, asam glukuronat, dan asam karbonat. Minuman teh

kombucha murip sari buah apel, dengan memiliki rasa sedikit manis dan asam, tingkat keasamannya akan bertambah sekitar 33 g/l total asam. Fermentasi dilakukan pada suhu dingin dan dalam 24 jam bakteri serta khamir dapat tumbuh, jika fermentasi dilanjutkan dalam jangka waktu yang cukup lama, maka tingkat keasamannya akan semakin meningkat dalam jumlah yang cukup tinggi. bilamana dikonsumsi minuman tersebut mempunyai resiko yang berpotensi terhadap kesehatan tubuh.

Koloni kombucha berupa lapisan tipis selulosa yang mengapung di bagian atas cairan. Koloni kombucha terdiri dari bakteri dan khamir yang bersimbiosis. Menurut laporan Hesselline bahwa *Acetobacter xylinum* adalah bakteri utama yang tumbuh pada koloni tersebut. Roussin menetapkan mikroorganisme yang terdapat di dalam kombucha di Amerika Utara adalah *Acetobacter xylinum*, *Zygosaccharomyces*, dan *Saccharomyces ceriviceae*. Mikroorganisme yang digunakan yaitu:

a. *Acetobacter xylinum*

Fardiaz (1989) mengemukakan bahwa bakteri dari genus *Acetobacter* bersifat motil (polar), dan non motil. Menurut Williams dan Cannon (1989) *Acetobacter xylinum* termasuk kelompok bakteri gram negatif, bakteri basili dan aerobik yang memisahkan serat-serat selulosa sebagai bagian dari aktifitas. Metabolisme normal *Acetobacter xylinum* dikultivasi secara diam pada medium cair, pelikel selulosa akan terbentuk dan sel-sel bakteri terperangkap didalamnya (Octarina, 1996). Pelikel atau nata yang terbentuk memiliki ketebalan sampai lima sentimeter dalam satu bulan dan kekuatan tarik yang berbeda-beda.

Metode untuk mengisolasi *Acetobacter* tidak sulit yaitu dengan menumbuhkannya pada media yang di tambah gula dan diperkaya dengan sari buah dan ekstrak khamir.

b. *Saccharomyces sp*

Khamir adalah mikroorganisme bersel tunggal dengan terbentuk oval tidak beraturan dan berukuran antara 5-20 mikron (Paturau, 1982). Khamir itu bersifat fakultatif artinya dapat hidup dalam keadaan anaerobik dan aerobik. Bentuk khamir berbagai macam seperti bentuk bola, telur, silinder, lengkung, segitiga, botol dan apikulat. Khamir tak bergerak, karena itu tidak mempunyai struktur tambahan di bagian luar seperti flagela. Khamir dapat tumbuh dalam media cair dan padat. Pembelahan selnya terjadi secara aseksual dengan pembentukan tunas

Streptococcus mutans

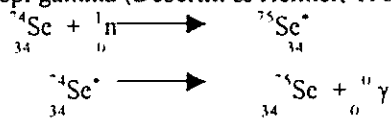
Dalam mulut, beragam bakteri dapat membentuk koloni diantaranya pada bagian permukaan dan bagian dalam beberapa tempat, seperti gigi, lidah, saliva, dan radang gusi. Pada permukaan gigi bakteri berkumpul dalam jumlah yang besar, karang gigi mengandung lebih dari 10^{11} bakteri/gram bobot basah, sedangkan dalam saliva hanya ada 108 bakteri/ml (yang telah dibersihkan permukaan oralnya). Perbedaan tipe organisme ditemukan di berbagai macam tempat, tergantung pada selektifan penempelannya pada permukaan mulut yang berbeda. Banyak macam bakteri yang dapat diisolasi dari plak gigi, diantaranya *Streptococcus sanguis* dan *Streptococcus mutans* (Boedi, 1996).

Suatu produk fermentasi mempunyai aktivitas sebagai antibakteri. Aktivitasnya diujikan, diantaranya terhadap bakteri yang ada dalam sistem pencernaan dan di mulut (*Streptococcus mutans*). Bakteri mulut tersebut mempunyai ukuran $0,5-1,0 \times 2,0-5,0 \mu\text{m}$, berbentuk bola terdapat tunggal, atau berpasangan dalam rantai dan bergerombol, dengan diameter berkisar $0,75-1,25 \mu\text{m}$, termasuk gram positif dan anaerobik fakultatif.

Analisis Aktivasi Neutron

Aktivasi neutron merupakan salah satu metode analisis unsur yang mencakup kuantitatif dan kualitatif dari suatu contoh.

Teknik yang digunakan pada metode tersebut yaitu membuat unsur baru yang bersifat tidak radioaktif menjadi bersifat radioaktif dan disertai pemancaran sinar gamma setelah ditembak neutron (iradiasi). Penembakan neutron pada suatu unsur terjadi di dalam reaktor. Unsur tersebut mengalami penambahan nomor massa satu, sedangkan nomor atomnya tetap. Hasil iradiasi dari suatu unsur menghasilkan pancaran sinar gamma yang dimanfaatkan untuk mengukur konsentrasi tertentu dari suatu contoh dengan menggunakan spektroskopi gamma (Debertin & Helmer, 1988).



${}^{74}\text{Se}$ memiliki waktu paruh relatif cukup panjang. Unsur yang telah diiradiasi menghasilkan pancaran sinar gamma yang dapat dianalisis spektrometer gamma yang dilengkapi detektor

berupa HPGe, detektor tersebut dihubungkan dengan nitrogen cair yang berfungsi sebagai pendingin detektor. Interaksi antara sinar gamma dengan detektor HPGe akan menghasilkan sinar pulsa.

Pulsa yang dihasilkan detektor akan diperkuat dan dibentuk dalam penguat awal (preamplifier). Setelah itu diperkuat kembali dalam penguat (amplifier). Selanjutnya pulsa yang telah terbentuk diperkuat dan akan dipisahkan menurut tinggi pulsanya, dan jumlah pulsa tiap kelompok oleh suatu analisator saluran ganda (MCA).

MCA tersebut dapat menganalisis lebih dari satu unsur secara bersamaan, hal tersebut merupakan salah satu keunggulan dari spektroskopi gamma selain memiliki kepekaan yang cukup tinggi.

MCA adalah alat yang merubah sinyal amplifier analog yang datang menjadi kelompok pulsa bentuk standar. Sehingga informasi tinggi sinyal akan dikonversi menjadi informasi digital dalam bentuk jumlah pulsa.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Alat yang digunakan adalah pipet Mohr, pipet volumetrik, pH meter, kain kasa, toples, neraca analitik, ruang laminar, autoklaf, peralatan gelas vial, gelas piala, pemanas bunsen, pemanas lampu, reaktor siwabesi, serpong dan seperangkat spektroskopi sinar γ .

Bahan yang digunakan adalah daun, batang dan biji pinang, air destilata, gula, koloni kombucha, asam asetat.

Metode Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini dibagi menjadi empat tahapan. Tahap pertama ialah pengembangbiakan koloni kombucha berupa mikroba campuran *Acetobacter-Saccharomyces*. Tahap kedua fermentasi ekstrak contoh, pada tahapan tersebut terdapat pengambilan contoh dengan interval waktu tiga hari selama 21 hari. Tahap ketiga adalah uji aktivitas bakteri terhadap ekstrak contoh hasil fermentasi. Dan tahap keempat pengukuran konsentrasi Se dari setiap hasil fermentasi dengan metode analisis aktivasi neutron.

Persiapan Contoh

Buah pinang masak yang berwarna kuning dikupas, kemudian biji pinang, batang, dan daun, dicuci dengan aquades destilata, setelah itu dikeringkan di oven.

Bioekstraksi Pinang

Contoh yang terdiri dari akar, batang dan buah pinang masing-masing ditimbang sebanyak 2,2 gram, 4,4 gram dan 8,8 gram, kemudian ditambahkan gula pasir 100 gram. Contoh kemudian ditempatkan dalam sebuah pemanas yang sebelumnya telah ditambahkan 1000 mL air destilata. Lalu dipanaskan pada temperatur 100°C dan setelah mendidih dibiarkan selama 10 menit. Contoh setelah ditutup dengan kain dan plastik disterilisasi dengan autoclave selama 15 menit pada suhu 121°C. Kemudian contoh didiamkan sampai suhunya mencapai 40°-60°C, lalu toples yang berisi contoh tersebut ditambahkan koloni kombucha yang selanjutnya akan inkubasi selama 21 hari.

Pemurnian *Streptococcus mutans*

Bakteri *Streptococcus mutans* didapat dari karies gigi manusia, dengan ose bakteri tersebut dioleskan pada media Luria Bertani padat. Kemudian dimasukkan ke dalam inkubator pada suhu 37°C dengan masa inkubasi 3 hari. Mikroba yang telah diinkubasi selama 3 hari lalu diperiksa di bawah mikroskop hingga ditemukannya bakteri yang sesuai dengan karakterisasi *S. mutans*. Pembuatan stok *S. mutans* yang akan digunakan untuk uji aktivitas antibakteri terhadap ekstrak contoh, yaitu dengan cara pemindahan bakteri yang telah murni dari media padat ke media cair. Kemudian media cair tersebut diinkubasi pada inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya diperiksa biakan bakteri tersebut di bawah mikroskop untuk meyakinkan biakan *S. mutans* ini benar-benar murni. Isolat bakteri yang telah murni siap untuk diuji aktivitasnya.

Pembuatan Media *Streptococcal Selective Broth*

Sebanyak 1,50 g bacto agar, dan 3,00 g *Streptococcal Selective Media* (Pronadisa) ditimbang setelah itu ditempatkan dalam erlenmeyer dan ditambahkan 100 ml aquades, lalu di oven selama 10 menit pada temperatur 150°C dan di sterilisasi dengan autoklaf selama 15 menit

pada temperatur 121°C, media hasil sterilisasi didinginkan sesuai suhu kamar, kemudian di tempatkan di cawan petri atau tabung reaksi.

Uji Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri ditentukan dengan cara menambahkan ekstrak contoh yang mengandung Se pada cakram berupa kertas saring berdiameter 0.60 cm dengan konsentrasi yang bervariasi dari 2,2 g/l ; 4,4 g/l ; 8,8 g/l kedalam media selektif yang sebelumnya telah diolesi isolat bakteri uji yaitu *Streptococcus mutans*. Selanjutnya media tersebut diinkubasi di dalam inkubator bertemperatur 37°C. Pengamatan aktivitas antibakteri dilakukan dengan bersuhu 37°C. Pengamatan aktivitas antibakteri dilakukan dengan interval waktu 24 jam sampai dengan 48 jam berupa zona bening disekeliling cakram.

Aktivitas antibakteri dibandingkan dengan standar SeO₂ dengan konsentrasi bervariasi dan obat kumur lainnya yang telah umum dipakai masyarakat.

Penentuan diameter zona hambat diperoleh dengan perhitungan sebagai berikut:

$$A = B - C$$

Keterangan

A = Diameter zona hambat terkoreksi

B = Diameter zona hambat oleh ekstrak contoh

C = Diameter zona hambat kontrol

Analisis Se dengan AAN

Contoh yang telah diinkubasi selama 21 hari dengan interval waktu pengambilan contoh tiga hari dipipet sebanyak 10 ml. Contoh yang akan dianalisis ditempatkan dalam vial yang telah direndam HNO₃ 1 M selama satu jam, setelah itu vial tersebut dibilas dengan aquabides sebanyak tiga kali dan dikeringkan dengan aseton diudara terbuka.

Vial yang telah kering diisi larutan contoh sejumlah 1 ml, kemudian dikeringkan dibawah lampu bersuhu ± 40°C sampai larutan contoh tersebut pekat. Setelah pekat ditambahkan lagi larutan contoh hingga volume totalnya 5 ml.

Larutan standar Se dengan konsentrasi 1 ppm sebanyak 0,5 ml yang akan dianalisis dikeringkan juga bersamaan dengan larutan contoh yang diberi perlakuan sama seperti contoh berikutnya.

Contoh dan standar yang telah kering ditutup oleh vialnya, kemudian dibungkus aluminium foil

Contoh tersebut akan diiradiasi dengan penembakan Neutron.

Penentuan konsentrasi Se dapat diperoleh dengan perhitungan sebagai berikut

$$WC = \frac{CpsC}{SpsS} \times WS$$

Keterangan

WC = Konsentrasi contoh

WS = Konsentrasi standar

CpsC = Luas cacahan contoh

SpsS = Luas cacahan standar

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan diperoleh data mengenai kandungan Se yang terdapat dalam contoh pinang yang terdiri dari daun, buah dan akarnya yang diekstrak secara bioekstraksi; Uji aktivitas antibakteri terhadap contoh serta uji aktivitas terhadap obat kumur lain

Bioekstraksi

Berdasarkan hasil penelitian yang didapatkan nilai Se yang diperoleh cenderung naik turun. Pengukuran konsentrasi Se hasil analisis dengan AAN dari ekstrak secara bioekstraksi ini dapat dilihat pada Lampiran 6. Dari data tersebut dapat memberikan informasi waktu optimum bioekstraksi yang menghasilkan konsentrasi Se tertinggi.

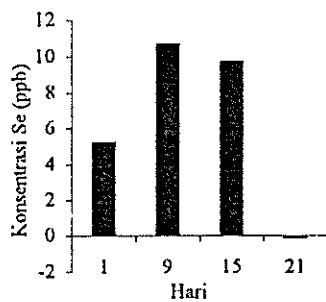
Penaikan konsentrasi Se pada contoh semakin bertambah seiring dengan bertambahnya jumlah konsentrasi ekstrak yang digunakan dalam bioekstraksi, dapat dilihat bahwa pada contoh buah pinang dengan konsentrasi 2,2 g/l diikuti buah dan akar pinang dengan masing-masing konsentrasi 8,8 g/l (Tabel 1).

Tabel 1. Konsentrasi Se ekstrak pinang

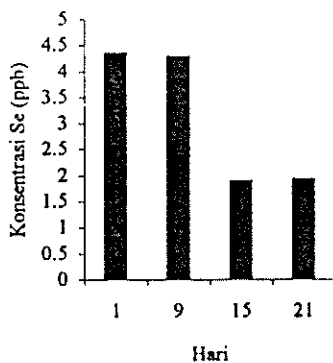
Contoh	Konsentrasi Pinang (g/l)	Konsentrasi Se (ppb)	Hari Ke-
Daun	2,2/100	10,82	9
Buah	2,2/100	3,05	9
Akar	8,8/100	14,03	21

Tabel 1 menunjukkan bahwa penaikan jumlah Se dalam contoh terikat dengan asam-asam amino yaitu sistein dan metionin ini dimulai dari hari ke-1 sampai hari ke-9, dengan bantuan mikrob Se yang terukur akan terekstrak seiring dengan lamanya masa fermentasi

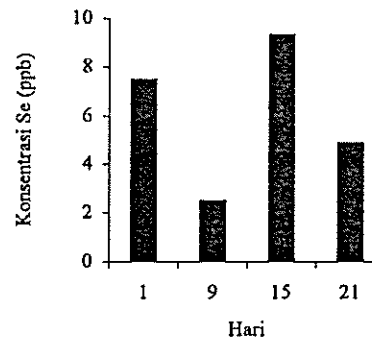
Konsentrasi Se pada masing-masing contoh cenderung meningkat sampai hari ke-21, meskipun mengalami penurunan setelah hari ke-9. Penurunan tersebut diakibatkan oleh karena kadar Se yang telah habis diekstrak oleh mikroba selama masa fermentasi, dan juga dikarenakan mikrobnnya itu sendiri membutuhkan Se dalam metabolismenya sehingga terdapat penurunan kadar Se yang nilainya pun cenderung negatif (Gambar 1-9).



Gambar 1. Hubungan konsentrasi Se dengan waktu fermentasi dalam contoh daun pinang (2,2 g/l).



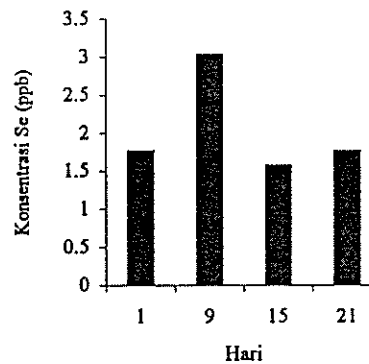
Gambar 2. Hubungan konsentrasi Se dengan waktu fermentasi dalam contoh daun pinang (4,4 g/l).



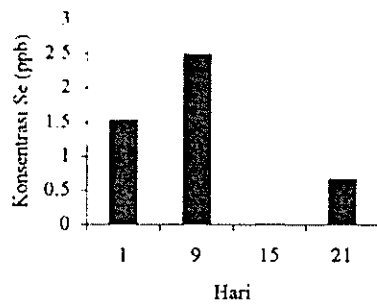
Gambar 3. Hubungan Konsentrasi Se dengan waktu fermentasi dalam contoh daun pinang (8,8 g/l).

Konsentrasi Se terkecil yang dihasilkan hari pertama oleh contoh daun pinang dalam konsentrasi 2,2 g/l. Berdasarkan gambar 3 selenium yang dihasilkan lebih rendah (H-9) dibandingkan dengan contoh daun lainnya, sedangkan hari ke-21 contoh daun pinang 2,2 g/l menghasilkan selenium terkecil.

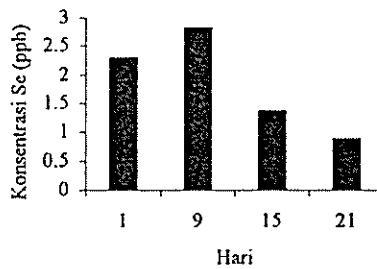
Gambar 1 menunjukkan bahwa konsentrasi se yang dihasilkan ekstrak daun pinang (2,2 g/l) cenderung naik terutama hari ke-9 sebesar 10,82 ppm.



Gambar 4. Hubungan Konsentrasi Se dengan waktu fermentasi dalam contoh buah pinang (2,2 g/l).



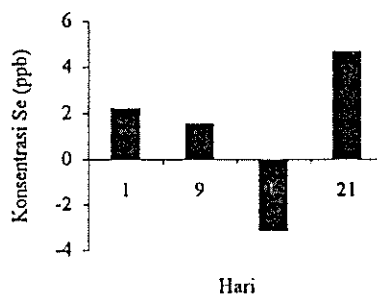
Gambar 5. Hubungan Konsentrasi Se dengan waktu fermentasi dalam contoh buah pinang (4,4 g/l).



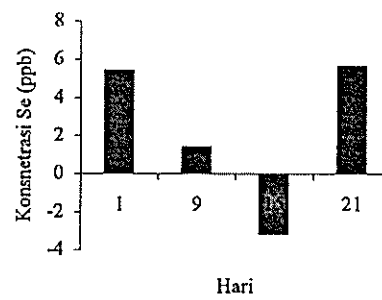
Gambar 6. Hubungan konsentrasi Se dengan waktu fermentasi dalam contoh buah pinang (8,8 g/l).

Konsentrasi Se yang dihasilkan H-1 dan H-9 cenderung meningkat dan pada H-15 mengalami penurunan dengan nilainya nol (Gambar 5).

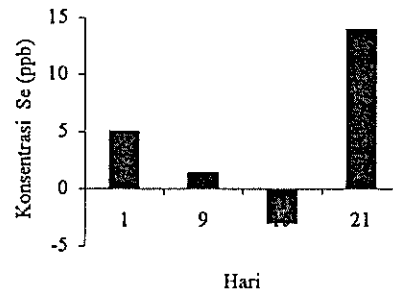
Gambar 4 menunjukkan konsentrasi Se terbesar dihasilkan ekstrak buah pinang (2,2 g/l) dengan lama waktu fermentasi 9 hari sebesar 3,05 ppb.



Gambar 7. Hubungan konsentrasi Se dengan waktu fermentasi dalam contoh akar pinang (2,2 g/l).



Gambar 8. Hubungan konsentrasi Se dengan waktu fermentasi dalam contoh akar pinang (4,4 g/l).



Gambar 9. Hubungan konsentrasi Se dengan waktu fermentasi dalam contoh akar pinang (8,8 g/l).

Konsentrasi Se ekstrak akar pinang (8,8 g/l) ialah 14,03 ppb dengan lamanya waktu fermentasi 21 hari (lihat Gambar 9).

Konsentrasi Se tertinggi didapatkan dari akar kemudian daun, diikuti oleh buah pinang.

Pada tanaman tidak hanya terkandung Se saja, juga terdapat Se yang terikat dengan protein sebagai selenosistein dan selenometionin, oleh karenanya meskipun satu jenis tanaman yang digunakan, tetapi beberapa bagian tanaman tersebut (daun, buah, akar) mengandung sejumlah selenoprotein dan hara lainnya yang berbeda dengan cara dihidrolisis melalui aktivitas enzim mikrobnnya, sehingga dihasilkan kadar Se yang berbeda dan berfluktuasi. Selain itu, hal tersebut dikarenakan bagian tanaman yang berbeda dalam bioekstraksi akan mempengaruhi konsentrasi Se yang dihasilkan. Konsentrasi Se terbesar dihasilkan berturut-turut pada bagian tanaman yaitu daun, batang, dan yang terkecil kecil pada bagian biji, buah, atau umbi (Dilaga, 1997)

Dari data pengukuran konsentrasi Se yang didapatkan bahwa ketiga bagian tanaman tersebut memiliki potensi yang dapat dimanfaatkan sebagai

antiseptik obat kumur yaitu daun, buah, dan akar pinang dengan masing-masing konsentrasi dan waktu fermentasi yang berbeda selama bioekstraksi.

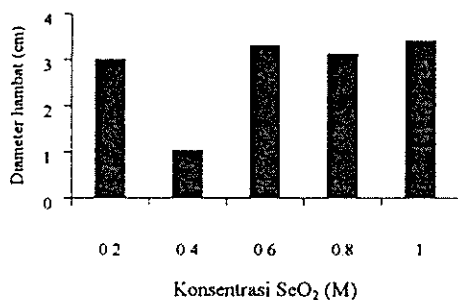
Pengujian Daya Hambat Se Terhadap *S. mutans*

Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak yang mengandung Se hasil bioekstraksi sebelum diujikan terhadap bakteri, terlebih dahulu telah dilakukan uji pendahuluan yaitu SeO_2 sebagai standar, terhadap bakteri tersebut. Hasil pengujian SeO_2 (Gambar 4), ternyata menghasilkan zona bening disekitar cakram yang menunjukkan daya aktivitas lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak pinang, dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans*.



Gambar 4. Hasil pengujian SeO_2 terhadap *S. mutans*.

Besarnya daya hambat terhadap bakteri seiring dengan bertambah besarnya jumlah konsentrasi SeO_2 (Gambar 5).



Gambar 5. Hubungan konsentrasi SeO_2 dengan diameter zona hambat terkoreksi pada 32 jam pengamatan.

Bioekstraksi pinang yang dihasilkan mempunyai aktivitas berupa daya hambat disekeliling cakram. Besarnya diameter zona hambat yang dihasilkan cenderung bertambah seiring dengan tingginya konsentrasi ekstrak serta lamanya waktu fermentasi (Tabel 2).

Tabel 2. Diameter zona hambat terkoreksi ekstrak contoh terhadap *S. mutans*

Contoh	Diameter zona hambat (cm)	Hari ke-
Daun	0,77	1
Buah	0,18	15
Akar	0,36	15

Perbandingan Daya Hambat Ekstrak Dengan Antiseptik Obat Kumur Lain

Dari ketiga ekstrak contoh hasil bioekstraksi yang terdiri dari akar, buah, dan daun pinang tersebut mempunyai aktivitas sebagai daya hambat yang relatif besar dibandingkan dengan obat kumur lainnya dengan komposisi tertentu (lampiran 8). Nilai zona hambat yang dihasilkan dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Perbandingan diameter zona hambat terkoreksi ekstrak terhadap obat kumur lainnya

Contoh	Diameter zona hambat (cm)
Buah	0,18
Daun	0,77
Akar	0,36
Obat kumur 1	0,02
Obat kumur 2	0,01
Obat kumur 3	0,00

Uji perbandingan aktivitas antibakteri antara ekstrak dengan obat kumur lainnya, menunjukkan bahwa obat kumur tersebut kurang menunjukkan adanya aktivitas sebagai antibakteri, yaitu dengan kecilnya nilai diameter zona bening disekitar cakram sebagai daya hambat pertumbuhan bakteri *S. mutans*. Sedangkan ekstrak contoh sebaliknya.

Nilai diameter daya hambat yang dihasilkan cenderung mengalami kenaikan, meskipun terdapat penurunan hingga bernilai negatif (lampiran 7) Nilai tersebut disebabkan nilai diameter kontrol yang lebih besar daripada ekstraknya.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa konsentrasi Se yang didapat secara bioekstraksi cenderung naik dan berfluktuasi. Konsentrasi Se optimum terdapat pada daun pinang hari ke-9, diikuti akar pinang hari ke-21 dan konsentrasi Se terkecil, yaitu buah pinang pada hari ke-9. Lamanya waktu fermentasi dan konsentrasi ekstrak yang digunakan, cenderung akan menambah jumlah selenium yang terekstrak.

Se yang terkandung dalam ekstrak mempunyai potensi cukup besar untuk digunakan sebagai antiseptik obat kumur, hal tersebut dapat dilihat dari kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans* dibandingkan dengan obat kumur lainnya yang telah umum digunakan masyarakat. Contoh tersebut diekstraksi secara hayati dengan diameter hambat terbesar dihasilkan oleh daun (hari ke-1), akar (hari ke-15) dan terakhir buah (hari ke-15). Peningkatan konsentrasi dan lamanya waktu fermentasi seiring dengan bertambahnya diameter zona hambat.

Efektivitas ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans* lebih baik dibandingkan tiga merk obat kumur lainnya yang beredar di masyarakat.

Saran

Diperlukan penelitian lanjutan berupa uji panel dan uji klinis lainnya yang dapat mendukung keunggulan ekstrak pinang sebagai obat kumur, dengan Se yang terkandung sebagai bahan aktifnya, serta perlunya pengukuran Se dengan metode lain seperti AAS sebagai pembanding. Selain itu diperlukan penggunaan media yang lebih selektif dalam uji bio-esai.

DAFTAR PUSTAKA

- Atjung, 1981. *Tanaman Obat dan Minuman Segar*. Penerbit Yayasanana, Jakarta.
- Bocdi, O.R. 1996. *Karakteristik *Streptococcus mutans* Penyebab Kerusakan Gigi*. FKG USAKTI, Jakarta.
- Diaz, J.P., M. Navarro, H. Lopez, Garcia de la Serrana & M.C. Lopez. 1994. Determination of Selenium Levels in Vegetables and fruits by Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 42:2848-2851.
- Debertin, K & R. G. H. Helmer. 1998. *Gamma and X-Ray Spectrometry with Semiconductor Detectors*. North Holland, Amsterdam.
- Dilaga, S.H. 1992. *Nutrisi Mineral pada Ternak*. Akademika Pressindo, Jakarta.
- Greenwalt, C. J., R.A. Ledford & K.H. Steinkraus. 2000. *Determination and Characterization of the Anti-Microbial Activity of the Fermented Tea Kombucha*. Cornell University, New York.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Jilid 3. Yayasan Sarana Waru Jaya, Jakarta.
- Kuromiya, K. *Kombucha Toxicity Alert*. <http://www.cripath.org>.
- Kadir, R.A. 1991. *Ilmu Pergigian Pencegahan*. Dewan Bahasa Dan Pustaka Kementerian Pendidikan Malaysia, Kuala Lumpur.
- Lavender, O. A. 1991. Scientific Rationale for The 1989 Recommended Dietary Allowance for selenium. *J. Am. Diet. Assoc.* 91, 1572-1576.
- Mayser, P., Fromme, S., Lietzmann, C., and K. Gruender. 1995. The Yeast Spectrum of The Tea Fungus Kombucha. *Mycoses*. 38 (7-8), 289-295.
- Octarina Z, R. 1999. Identifikasi isolat acetobacter sp lokal dan uji kemampuannya dalam memproduksi selulosa pada medium HS (Hestrin dan Schramm) dan modifikasinya. Skripsi. FATETA. IPB, Bogor.
- Pelczar, Michael. J & Chan, E.C.S. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. UI Pres, Jakarta.
- Paturau, J.M. 1982. *By Product of The Cure Sugar Industry*. Elsevier, New York.
- Quisumbing, E. 1951. *Medicinal Plants of The Philippines*. Bureau of Printing, Manila.

Rayman, M. P. 8 Februari 1997. [http://www.pharmanord.dk / se_bmjuk.html](http://www.pharmanord.dk/se_bmjuk.html) british researcher.

Underwood, Eric J. 1977. *Trace Elements in Human and Animal Nutrition*. Fourth Edition. Academic Press, New York.

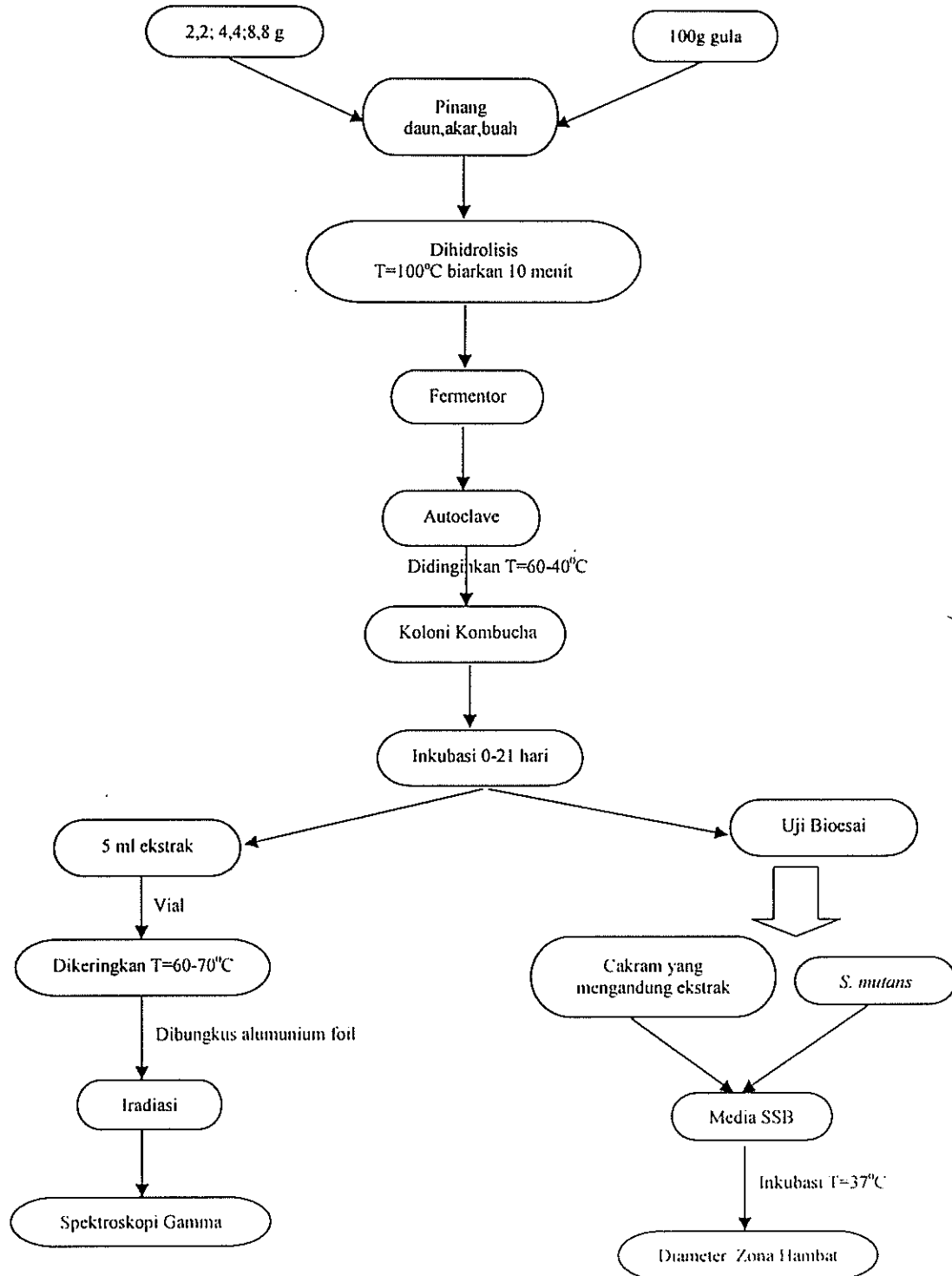
Witono, Joko. R. (penyunting) 1998. *Koleksi Palem Kebun Raya Bogor*. UPT Balai Pengembangan Kebun Raya LIPI, Bogor.

Yoshida, T. 1997. *Biotechnology for Sustainable Utilization of Biological Resources in the Tropics*. V.12. Osaka University, Japan.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram alir penelitian

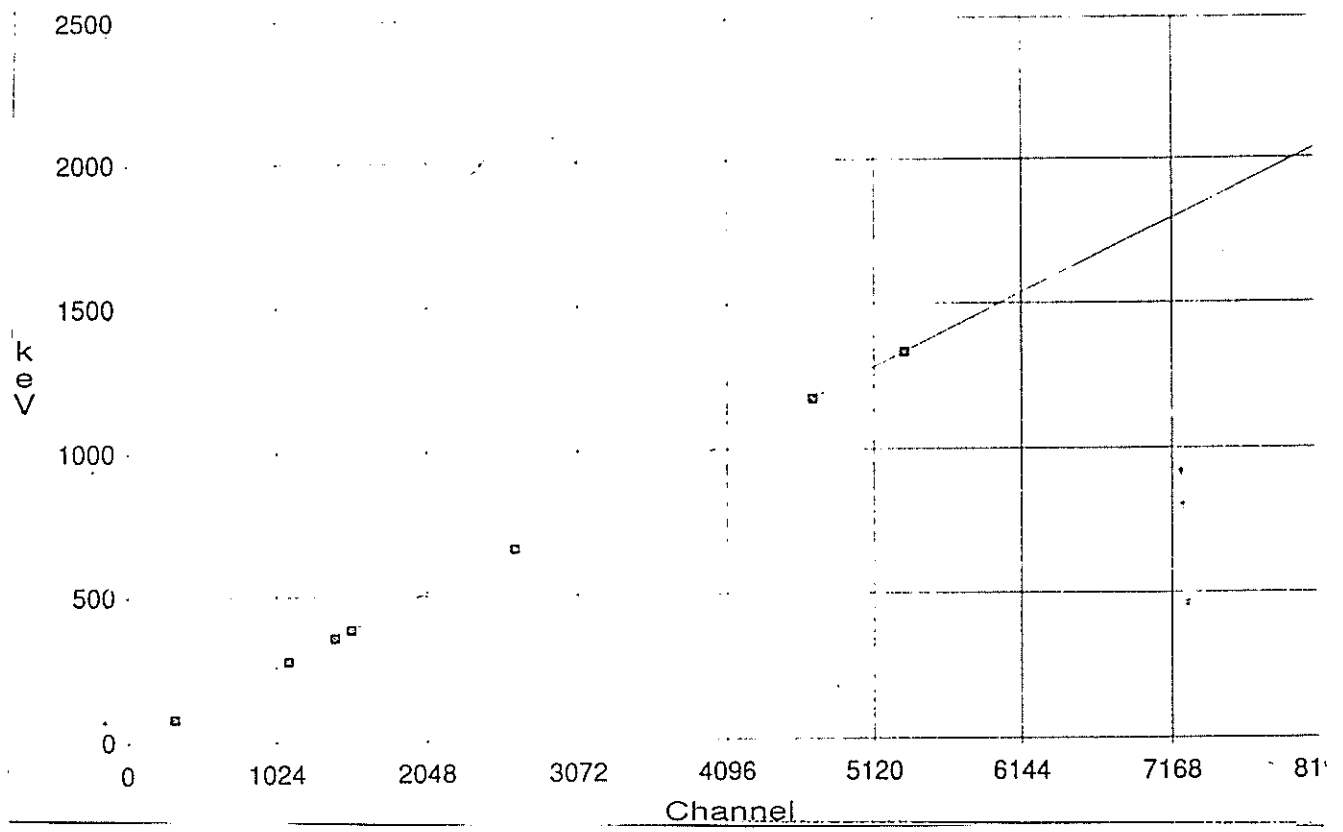
Diagram Alir Penelitian Pemanfaatan Se ekstrak Pinang (*Areca catechu Linn*) Dengan Fermentasi *Acetobacter-Saccharomyces* Sebagai Antiseptik Bakteri Mulut



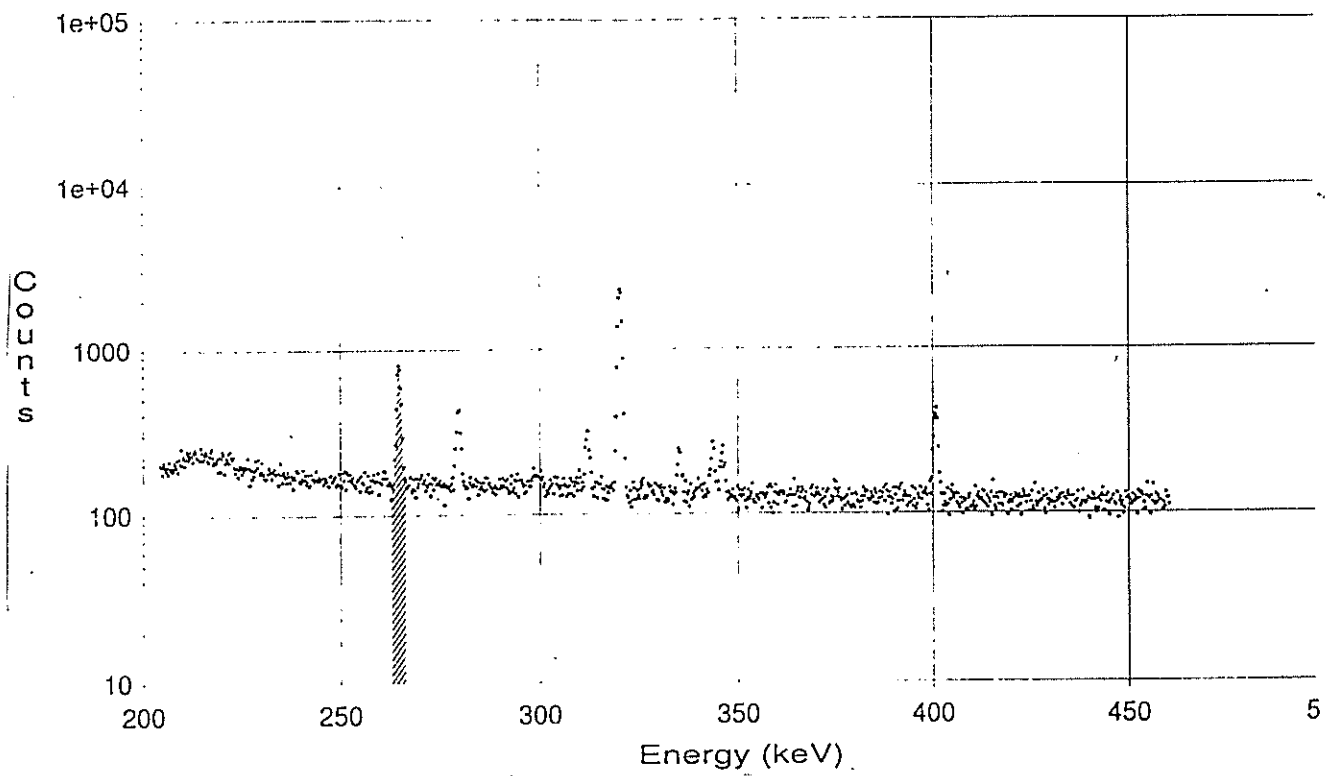
Lampiran 2. Konsentrasi Se pada beberapa buah dan sayuran hasil ekstraksi kimia di Ganada, Spanyol (ng/g)

Sampel	Kisaran Se	Rataan Se
Kentang (<i>Solanum tuberosum</i>)	0,44-7,73	1,30
Buncis hijau (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	0,75-2,99	1,54
Tomat (<i>Lycopersicum sculentum</i>)	0,78-3,66	2,32
Timun (<i>Cucumis sativus</i>)	1,35-1,51	1,43
Merica (<i>Capsicum annum</i>)	1,68-2,57	2,12
Ubi jalar (<i>Ipomea batatas</i>)	10,92-14,40	12,66
Bawang merah (<i>Allium cepa</i>)	3,29-6,56	4,92
Cultivated mushrooms (<i>Psalliota hortinensis</i>)	24,89-34,41	29,65
Cultivated mushrooms (<i>Pleurotus ostreatus</i>)	26,52-29,71	28,11
Apel (<i>Malus communis</i>)	1,39-12,39	6,89
Orange (<i>Citrus aurantium var dulcis</i>)	1,53-2,36	1,94
Lemon (<i>Citrus limonium</i>)	1,11-1,62	1,37
Pisang (<i>Musa paradidiaca</i>)	tak terukur-2,4	1,20
Bawang putih (<i>Allium saivum</i>)	5,75-24,69	13,66
Wortel (<i>Dancus carota</i>)	tak terukur-0,615	0,308

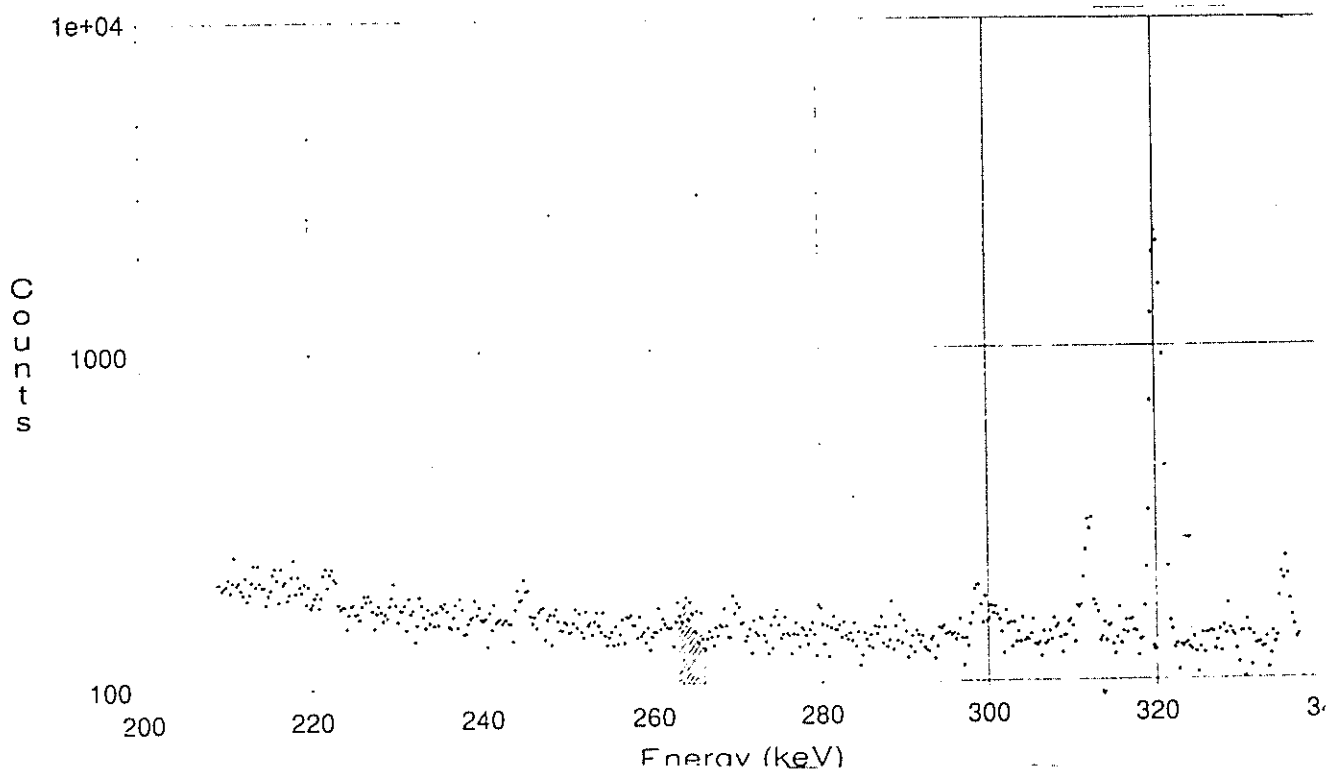
Lampiran 3. Kurva kalibrasi spektroskopi gamma



Lampiran 4. Hasil pengukuran Se contoh dan standar dengan spektroskopi gamma



Gambar 6. Kurva cacahan standar



Gambar 7 Kurva cacahan contoh

Lampiran 5. Hasil analisis Se dengan metode AAN.

Contoh	Konsentrasi contoh (g/l)	Se (ppb)	Masa inkubasi (hari)
Daun	2.2/100	5.4745	1
Buah	2.2/100	1.8209	1
Akar	2.2/100	2.3004	1
Daun	4.4/100	4.5533	1
Buah	4.4/100	1.5739	1
Akar	4.4/100	5.5618	1
Daun	8.8/100	7.7117	1
Buah	8.8/100	2.3498	1
Akar	8.8/100	5.1661	1
Daun	2.2/100	10.9228	9
Buah	2.2/100	3.0570	9
Akar	2.2/100	1.5865	9
Daun	4.4/100	4.4374	9
Buah	4.4/100	2.5199	9
Akar	4.4/100	1.4845	9
Daun	8.8/100	2.6729	9
Buah	8.8/100	2.8501	9
Akar	8.8/100	1.4618	9
Daun	2.2/100	12.7125	15
Buah	2.2/100	2.3011	15
Akar	2.2/100	1.4827	15
Daun	4.4/100	4.8356	15
Buah	4.4/100	0.7168	15
Akar	4.4/100	1.4301	15
Daun	8.8/100	12.9140	15
Buah	8.8/100	2.1124	15
Akar	8.8/100	1.5974	15
Daun	2.2/100	12.2676	21
Buah	2.2/100	3.6804	21
Akar	2.2/100	5.3084	21
Daun	4.4/100	14.4499	21
Buah	4.4/100	2.5804	21
Akar	4.4/100	6.2926	21
Daun	8.8/100	17.3975	21
Buah	8.8/100	2.8005	21
Akar	8.8/100	14.6389	21

Lampiran 7. Diameter hambatan terkoreksi Se hasil bioekstraksi (cm) pinang terhadap *S. mutans*.

Hari ke-	Konsentrasi (g/l)	Diameter zona hambatan (cm)			Contoh
		24 jam	32 jam	48 jam	
1	2,2/100	0,0200	0,0250	0,1000	Daun
	4,4/100	0,1150	0,1800	0,7680	
	8,8/100	0,0000	0,0000	0,0250	
1	2,2/100	-0,0850	-0,0950	0,0250	Buah
	4,4/100	0,0250	0,0800	0,1250	
	8,8/100	0,0200	-0,0750	0,0300	
1	2,2/100	0,0000	0,0100	0,0650	Akar
	4,4/100	0,0000	0,0000	0,0000	
	8,8/100	0,0250	0,0550	0,1400	
3	2,2/100	0,0150	-0,0400	-0,0250	Daun
	4,4/100	0,0700	0,0100	0,0150	
	8,8/100	0,0150	-0,0150	0,0100	
3	2,2/100	0,0050	-0,2860	-0,0500	Buah
	4,4/100	0,0300	-0,2310	-0,0250	
	8,8/100	0,0100	-0,2660	-0,0700	
3	2,2/100	0,0600	0,0200	0,0200	Akar
	4,4/100	0,0650	0,0700	0,0200	
	8,8/100	0,0900	0,0250	0,0350	
6	2,2/100	0,0300	0,1600	0,2500	Daun
	4,4/100	0,0000	0,0850	0,1550	
	8,8/100	0,0000	0,2550	0,3350	
6	2,2/100	0,0200	0,0200	-0,1900	Buah
	4,4/100	0,0100	0,0300	-0,1600	
	8,8/100	0,0450	0,0200	-0,1000	
6	2,2/100	0,0150	0,0400	0,0450	Akar
	4,4/100	0,0150	0,0200	0,0800	
	8,8/100	0,0300	0,0800	0,0450	
9	2,2/100	0,0400	0,0800	0,0700	Daun
	4,4/100	0,0500	0,0400	0,0450	
	8,8/100	0,0800	0,0650	0,0300	
9	2,2/100	0,0700	0,0200	0,0600	Buah
	4,4/100	0,0750	0,0650	0,0300	
	8,8/100	0,0700	0,0250	0,0220	
9	2,2/100	0,0750	0,0200	0,0250	Akar
	4,4/100	0,0550	0,0650	0,0400	
	8,8/100	0,0650	0,0750	0,0200	
12	2,2/100	0,0450	0,0750	0,0250	Daun
	4,4/100	0,0750	0,0700	0,0400	
	8,8/100	0,0350	0,0200	0,0200	

Lampiran lanjutan

12	2,2/100	0.0800	0.0650	0.0300	Buah
	4,4/100	0.0550	0.0450	0.0300	
	8,8/100	0.0300	0.0550	0.0300	
12	2,2/100	0.0350	0.0650	0.0450	Akar
	4,4/100	0.0600	0.0650	0.0150	
	8,8/100	0.0850	0.0150	0.0100	
15	2,2/100	0.0000	0.2800	0.2800	Daun
	4,4/100	0.0000	0.0250	0.0250	
	8,8/100	0.0000	0.1400	0.1400	
15	2,2/100	0.0000	0.0850	0.0850	Buah
	4,4/100	0.0000	0.1750	0.1750	
	8,8/100	0.0000	0.1000	0.1000	
15	2,2/100	0.0350	0.0250	0.0700	Akar
	4,4/100	0.0850	0.1000	0.3550	
	8,8/100	0.0000	0.0000	0.0800	
18	2,2/100	0.0050	0.1250	0.1650	Daun
	4,4/100	0.0350	0.1700	0.2900	
	8,8/100	0.0350	0.0650	0.1000	
18	2,2/100	0.0050	0.0750	0.1250	Buah
	4,4/100	0.0350	0.0800	0.1400	
	8,8/100	0.0000	0.075	0.0900	
18	2,2/100	0.0100	0.0350	0.0300	Akar
	4,4/100	0.0150	0.0250	-0.0200	
	8,8/100	0.0300	0.0800	-0.0200	
21	2,2/100	0.0000	0.0500	0.1650	Daun
	4,4/100	0.0000	0.0750	0.140	
	8,8/100	0.0000	0.0750	0.0750	
21	2,2/100	0.0000	0.0650	-0.0850	Buah
	4,4/100	0.0000	0.0000	-0.0160	
	8,8/100	0.0100	0.1150	-0.0300	
21	2,2/100	0.0000	0.0500	0.0650	Akar
	4,4/100	0.0650	0.1650	0.1800	
	8,8/100	0.0150	0.0150	0.0150	

Lampiran 8. Komposisi tiga jenis obat kumur yang beredar di masyarakat.

Obat kumur 1 (% v/v)	Obat kumur 2 (% v/v)	Obat kumur 3 (% v/v)
Etanol 22,86	Natrium florida 0,1	Etanol 22,90
Ekaliptol 0,09	Klorida 0,05	Gliserin 5,00
Timol 0,06		Asam benzoat 0,15
Metil salisilat 0,05		Minyak pepermin 0,03
Mentol 0,04		Ekstrak daun mint 0,02

Lampiran 9. Gabungan *Acetobacter-Saccharomyces* dalam koloni Kombucha

