

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kamboja Putih (*Plumeria acuminata*) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans* (Antibacterial Activity Of Etanol Extract Of White Frangipani leaf (*Plumeria acuminata*) Against The Growth Of *Streptococcus mutans*)

Affian Hudatama Putra, Yani Corvianindya, Melok Aris Wahyukundari
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
Jln. Kalimantan 37, Jember 68121
e-mail: Affianhudatama@gmail.com

Abstract

Background : Most of caries are caused by *Streptococcus mutans*. Etanol extract of white frangipani leaf are supposed to inhibit the growth of *Streptococcus mutans*. This extract contains antibacterial compound such as flavonoid, saponin, tannin, and alkaloid. **Purpose :** This study was to determine the antibacterial activity of etanol extract of white frangipani leaf in variant concentration on growth of *Streptococcus mutans*. **Method :** This study was used well diffusion method with 6 treatment groups. Each petridish were filled BHI-A and inoculated by *S. mutans* followed by making 6 wells using the borer (diameter 5 mm) and filled 20 µL of white frangipani leaf extract 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, povidone iodine as positive control, and aquadest sterile as negative control into the well. Each petridish were incubated at 37°C for 24 hours. The inhibitory zones were measured by using digital calliper. **Results:** The result showed that there were inhibitory zones in positive control, extract 50%, and 25% treatment groups and there is no inhibitory zones in negative control, extract 12,5%, and 6,25%. **Conclusion:** Etanol extract of White frangipani leaf has antibacterial activity against the growth of *Streptococcus mutans* with minimum inhibitory concentration of 25% .

Keywords : Antibacterial activity, *Streptococcus mutans*, Etanol extract of white frangipani leaf.

Abstrak

Latar belakang: Karies gigi sebagian besar disebabkan oleh *Streptococcus mutans*. Ekstrak etanol daun kamboja putih diduga mampu mengendalikan jumlah populasi *Streptococcus mutans*. Ekstrak tersebut mengandung senyawa antibakteri berupa flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid. **Tujuan Penelitian:** Untuk mengetahui daya hambat ekstrak etanol daun kamboja terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*. **Metode Penelitian:** Penelitian ini menggunakan metode difusi sumuran (*well diffusion*) dengan 6 kelompok perlakuan. Masing-masing petridish diisi BHI-A dan diinokulasi *Streptococcus mutans* lalu dibuat 6 lubang sumuran menggunakan borer stainless-steel steril (diameter 5 mm). Ekstrak konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, kontrol positif, dan kontrol negatif masing-masing 20 µL dimasukkan ke dalam lubang sumuran. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam lalu dilakukan pengukuran zona hambat menggunakan jangka sorong. **Hasil:** Penelitian menunjukkan adanya zona hambat pada kelompok perlakuan ekstrak etanol daun kamboja 50%, 25% dan kontrol positif, dan tidak terdapat zona hambat pada kelompok perlakuan ekstrak etanol daun kamboja 12,5%, 6,25%, dan kontrol negatif. **Kesimpulan:** Ekstrak etanol daun kamboja putih mampu menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* dengan daya hambat minimal adalah konsentrasi 25%.

Kata Kunci: Ekstrak etanol daun kamboja putih, Metode difusi sumuran, *Streptococcus mutans*, Uji aktivitas antibakteri.

Pendahuluan

Streptococcus mutans (*S. mutans*) adalah bakteri utama penyebab karies gigi. Bakteri ini dapat dengan mudah melekat pada permukaan gigi [1]. *Streptococcus mutans* merupakan bakteri yang dapat tumbuh dengan baik dalam suasana asam serta dapat memproduksi asam sebagai hasil fermentasi karbohidrat. Asam yang dihasilkan bakteri ini dapat memicu terjadinya demineralisasi gigi [2].

Pertumbuhan bakteri *S. mutans* dapat dikendalikan dengan bahan antibakteri [3]. Bahan antibakteri bisa didapat dari bahan alami maupun bahan sintetik. Antibakteri sintetik yang sering digunakan ialah *povidone iodine*. *Povidone iodine* mampu membunuh berbagai jenis bakteri patogen. Namun bahan ini dapat mengakibatkan alergi pada individu tertentu sehingga dibutuhkan bahan antibakteri dari bahan alami yang diharapkan tidak mengakibatkan reaksi alergi pada penggunaannya. Salah satu bahan alami yang dapat digunakan ialah daun kamboja putih [4].

Daun kamboja putih sudah sering digunakan untuk mengobati gigi berlubang, namun masih belum ada penjelasan bagaimana mekanisme kerja daun kamboja dalam menghentikan sakit gigi [5]. Daun kamboja putih memiliki kandungan antibakteri seperti flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid [6]. Daun ini juga telah diketahui memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri saliva [7]. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan antibakteri daun kamboja putih terhadap pertumbuhan *S. mutans*.

Metode Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris, dengan rancangan penelitian *the post test only control group design*. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi. Identifikasi tanaman di Laboratorium Botani dan Kultur Jaringan Jurusan Biologi Fakultas MIPA. Pembuatan ekstrak di Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember. Waktu penelitian pada bulan Oktober hingga Desember 2015.

Sampel dari penelitian ini ialah *aquades sterile*, *Povidone iodine*, dan ekstrak daun kamboja putih segar, berwarna hijau, berukuran 15-20 cm, adipetik antara 1-3 cm dari ujung batang, dan diambil di lokasi yang sama, yaitu di hala-

man Universitas Jember. Sampel pada penelitian ini dibagi menjadi 6 kelompok sampel, yaitu kelompok kontrol negatif (*aquades steril*), kontrol positif (*povidone iodine*), K6,25 (ekstrak 6,25%), K12,5 (ekstrak 12,5%) K25 (ekstrak 25%) K50 (ekstrak 50%), masing-masing kelompok terdiri dari 8 sampel.

Tahap awal penelitian ini adalah pembuatan ekstrak daun kamboja putih. Daun kamboja segar dikeringkan dengan selama beberapa hari hingga layu kemudian dikeringkan dengan oven hingga kering sempurna. Selanjutnya daun kering tersebut dihaluskan. Setelah itu dimaserasi menggunakan etanol 70% dengan perbandingan bubuk:etanol yaitu 1:7,5. Larutan hasil maserasi disaring kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstrak konsentrasi 100%. Ekstrak kamboja putih yang didapat berupa larutan pekat berwarna cokelat kehitam-hitaman. Suspensi *S. mutans* yang digunakan saat penelitian ditumbuhkan dalam media cair BHI-B. Suspensi tersebut diencerkan dengan standar Mc. Farland 0,5. Sebelum melakukan penelitian, terlebih dahulu dilakukan uji identifikasi bakteri dengan pewarnaan Gram. Hasil uji identifikasi terhadap *S. mutans* antara lain bakteri ini berwarna ungu, berbentuk kokus dalam rantai, dan tidak terkontaminasi.

Persiapan media bakteri *S. mutans* dengan pembuatan media BHI-A dengan mencampurkan bubuk BHI-A dengan *aquades steril* sesuai takaran. Kemudian dipanaskan diatas kompor dengan diaduk hingga homogen. Selanjutnya BHI-A dituangkan pada masing-masing petridish.

Penelitian ini menggunakan metode difusi sumuran (*well diffusion method*), yaitu dengan membuat lubang sumuran pada sediaan BHI-A yang telah diinokulasi *S. mutans*. Pada masing-masing *petridish* diberi kode perlakuan dan nomor urut. Letak lubang sumuran sesuai dengan kode perlakuan tersebut. Lubang sumuran dibuat menggunakan borer berdiameter 5 mm dan diberi label sesuai dengan kelompok perlakuan. Setelah lubang sumuran dibuat, bahan perlakuan sebanyak 20 µL dimasukkan ke dalam masing-masing lubang sumuran. Semua perlakuan dilakukan dalam *laminar flow*.

Setelah semua perlakuan diberikan seluruh *petridish* dimasukkan ke dalam desikator dan diinkubasi pada suhu 37°C. Setelah 24 jam akan terlihat daerah lebih jernih di sekeliling lubang sumuran. Daerah yang lebih jernih merupakan zona hambat pertumbuhan *S. mutans*. Adapun cara mengukur zona hambat

tersebut adalah dengan membalikkan *petridish*, kemudian penghitungan dilakukan dengan cara diameter terluar daerah jernih [8].

Hasil Penelitian

Hasil penelitian tentang daya hambat ekstrak daun kamboja putih terhadap pertumbuhan *S. mutans* ditunjukkan pada Tabel 1.1 Dapat diketahui diameter zona hambat berturut-turut dari yang terbesar adalah zona hambat dari kontrol positif, kelompok M50, dan kelompok M25 (tabel 1.1).

Tabel 1.1 Hasil penghitungan nilai rata-rata zona hambat pertumbuhan *S. Mutans*

Kelompok penelitian	n	rata-rata
K(+)	8	19,45
M50	8	10,38
M25	8	8,36
M12,5	8	0
M6,25	8	0
K(-)	8	0

*n : Jumlah sampel

M50 : Kelompok ekstrak daun kamboja putih konsentrasi 50%

M25 : Kelmompok ekstrak daun kamboja putih konsentrasi 25%

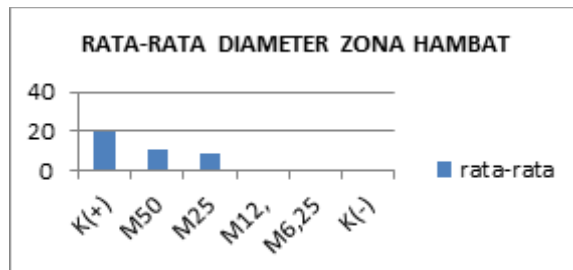
M12,5 : Kelmompok ekstrak daun kamboja putih konsentrasi 12,5%

M6,25 : Kelmompok ekstrak daun kamboja putih konsentrasi 6,25%

K(+): Kontrol positif (*Povidone iodine*)

K(-) : Kontrol negatif (*Aquades sterile*)

Gambar 1. Diagram Hasil penghitungan nilai rata-rata zona hambat pertumbuhan *S. Mutans*



Setelah mengetahui hasil penghitungan, selanjutnya dilakukan uji distribusi dengan uji *Kolmogorov-Smirnov*. Hasil uji ini menunjukkan jika data terdistribusi normal, dibuktikan dengan nilai signifikansi yang

menunjukkan lebih besar dari 0,05. Setelah data dinyatakan terdistribusi normal selanjutnya dilakukan uji homogenitas varian menggunakan uji *Levene* untuk mengetahui ragam populasi. Hasil uji *Levene* menunjukkan nilai signifikansi lebih kecil dari 0,05, sehingga data tersebut dinyatakan tidak homogen. Selanjutnya data dianalisis menggunakan uji non parametrik, yaitu *Kruskal-Wallis*, untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan daya hambat pada seluruh kelompok perlakuan.

Hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan signifikansi lebih kecil 0,05, sehingga dapat diketahui jika terdapat perbedaan nilai daya hambat yang bermakna antar kelompok perlakuan. Hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan nilai signifikansi kurang dari 0,05 ($p < 0,05$), maka H_0 ditolak dan H_1 diterima. Hal tersebut menunjukkan perbedaan pada masing-masing penelitian. Sehingga dapat disimpulkan bahwa kelompok penelitian memiliki daya antibakteri terhadap pertumbuhan *S. mutans*. Selanjutnya dilakukan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui kelompok perlakuan mana yang memiliki perbedaan bermakna. Berdasarkan uji *Mann-Whitney* dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antar seluruh kelompok perlakuan kecuali kelompok M12,5 dengan M6,25, M12,5 dengan K(-), dan M6,25 dengan K(-). Hal tersebut terjadi karena antara kelompok M6,25, M12,5, dan K(-) memiliki diameter yang sama (0,00 mm).

Pembahasan

Pada hasil uji *Mann-Whitney*, rata-rata zona hambat antara ekstrak etanol daun kamboja kelompok M12,5 dengan M6,25, M12,5 dengan K(-), M6,25 dengan K(-) tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Hal tersebut dikarenakan rata-rata diameter zona hambat memiliki nilai yang sama, yaitu 0,00 mm. Hal tersebut dikarenakan jumlah kandungan zat aktif dalam ekstrak dengan konsentrasi 6,25% dan 12,5% tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri.

Data hasil penelitian ini menunjukkan bahwa masing masing kelompok penelitian yang telah dilakukan pengujian memiliki perbedaan nilai rata-rata diameter zona hambat. *Povidone iodine* sebagai kontrol positif memiliki rata-rata zona hambat tertinggi dibanding kelompok sampel lain. *Povidone iodine* merupakan antibakteri sintetik yang dapat menghambat berbagai jenis bakteri [8]. Senyawa *iodine* memiliki si-

fat sitotoksik yang mampu membunuh bakteri [9].

Ekastrak etanol daun kamboja putih pada konsentrasi 25% dan 50% mampu menghambat pertumbuhan *S. mutans*. Hal tersebut diduga karena di dalam ekstrak daun kamboja putih terdapat kandungan flavonoid, saponin, alkaloid, dan polifenol yang bersifat antibakteri [10]. Namun pada konsentrasi dibawah 25% tidak terdapat zona hambat yang diduga pada ekstrak dengan konsentrasi dibawah 25% tidak terdapat senyawa aktif yang cukup untuk menghambat pertumbuhan *S. mutans*.

Flavonoid sebagai antimikroba dapat melalui tiga mekanisme kerja yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel, dan menghambat metabolisme energi. Flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri [11]. Mekanisme kerja flavonoid menghambat fungsi membran sel adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler yang dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler [12].

Tanin memiliki aktivitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktivkan adhesin sel mikroba, menginaktivkan enzim, dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel. Tanin juga merusak komponen polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Hal ini menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati [13].

Saponin sebagai antibakteri yaitu dapat menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel. Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar [12]. Saponin berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan kemudian mengikat membran sitoplasma sehingga mengganggu dan mengurangi kestabilan membran sel. Hal ini menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel. Agen antimikroba yang mengganggu membran sitoplasma bersifat bakterisida [13].

Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk se-

cara utuh. Hal tersebut menyebabkan kematian sel [14].

Kandungan senyawa fenol sebagai antimikroba yaitu dengan mendenaturasi protein sel. Ikatan hidrogen yang terbentuk antara fenol dan protein mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Ikatan hidrogen tersebut akan mempengaruhi permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma sebab keduanya tersusun atas protein. Permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma yang terganggu dapat menyebabkan ketidakseimbangan makro- molekul dan ion dalam sel, sehingga sel menjadi lisis [13].

Simpulan dan Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun kamboja putih (*Plumeria acuminata*) memiliki daya antibakteri terhadap pertumbuhan *S. Mutans*. Konsentrasi terkecil dari ekstrak daun kamboja putih (*Plumeria acuminata*) yang masih memiliki daya hambat antibakteri terhadap pertumbuhan *S. mutans* adalah konsentrasi 25%.

Saran untuk penelitian selanjutnya antara lain perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui daya antibakteri kandungan flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid daun kamboja putih terhadap pertumbuhan bakteri *S. mutans*. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kemampuan ekstrak daun kamboja putih terhadap mikroflorapatogen lain yang ada di dalam rongga mulut. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan metode yang berbeda untuk mengetahui perbandingan keefektifan metode yang digunakan. Perlu dilakukan uji biokompatibilitas sebelum dipakai sebagai bahan obat kumur serta uji bakterisid lebih lanjut.

Daftar Pustaka

- [1] Forssten SD, Bjorklund M, & Ouwehand AC. *Streptococcus mutans*, Caries and Simulation Models. Nutrient. 2010. 2: 290-289
- [2] Kidd, EAM. *Essential Of Dental Caries*, New York : Oxford University Press. 2005
- [3] Tanu, I., *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 5, Jakarta: UI Press. 2007

- [4] Yavascan, Onder; Kara, Orhan; Sozen, Gulben. Allergy Dermatitis Caused by Providone Iodine: Uncommon Complication of Chronic Peritoneal Dialysis Treatment. Turkey: SSK Tepecik Teaching Hospital, 2005. Vol. 21
- [5] Trubus. 100 Plus Herbal Indonesia Bukti Ilmiah dan Racikan Vol.11. Jakarta : Trubus Swadaya. 2013.
- [6] Adrian & Sulistyorini, E. Kamboja (*Plumeria acuminata*). http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/?page_id=656 [22 September 2015]
- [7] Jannah, Wardatul; Wahyukundari, Melok; Lestari, Pujiana. Potensi Antimikroba Ekstrak Bunga Kamboja Putih (*Plumeria alba* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri Saliva. Jember : Jurnal Pustaka Kesehatan
- [8] Nurdina, Praharani, Ermawati. Daya Hambat Ekstrak Daun Pare (*Momordica charantia*) Terhadap *Lactobacillus acidophilus*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. 2012.
- [9] Sinaredi, Pradopo, Wibowo. Daya antibakteri obat kumur chlorhexidine, povidone iodine, fluoride suplementasi zinc terhadap, *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis*. Surabaya: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga. 2014.
- [10] Widodo, Ningsih, Aprilia. Aktivitas Antibakteri dan Penyembuhan Luka Fraksi-Fraksi Ekstrak Etanol Daun Kamboja (*Plumeria acuminata* Ait) pada Kulit Kelinci yang Diinfeksi *Staphylococcus aureus*. Jurnal Farmasi Indonesia. 2010. Vol 7 No 2. 73-77.
- [11] Cushnie, T. P. T., dan Lamb, A. J. "Antimicrobial Activity of Flavonoid". International Journal of Antimicrobial Agent. Vol 26: (2005) 343-356.
- [12] Nuria, maulita cut, Faizaitun, Arvin, Sumantri, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha Curcas* L) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Atcc 25923, *Escherichia Coli* Atcc 25922, Dan *Salmonella Typhi* Atcc 1408, Mediagro. 2009. Vol.5: 26 – 37.
- [13] Rijayanti, Luliana, Trianto. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus*. Tanjungpura : Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura. 2014.
- [14] Darsana, I. Besung, I. Mahatmi, H. Potensi Daun Binahong (*Anredera Cordifolia* (Tenore) Steenis) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* secara In Vitro. Indonesia Medicus Veterinus. 2012. 1 (3): 337-351