

Daya Antibakteri Fraksi *n*-butanol Kulit Buah Delima Putih (*Granati fructus cortex*) terhadap *Streptococcus mutans* (*Antibacterial Activity of White Pomegranate Pericarp (Granati fructus cortex) n-butanol Fraction against Streptococcus mutans*)

Gea Akalili Sabrina¹, Sukanto², Niken Probosari³

¹²³Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Jln. Kalimantan 37, Jember 68121

e-mail: sukantofkgunej@yahoo.com

Abstract

Pomegranate white pericarp contains flavonoids, tannins and phenols which are antibacterial. These compounds are soluble in n-butanol fraction. Streptococcus mutans (S. mutans) is normal bacteria of oral that can be pathogenic and cariogenic, so this should be inhibited bacterial growth. This research was aimed to determine whether n-butanol fraction of pomegranate pericarp had antibacterial activity against S. mutans and how much the most effective concentration in inhibiting growth and done in vitro. Possibility of n-butanol fraction pomegranate pericarp could inhibit growth of S. mutans. The method used was a pour plate using a serial dilution methods with a concentration of 0,313% up to 10%. Kruskal Wallis and Mann Whitney test showed significant difference between groups with $p=0.000$ ($p < 0.05$). In conclusion, namely n-butanol fraction of pomegranate pericarp had antibacterial activity against S. mutans and the most effective concentration of the antibacterial concentration was 10%. Suggestions for further research for role of compounds in pomegranate pericarp that inhibit the growth of S. mutans.

Keywords: *n-butanol fraction, S. mutans, White pomegranate pericarp*

Abstrak

Kulit buah delima putih mengandung senyawa flavonoid, tanin dan fenol yang bersifat antibakteri. Ketiga senyawa tersebut dapat larut dalam fraksi *n-butanol*. *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) adalah bakteri normal rongga mulut yang dapat menjadi patogen dan bersifat kariogenik, sehingga bakteri ini harus dihambat pertumbuhannya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah fraksi *n-butanol* kulit buah delima putih memiliki daya antibakteri terhadap *S. mutans* dan berapa konsentrasi paling efektif dalam menghambat pertumbuhannya dan dilakukan secara *in vitro*. Kemungkinan fraksi *n-butanol* kulit buah delima putih dapat menghambat pertumbuhan *S. mutans*. Metode yang dipakai adalah metode *pour plate* dengan pengenceran seri menggunakan konsentrasi 0,313% sampai dengan 10%. Uji *Kruskal Wallis* dan uji *Mann Whitney* menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antarkelompok dengan nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$). Kesimpulannya fraksi *n-butanol* kulit buah delima putih mempunyai daya antibakteri terhadap *S. mutans* dan konsentrasi yang paling efektif sebagai antibakteri terhadap *S. mutans* yaitu konsentrasi 10%. Saran, perlu penelitian lebih lanjut tentang peran senyawa yang terkandung dalam kulit buah delima putih yang menghambat pertumbuhan *S. mutans*.

Kata kunci: fraksi *n-butanol*, kulit buah delima putih, *S. mutans*

Pendahuluan

Delima putih (*Punica granatum L.*) secara taksonomi dimasukkan ke dalam suku *Punicaceae*. Suku *Punicaceae* hanya terdiri dari satu marga yaitu *Punica*. Rumusan Obat-obat Nasional menyebutkan kurang lebih 23 negara menggunakan delima putih sebagai obat resmi. Pemanfaatan tanaman sebagai obat sekarang ini sangat dibutuhkan, karena tanaman obat karena murah, mudah meraciknya, dan jarang menimbulkan efek samping [1]. Delima putih (*Punica granatum Linn*) merupakan salah satu jenis tanaman obat yang disebutkan dalam buku "Pemanfaatan Tanaman Obat Dep. Kes RI Edisi III. 1983" dan termasuk tanaman tropis yang banyak ditanam di pekarangan rumah atau tumbuh di daerah pemukiman [2]. Ada tiga jenis delima yang tersebar di Indonesia, dikelompokkan berdasarkan warna buahnya, yaitu delima putih, delima merah, dan delima hitam. Delima merah memiliki rasa yang lebih manis dan segar, sedangkan delima putih rasanya lebih sepat dan kesat, serta kurang manis. Rasa kesat pada delima putih disebabkan oleh kandungan flavonoid (golongan polifenol) yang tinggi. Hal itulah yang menyebabkan delima putih sering dimanfaatkan sebagai obat. Belakangan ini jenis delima putih agak sulit ditemukan di pasaran [3].

Kulit buah delima putih (*Granati fructus cortex*) secara empiris telah digunakan sebagai jamu di pasaran. Seringkali masyarakat menggunakan buahnya saja dan membuang kulitnya, padahal kulit buahnya mengandung senyawa yang dapat digunakan sebagai antibakteri seperti flavonoid, tannin dan alkaloid. Limbah kulit buahnya dapat dimanfaatkan untuk diolah sebagai obat tradisional. Hal tersebut terbukti bermanfaat untuk mencegah keputihan pada wanita. Penelitian Vimalasari (dalam Sukanto, 2003) tentang kulit buah delima putih, hasilnya menunjukkan mempunyai sifat antibakteri terhadap *Escherichia coli ATCC 25922*. Terbukti ekstrak kulit buah delima putih juga mempunyai daya antibakteri terhadap *S.mutans* [4]. Secara tradisional air rebusan buah dan *Granati fructus cortex* dapat digunakan sebagai obat kumur antibakteri [5].

Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, biru dan sebagian zat warna kuning yang terdapat dalam tanaman. Fungsi flavonoid cukup banyak diantaranya sebagai zat pengatur

tumbuh, pengatur proses fotosintesis, zat antimikroba dan antivirus dan antiinsektisida [6]. Tanaman dengan kadar flavonoid yang tinggi mempunyai aktivitas antibakteri [7]. Flavonoid ini merupakan senyawa yang mempunyai sifat bakterisid [8]. *Granati fructus cortex* mengandung total flavonoid sekitar 180.10 ± 1.31 TFC mg QE/g (*Total Flavonoid Content, Quercetin Equivalent*) dan total fenol 190.27 ± 0.54 TPC mg GAE/g (*Total Phenol Content, GAE : Gallic Acid Equivalent*) [9].

Fraksinasi adalah prosedur fitokimia untuk memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan utama yang lainnya dari ekstrak kasar. Jumlah dan jenis senyawa yang dapat dipisahkan menjadi fraksi yang berbeda, prosedur berdasarkan perbedaan kepolaran tiap senyawa [10]. Proses fraksinasi digunakan empat jenis pelarut, yaitu *n*-heksana, kloroform, etil asetat dan yang terakhir *n*-butanol. *n*-butanol dapat melarutkan senyawa aktif pada kulit buah delima putih seperti polifenol, flavonoid dan tannin yang bersifat polar, karena pelarut *n*-butanol merupakan pelarut polar [11]. Pada studi pendahuluan yang telah dilakukan oleh peneliti skrining fitokimia uji kualitatif, hasilnya menunjukkan bahwa kulit buah delima putih tersebut positif mengandung flavonoid, tanin dan fenol.

Karies gigi merupakan penyakit infeksi pada jaringan keras gigi yang bersifat lokal, progresif, menyebabkan kehancuran struktur gigi dan bersifat kronis. Etiologi karies gigi bersifat multifaktorial, karena banyak hal yang saling berkaitan meliputi host, diet dan bakteri. Dari faktor bakteri telah dilaporkan bahwa *S. mutans (Streptococcus mutans)* merupakan bakteri penyebab utama karies gigi. *S. mutans* dianggap sebagai bakteri rongga mulut normal yang bisa menjadi patogen yang paling penting yang terlibat pada proses karies [12]. Bakteri tersebut merupakan bakteri yang kariogenik karena mampu segera membentuk asam dari karbohidrat yang dapat diragikan, dapat tumbuh subur dalam suasana asam dan dapat menempel pada permukaan gigi karena kemampuannya membuat polisakarida ekstra sel. Bakteri ini harus dihambat aktivitasnya [13].

Berdasarkan penjelasan di atas dan belum adanya penelitian sebelumnya tentang daya antibakteri fraksi *n*-butanol dari kulit buah delima putih terhadap bakteri *S. mutans* maka penulis ingin meneliti apakah fraksi *n*-butanol dari kulit buah delima putih memiliki daya

antibakteri terhadap *S. mutans* serta berapa konsentrasi fraksi *n*-butanol yang efektif kulit buah delima putih sebagai antibakteri terhadap *S. mutans*.

Metode Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *the post test only control group design*. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi, Laboratorium Bioscience Fakultas Kedokteran Gigi dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Pelaksanaan penelitian dilakukan pada bulan Januari- Maret 2014.

Kulit buah delima putih kering dibuat menjadi serbuk, di ekstraksi dengan pelarut *n*-heksana dan etanol. Selanjutnya, dipekatkan atau diuapkan menggunakan *rotary evaporator* sampai didapatkan ekstrak pekat. Kemudian dilakukan fraksinasi sampai didapatkan fraksi *n*-butanol.

Media untuk pembiakan *S. Mutans* menggunakan larutan BHI-B dengan konsentrasi 10^{-7} dan media BHI-A padat pada cawan petri.

Disediakan 8 tabung reaksi yang masing-masing diberi nomor label sesuai konsentrasi, kontrol positif dan kontrol negatif. Tabung reaksi ke-1 diberi bahan uji fraksi *n*-butanol kulit buah delima putih dengan konsentrasi 10% 1ml, suspensi *S. mutans* 0,1 ml dan media BHI-B 1ml.

Tabung reaksi ke-2 diberi bahan uji fraksi *n*-butanol kulit buah delima putih dengan konsentrasi 5% 1ml, suspensi *S. mutans* 0,1 ml dan BHI-B 1 ml. Tabung reaksi ke-3 diberi bahan uji fraksi *n*-butanol 2,5% 1ml, suspensi *S. mutans* 0,1 ml dan BHI-B 1 ml sampai tabung reaksi ke 6, pada konsentrasi 0,313%.

Tabung reaksi ke-7 tidak diberi bahan uji namun ditambahkan *S. mutans* sebagai kontrol positif. Tabung reaksi ke-8 diberi BHI-B saja sebagai kontrol negatif. Seluruh tabung dimasukkan dalam *anaerobic jar* dan diinkubasi selama 24 jam dalam suhu 37° C.

Pembacaan hasil harus dilakukan dengan cara melihat ada tidaknya endapan ataupun kekeruhan dalam tabung reaksi setelah diinkubasi. Namun, untuk mengetahuinya secara lebih jelas dapat dilakukan dengan cara melakukan penanaman pada media BHI-A (*Brain Heart Infusion Agar*) padat di cawan petri. Pengamatan dan pembacaan hasil dilakukan dengan

mengamati pertumbuhan koloni pada permukaan media BHI-A. Penghitungan koloni bakteri menggunakan *colony counter*.

Data hasil penelitian diuji normalitas dan homogenitas menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov* dan uji *Levene*. Hasilnya data tidak terdistribusi normal dan tidak homogen, kemudian diuji *Kruskal Wallis* dan uji *Mann Whitney*.

Hasil Penelitian

Hasil pengamatan tentang daya antibakteri fraksi *n*-butanol kulit delima putih terhadap *S. mutans* dapat dilihat di tabel :

Tabel 1. Rerata jumlah koloni *S. mutans* dengan perlakuan fraksi *n*-butanol kulit buah delima putih waktu kontak 24jam

K	10	5	2,5	1,25	0,62	0,313	K	K
	%	%	%	%	5	%	+	-
S					%			
x	0	14,9	55,2	156	353	450,9	707	0
Sb	0	6,61	15,6	38,2	51,0	102,3	145	0
Max	0	27	92	218	434	671	969	0
Min	0	7	35	101	282	307	533	0

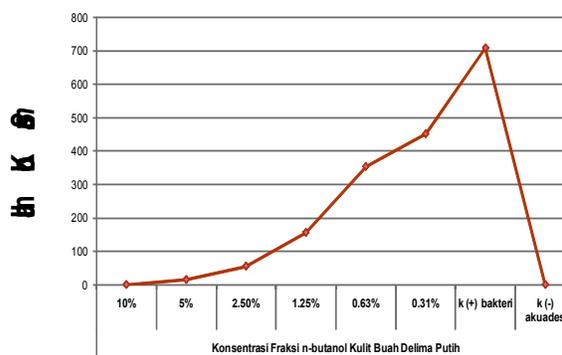
Keterangan:

x : Rerata jumlah koloni

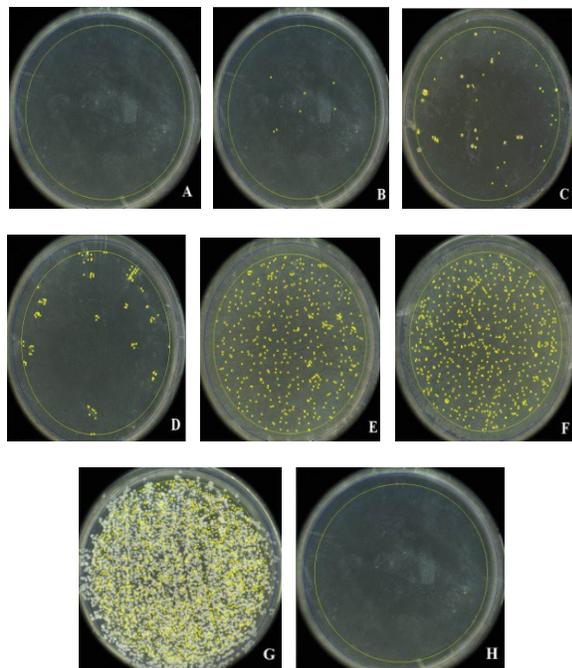
Sb : Simpangan baku

Max : Nilai jumlah koloni maksimal

Min : Nilai jumlah koloni minimal



Gambar 1. Grafik rerata koloni *S. mutans* dengan perlakuan fraksi *n*-butanol kulit buah delima putih



Gambar 2 : a) Koloni *S.mutans* dengan larutan fraksi *n*-butanol 10%, b) Koloni *S.mutans* dengan larutan fraksi *n*-butanol 5%, c) Koloni *S.mutans* dengan larutan fraksi *n*-butanol 2,5%, d) Koloni *S.mutans* dengan larutan fraksi *n*-butanol 1,25%, e) Koloni *S.mutans* dengan larutan fraksi *n*-butanol 0,625%, f) Koloni *S.mutans* dengan larutan fraksi *n*-butanol 0,313%, g) Kontrol positif *S.mutans*.

Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada konsentrasi 10% fraksi *n*-butanol kulit buah delima putih tidak terdapat koloni *S. mutans*. Semakin kecil konsentrasi konsentrasi fraksi *n-butanol* kulit buah delima putih semakin banyak koloni yang tumbuh. Terdapat perbedaan bermakna dari keseluruhan kelompok perlakuan, dikarenakan rentang jumlah koloni yang cukup jauh. Perbedaan rentang disebabkan karena kemampuan konsentrasi fraksi *n-butanol* kulit buah delima putih memiliki kemampuan yang berbeda tergantung dari besar konsentrasi yang digunakan. Kelompok konsentrasi fraksi *n-butanol* 10% merupakan konsentrasi terbesar yang digunakan dan paling banyak membunuh bakteri karena jumlah senyawa aktif (polifenol, tanin, dan flavonoid) yang bersifat antibakteri yang terlarut pada konsentrasi tersebut lebih banyak daripada konsentrasi terkecil lainnya

sehingga pada hasil penelitian tidak ada koloni bakteri yang tumbuh.

Pada kelompok konsentrasi 5% terjadi pertumbuhan koloni bakteri. Pada kelompok konsentrasi 2,5% ke konsentrasi terkecil 1,25%, 0,625% dan 0,313% selalu terjadi kenaikan jumlah koloni bakteri tiap konsentrasi. Kenaikan jumlah koloni ini disebabkan karena senyawa aktif (flavonoid, fenol dan tannin) pada fraksi *n-butanol* konsentrasi dibawah 10% terlarut saat melewati proses pengenceran menggunakan akuades.

Untuk mengetahui daya antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri dapat dilihat dari adanya jumlah pertumbuhan koloni bakteri pada media padat. Semakin sedikit koloni yang tumbuh pada media padat, maka semakin besar daya antibakterinya [14].

Konsentrasi efektif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri adalah kelompok konsentrasi yang tidak terjadi pertumbuhan bakteri [15]. Pada hasil penelitian kelompok konsentrasi 10% tidak terjadi pertumbuhan koloni bakteri, maka konsentrasi efektif fraksi *n-butanol* dalam menghambat koloni bakteri *S. mutans* adalah konsentrasi 10%.

Berdasarkan penelitian pendahuluan yang telah dilakukan, kandungan kulit buah delima putih adalah polifenol, flavonoid dan tanin. Flavonoid dan tanin merupakan golongan polifenol [16]. Flavonoid yang terdapat pada kulit buah delima putih adalah jenis *flavonols*, katekin (*flavanol*), *flavons*, *flavonones*, dan *anthocyanidins* [17]. Jenis tannin yang terdapat pada kulit buah delima putih adalah jenis *ellagitanin*, *punicalin* dan *punicalagin* [18]. Fraksinasi menggunakan *n-butanol* dapat melarutkan polifenol, flavonoid dan tanin yang bersifat polar, karena pelarut *n-butanol* merupakan pelarut polar [11]. Kedua senyawa tersebut mempunyai aktivitas antibakteri yang sama dengan polifenol karena memiliki gugus OH dan memiliki sifat seperti alkohol [10].

Proses perakitan dinding sel bakteri diawali dengan pembentukan rantai peptida. Rantai peptida akan membentuk ikatan silang peptida yang menggabungkan rantai glikan dari peptidoglikan pada rantai yang lain sehingga menyebabkan dinding sel terakit sempurna. Pemberian senyawa antibakteri dapat menghambat perakitan dinding sel dan mengakibatkan tidak terbentuknya ikatan silang pada peptidoglikan dinding sel. Hal ini menyebabkan kerusakan dinding sel bakteri. Fenol mempunyai target menyerang polipeptida

dinding sel, terutama peptida pada peptidoglikan yaitu D-alanin. Gugus hidroksil dari fenol akan bereaksi dengan gugus karboksil D-alanin, tidak bisa berikatan dengan glisin sehingga tidak terbentuk ikatan silang pada peptidoglikan dinding sel [19,20].

Flavonoid, flavones dan flavonols juga kemungkinan mempunyai kemampuan membentuk kompleks ekstraselular dan dapat melarutkan lipid dan protein yang terdapat pada membran sel bakteri sehingga dapat mengganggu sel bakteri. Selanjutnya pada inti sel bakteri juga senyawa ini akan berkontak dengan DNA pada inti sel bakteri dan melalui perbedaan kepolaran antara lipid penyusun DNA dengan gugus alkohol senyawa ini dapat merusak struktur lipid dari DNA bakteri sehingga inti sel bakteri juga akan lisis dan bakteri juga akan mengalami lisis dan mati [21,22].

Pada penelitian sebelumnya oleh Sukanto (2003) konsentrasi efektif ekstrak total kulit buah delima putih untuk menghambat bakteri adalah 100%. Pada penelitian ini fraksi *n*-butanol kulit buah delima putih konsentrasi 10% merupakan konsentrasi yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan koloni *S. mutans*. Hal ini kemungkinan disebabkan karena dalam larutan fraksi *n*-butanol hanya terdapat senyawa aktif seperti fenol, flavonoid dan tannin tanpa adanya pengotor seperti minyak, lemak dan senyawa lainnya.

Simpulan dan Saran

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa fraksi *n*-butanol kulit buah delima putih memiliki daya antibakteri terhadap *S. mutans* dan konsentrasi yang paling efektif sebagai antibakteri yaitu konsentrasi 10%.

Saran pada penelitian ini perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang toksisitas larutan fraksi *n*-butanol kulit buah delima putih terhadap sel tubuh untuk dapat mengetahui dosis yang aman jika digunakan sebagai obat alternatif, perlu dilakukan penelitian isolasi kandungan bioaktif dalam kulit buah delima putih untuk mengetahui zat yang efektif dalam menghambat *S. mutans* dan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan fraksinasi menggunakan pelarut lain untuk mengetahui keefektifannya dalam menghambat pertumbuhan *S. mutans*.

Daftar Pustaka

1. Andjarikmawati, DW, Mudyantini. W, dan Marsusi. Perkecambahan dan Pertumbuhan Delima Putih (*Punica granatum L.*) dengan Perlakuan Asam Indol Asetat dan Asam Giberelat. *Bio SMART* Vol. 7 (2):91-94 2005.
2. Tukiman. Pemanfaatan Tanaman Obat Keluarga (TOGA) Untuk Kesehatan Keluarga. Digital Library Bagian Pendidikan Kesehatan Dan Ilmu Perilaku Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Sumatera Utara, 1-8 2004.
3. Johansyah. Khasiat Buah Delima (*Punica granatum L.*). *Artikel* [serial online] <http://diperta.jabarprov.go.id/index.php/subMenu/informasi/artikel/detailartikel/296> 2013.
4. Sukanto.. Daya antibakteri infusa *Granati fructus cortex* terhadap *Streptococcus mutans*. *Majalah Kedokteran Gigi. Dental Journal* Vol. 36 No. 3 hal. 86-90 2003.
5. Soemiat., A ,Elya, B.. Uji Pendahuluan Efek Kombinasi Antijamur Infus Daun Sirih (*Piper betle L.*), Kulit Buah Delima (*Punica granatum L.*) dan Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica Val.*) Terhadap Jamur *Candida Albicans*. *Makara Seri SAINS* Vol.6(3): 149-154 2002.
6. Kristanti, NA, Aminah, SN, Tanjung M, Kurniadi B. Buku Ajar Fitokimia. Airlangga University Press 2008.
7. Chusnie T., P., P dan Lamb A., J. Antimicrobial Activity of Flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents* 26:343-356 2005.
8. Supriatry MM. Daya Antibakteri Ekstrak Buah Belimbing Manis (*Averrhoa carambola linn*) Terhadap *Streptococcus mutans* in vitro. *Tesis* [serial online]. [13 Juni 2012]
9. Rummun N, Somanah J, Ramsaha S, Bahorun, Thesan. Neergheen-Bhujun, VS. Bioactivity of Nonedible Parts of *Punica granatum L.* : A Potential Source of Functional Ingredients. *International Journal of Food Science* Volume 2013..
10. Harborne JB. *Metode Fitokimia*. Terbitan Kedua. Penerbit ITB Bandung 1987.
11. Kasote, D. M., Pawar, N. M., Sadgir, S. K., Bharati. Jagtap. Hegde. Antioxidant And Collagenase Inhibitory Activity Of Ether Soluble Phenolic Components Of *n*-Butanol Fraction (ESP-BF) Of Flaxseed. *International Food Research Journal*. Vol.20(6): 3133-3139

- 2013.
12. Devijanti RR. Antibodi Monoklonal *Streptococcus mutans* Dalam Pasta Gigi Tanpa De-terjen Sebagai Penghambat Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Dental Journal Edisi Khusus Temu Ilmiah Nasional IV*. 2005 239-243.
 13. Pratiwi R. Perbedaan Daya Hambat Terhadap *Streptococcus mutans* Dari Beberapa Pasta Gigi Yang Mengandung Herbal. *Dental Journal*. 2005 Vol. 38 (2):64-67.
 14. Purnamasari, DA, Munadzirah E, Yogiartono, RM. Konsentrasi ekstrak biji Kakao sebagai material alam dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Jurnal PDGI* 2009 59 (1) hal 14-18.
 15. Rahardjo, M. B.. *Perbedaan Daya Antibakteri Allium sativum Linn, Kaempferia galangal dan ChKm terhadap Streptococcus mutans dan Berbagai-macam Bakteri Yang Berasal Dari Saluran Akar Gigi Gangrena Pulpa*. 1993 Tesis. Surabaya: Program Pascasarjana Universitas Airlangga.
 16. Ferrazzano FG, Amato I, Ingenito A, Zarrelli A, Pinto G, Pollio A.. Plant Polyphenol and Their Anti-Cariogenic Properties: A Review.- *Molecules Journal* 2011 Vol(16) : 1486-1507.
 17. Jurenka, J. Therapeutic Applications of Pomegranate (*Punica granatum L.*): Review. *Alternative Medicine Review* 2008 Vol.13(2) :128-144.
 18. Wang, Rufeng dkk. *Pomegranate: Constituents, Bioactivities and Pharmacokinetics*. Global Science Books. 2010.
 19. Klair, D. 2009. *Education Chemistry*. Royal Society of Chemistry.[serialonline] <http://www.rsc.org/Education/EiC/issues/2009July/Survivalofthefittest.asp> [14 Oktober 2013]
 20. Saputra, T. Aktivitas Antimikroba Infusa Kulit Batang Kedawung (*Parkia roxburghii G.Don*) Terhadap Bakteri Patogen. *Jurnal PDGI* 2012 Vol.8(9): 1-10.
 21. Cowan, MM. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiological Review*, Miami University, Oxford, Ohio 1999 Vol.12(4) : 564-582.