

Daya Hambat Ekstrak Buah Delima Merah (*Punica granatum* Linn) Terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* (The Inhibition of Red Pomegranate Fruit Extract (*Punica granatum* Linn) on The Growth *Porphyromonas gingivalis*)

Alvin Ananda Susetyo¹, Sri Hernawati², Dyah Indartin²

¹Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

²Bagian Oral Medicine, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember
Jln. Kalimantan 37, Jember 68121

e-mail korespondensi: srihernawati.drg5@unej.ac.id
dyahhartadi.fkg@unej.ac.id

Abstract

Background : Halitosis is a common complaint among general population. *Porphyromonas gingivalis* 33277 is the most frequent bacteria that cause halitosis. Pomegranate (*Punica granatum* Linn) extract is used to control the number of *Porphyromonas gingivalis* population. Bioactive compound of pomegranate is polyphenol (Flavonoids and its derivate, tanins, ellagitanins) and Alkaloids. **Objective** : To Analyze the effectiveness of pomegranate against Inhibition of *Porphyromonas gingivalis* **Materials and Methods** :The research used disc diffusion method (Kirby-Bauer) with 7 treatment group (n=6). Petridish was filled with Agar and inoculated by *Porphyromonas gingivalis*. after 5 minutes, set up disk that previously immersed in 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25% pomegranate extract, distilled water (negative control) and Clorhexidine 0,2% (positive control) on top. The Petridish were then placed in the desiccator and incubator at 37°C for 24 hours. Zone of Inhibition were measured using digital caliper by three independent observer and recorded in millimeter. The result of this study showed that there were Inhibition zone in all treatment group (except negative control). **Results and Conclusions** : Pomegranate extract had antibacterial activity against *Porphyromonas gingivalis* at 6,25 minimum inhibitory concentration.

Keywords: Antibacterial activity, *Punica granatum* Linn extract, *Porphyromonas gingivalis*, Kirby-Bauer disk diffusion method.

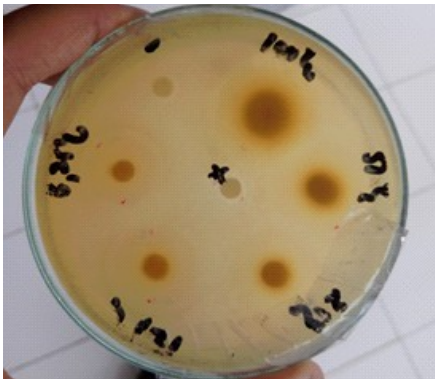
Abstrak

Latar Belakang : Halitosis merupakan kondisi yang umum dijumpai dalam masyarakat, dan perawatan ke dokter atau dokter gigi kerap dilakukan setelah timbul masalah sosial. *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 adalah bakteri yang paling sering menyebabkan halitosis. Ekstrak buah delima (*Punica granatum* Linn) digunakan untuk mengontrol jumlah populasi *Porphyromonas gingivalis*. senyawa bioaktif dari buah delima adalah polifenol (Flavonoid dan derivatnya, tanin, ellagitanins) dan Alkaloid. **Tujuan Penelitian** : Untuk Menganalisa efektivitas buah delima terhadap daya hambat *Porphyromonas gingivalis*. **Materi dan metode** : Penelitian menggunakan metode difusi cakram (Kirby-Bauer) dengan 7 kelompok perlakuan (n = 6). Petridish dipenuhi Agar dan diinokulasi *Porphyromonas gingivalis*. setelah 5 menit, diberi disk yang sebelumnya direndam dalam 100%, 50%, 25%, 12,5%, ekstrak delima 6,25%, aquadest (kontrol negatif) dan clorhexidine 0,2% (kontrol positif) di atas. Kemudian petridish ditempatkan dalam desikator dan inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona Hambat diukur dengan menggunakan jangka sorong oleh tiga pengamat independen dan dicatat dalam milimeter. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ada zona Penghambatan dalam semua kelompok perlakuan (kecuali kontrol negatif). **Hasil dan simpulan** : Ekstrak delima memiliki aktivitas antibakteri minimum terhadap *Porphyromonas gingivalis* di konsentrasi 6,25 %.

Kata kunci: Aktivitas antibakteri, Ekstrak *Punica granatum* Linn, *Porphyromonas gingivalis*, Metode Difusi Cakram Kirby-Bauer.

Pendahuluan

Halitosis merupakan kondisi yang umum dijumpai dalam masyarakat, dan perawatan ke dokter atau dokter gigi kerap dilakukan setelah timbul masalah sosial.[1] Halitosis dapat diartikan menjadi semua tipe dari aroma tidak



menyenangkan setelah membaui nafas seseorang saat ekspirasi atau berbicara.[2] *Porphyromonas gingivalis* merupakan bakteri gram negatif anaerob yang merupakan salah satu penyebab halitosis. *Porphyromonas gingivalis* secara normal terdapat plak supragingiva dan sangat efektif dalam pembentukan halitosis karena memecah substrat protein menjadi rantai peptida dan asam amino yang mengandung sulfur seperti *methionin*, *cystein*, *cystine*. Katabolisme *cystine* dan *methionin* menghasilkan *volatile sulfur compound* yang merupakan penyebab utama halitosis.[3] *Porphyromonas gingivalis*, *P. intermedia*, dan *Tannerella forsythensis* berkorelasi dengan kadar metil merkaptan. Selanjutnya, metil merkaptan merupakan penyebab utama halitosis dibandingkan hidrogen sulfida dan dimetilsulfida; dimana metil merkaptan dan hidrogen sulfida berasal dari intraoral, sedangkan dimetilsulfida diduga berasal dari ekstraoral[1].

Cara yang digunakan untuk menghilangkan halitosis adalah dengan menggunakan obat kumur. Obat kumur juga dianggap efektif karena bersentuhan dengan seluruh permukaan rongga mulut yang tidak dapat dibersihkan secara mekanis dengan menyikat gigi[4]. *Clorhexidine* dianggap obat kumur anti-bakteri paling efektif saat ini.[5] namun memiliki beberapa efek samping yaitu menyebabkan pewarnaan (stain) pada gigi dan restorasi, memicu pembentukan kalkulus, reaksi alergi, rasa tidak nyaman sesaat setelah berkumur serta dalam penggunaan jang-

ka panjang dapat mengakibatkan desquamasi dan pengelupasan mukosa rongga mulut.[2],[6]

Efek samping penggunaan *clorhexidine* dan Antibiotik maka dilakukan pencarian dan pengembangan obat kumur alternatif baru yang memiliki kemampuan yang sama dengan *clorhexidine* namun tidak memiliki efek samping. Salah satu tumbuhan yang sering dimanfaatkan sebagai obat tradisional adalah Delima merah. Delima merah (*Punica granatum Linn.*) sebagai pengobatan dan pencegahan penyakit sangat luas dan sudah dikenal sejak zaman pengobatan *ayurvedic*. [5]

Buah delima mengandung Polifenol Flavonoid, antosianin dan, tannin diantaranya ellagitannins, asam ellagic dan punicalgin yang diduga berfungsi sebagai anti-bakteri.[7] Berdasarkan uraian diatas peneliti ingin melakukan penelitian tentang efektivitas ekstrak buah delima merah (*Punica granatum Linn*) terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*.

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *the post-test only control group design*. Sampel berjumlah 6 untuk setiap kelompok penelitian dan terdapat 7 kelompok penelitian yaitu, ekstrak buah delima merah yang didapatkan dengan cara maserasi dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, Obat kumur *clorhexidine* 0,2% (kontrol positif) dan aquadest steril (kontrol negatif). Metode yang digunakan untuk mengetahui sifat antibakteri kelompok penelitian adalah metode *disk diffusion* (Kirby-Bauer). Kertas Whatmann no. 42 dipotong dengan menggunakan *paper puncher* keudian di sterilisasi selama 5 menit dalam oven dan direndam dalam 7 kelompok penelitian. setelah direndam selama 5 menit kemudian diletakkan pada media BHI-A yang sudah di inokulasikan suspensi bakteri *Porphyromonas gingivalis* dengan konsentrasi 0,5 McFarland. Semua petridish kemudian di masukkan kedalam desikator dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dalam inkubator. Setelah 24 jam kemudian zona bening disekitar cakram diukur dengan menggunakan jangka sorong digital.

Data hasil penelitian kemudian di tabulasi dan dilakukan analisis secara statistik. Uji Normalitas dengan menggunakan *Kolmogorov-Smirnov* dan Uji Homogenitas dengan menggunakan *Levene's test*. Apabila hasil menunjukkan data terdistribusi normal dan homogen ($p > 0,05$) maka dilakukan uji statistik parametrik *One way ANOVA* dilanjutkan dengan *LSD (least significant differences)*. Apabila hasil uji menunjukkan data tidak terdistribusi normal dan/atau tidak homogen maka dapat dilakukan uji statistik non parametrik *Kruskal-Wallis* dilanjutkan dengan *Mann-Whitney*.

Gambar 1. Pengukuran Zona hambat disekitar cakram.

Hasil

Hasil penelitian tentang pengaruh ekstrak buah delima merah terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* ditunjukkan pada Tabel 1.

Kelompok Perlakuan	N	Ø	SD
M100	6	19.1	1.05
M50	6	14.28	0.57
M25	6	13.16	0.41
M12,5	6	11	1.02
M6,25	6	8.87	1.07
K+	6	5.18	1.44
K-	6	0	0

Keterangan :

- n : Jumlah sampel
- Ø : Nilai rata-rata diameter zona hambat
- SD : Standar deviasi (simpangan baku) zona hambat
- M100 : Ekstrak buah delima merah konsentrasi 100%
- M50 : Ekstrak buah delima merah konsentrasi 50%
- M25 : Ekstrak buah delima merah konsentrasi 25%
- M12,5 : Ekstrak buah delima merah konsentrasi 12,5%
- M6,25 : Ekstrak buah delima merah konsentrasi 6,25%
- K+ : Kontrol positif (clorhexidine 0,2%)

K- : Kontrol negatif (aquadest steril)

Nilai rata-rata diameter zona hambat pada masing-masing kelompok penelitian kemudian data dianalisis secara statistik untuk mengetahui apakah data pada masing-masing kelompok berdistribusi normal atau tidak, untuk mengetahui hal tersebut dilakukan uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov*. hasil uji *Kolmogorov-Smirnov* signifikansi lebih besar dari 0,05 sehingga dapat disimpulkan bahwa data berdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan *Levene's test* untuk mengetahui homogenitas dari data penelitian. Hasil uji *Kruskal-walis* didapatkan $p < 0.05$ sehingga dapat diambil kesimpulan bahwa terdapat perbedaan pada seluruh kelompok penelitian. Kemudian dilakukan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok penelitian. Hasil dari uji *Mann-Whitney* terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok penelitian kecuali antara M6,25 dan Kontrol positif.

Pembahasan

Data hasil penelitian kali ini menunjukkan bahwa ekstrak buah delima merah konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5% dan 6,25% memiliki kemampuan yang lebih besar menghambat pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* dibandingkan dengan kontrol positif *Clorhexidine* 0,2%.

Terbentuknya zona hambat disekitar cakram yang M100, M50, M25, M12,5, M6,25 mengindikasikan bahwa ekstrak buah delima merah mengandung zat aktif yang bersifat antibakteri. Ekstrak buah delima merah memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan yang signifikan terhadap *Streptococcus mutan* pada study *in vivo*. [8]

Hasil penelitian terdahulu mengenai kandungan antibakteri dari buah delima merah yaitu Polifenol (Flavonoid dan derivatnya, Ellagic acid, Tannin dan Ellagitannins) dan alkaloid. Ellagitannins pada buah delima merah bahkan memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan beberapa bakteri yang resisten terhadap *methicillin*. [11] Selain polifenol senyawa yang terekstraksi oleh etanol adalah alkaloid. Alkaloid juga dipercaya memiliki efek antibakteri dengan mekanisme penghambatan sintesis DNA. [9] Al-

kaloid merupakan senyawa nitrogen heterosiklik yang mengandung paling sedikit satu atom nitrogen dan bersifat basa. Gugus basa ini akan bereaksi dengan senyawa asam yang ada pada DNA yang merupakan penyusun utama inti sel. Dengan terganggunya sintesis DNA, maka bakteri akan sulit melakukan pengandaan dan penurunan jumlah bakteri. selain itu terganggunya DNA menyebabkan sintesis protein terganggu yang akan mengganggu metabolisme bakteri[10].

Simpulan dan Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak buah delima merah memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* dan kemampuan menghambat terbesar adalah ekstrak buah delima merah konsentrasi 100% . Dari penelitian ini dapat disarankan :

- a. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang biokompabilitas ekstrak buah delima merah
- b. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai daya hambat ekstrak buah delima merah terhadap mikroflora lain pada rongga mulut
- c. Perlu penelitian lebih lanjut secara *in vivo*
- d. Perlu dilakukan sosialisasi pada masyarakat mengenai tanaman delima merah terutama manfaatnya bagi kesehatan.

Daftar Pustaka

- [1] Gunardi. I., Wimardhani. S. 2009, Oral Probiotik: Pendekatan Baru Terapi Halitosis, Indonesian Journal of Dentistry 16 (1), ISSN 1693-9697
- [2] Sterer N, M. Rosenberg. 2011. *Breath Odors: Origin, Diagnosis and Management*, . Berlin: Springer-Verlag Heidelberg.
- [3] Widagdo Y. & Suntya K. 2004. *Volatile sulfur compounds* Sebagai Penyebab Hal-

itosis. Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Mahasaraswati Volume 2

- [4] Batista, Ana L. Araújo., Ruthineia D. Alves U. Lins, Renata de S. Coelho, Danielle do N. Barbosa, Nayara M. Belém, Frayni J. A. Celestino. 2014. Clinical efficacy analysis of the mouth rinsing with pomegranate and chamomile plant extracts in the gingival bleeding reduction. *Complementary Therapies in Clinical Practice*.
- [5] Jurenka, Julie., 2008. Therapeutic Applications of pomegranate (*Punica granatum L.*): A Review. *Alternative Medicine Review Volume 13*. Thorne Research, Inc.
- [6] Yuliharsini, Sri. 2005. Kegunaan dan Efek Samping Obat Kumur dalam Rongga Mulut. *Skripsi*. Medan: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Sumatra Utara
- [7] Doudoux D., Neut C., Wils D., Bourgeois A., Deveaux E. 2007. Role of *Fusobacterium nucleatum* in volatile sulphur compound product on the dorsum of the tongue. *European Cells and Materials Vol. 13. Suppl. 1*.
- [8] Panichayupakarant, P., Tewtrakul, S., Yeunyongsawad, S., 2010. Antibacterial, Anti-inflammatory and anti-allergic activities of standardized pomegranate rind extract. *Food Chemistry 123*
- [9] Narayan T., Deshpande S., Jha A., Ramprasad VP., 2014. *Punica granatum* (pomegranate) fruit and its relevance in oral hygiene. *International Organization of Scientific Research Journal of Dental and Medical Sciences (IOSR-JDMS) Volume 13(8)*.
- [10] Philip D. Marsh, Michael V. Martin, Michael A. O. Lewis, David W. Williams. 2009. *Oral Microbiology*. 5th edition. Churchill Livingstone