

Daya Hambat Ekstrak Daun Pare (*Momordica charantia*) Terhadap *Lactobacillus acidophilus*

(*Antibacterial Activity of Pare Leaf (Momordica charantia) Extract Against Lactobacillus acidophilus*)

Yunia Alfi Nurdina, Depi Praharani, Tantin Ermawati
Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember
Jln. Kalimantan 37, Jember 68121
E-mail: -

Abstrak

Karies gigi adalah penyakit gigi dan mulut di Indonesia yang masih membutuhkan perhatian. *Lactobacillus acidophilus* (*L. acidophilus*) merupakan bakteri yang berperan dalam proses karies. Upaya pengendalian aktivitas *L. acidophilus* adalah dengan bahan antibakteri dari alam, salah satunya adalah daun pare. Daun pare mempunyai senyawa flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid, dan alkaloid dengan berbagai mekanisme antibakteri. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui daya hambat ekstrak daun pare terhadap *L. acidophilus*. Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris. Metode yang digunakan adalah metode difusi sumuran (*well diffusion method*) dengan menggunakan 12 sampel untuk setiap kelompok perlakuan. Pada setiap *Petridish* dituangkan MRS-A dan diinokulasikan suspensi *L. acidophilus*, kemudian dibuat 6 lubang sumuran berdiameter 5 mm dengan sedotan steril dan pada setiap lubang sumuran diberi perlakuan dengan memasukkan 5 µL ekstrak daun pare konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, kontrol positif, dan kontrol negatif. Kemudian dimasukkan inkubator dengan suhu 37° C selama 24 jam. Setelah 24 jam, dilakukan pengukuran dan pengamatan pada daerah zona hambat. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak daun pare konsentrasi 100% merupakan konsentrasi terbesar dalam menghambat *L. acidophilus* dibanding ekstrak daun pare konsentrasi lain. Konsentrasi minimal ekstrak daun pare yang masih dapat menghambat *L. acidophilus* adalah 12,5%. Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak daun pare mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan *L. acidophilus*.

Kata Kunci: Daya hambat, daun pare, *Lactobacillus acidophilus*, metode difusi sumuran.

Abstract

Dental caries is a dental and oral health problem that still requires attention in Indonesia. *Lactobacillus acidophilus* (*L. acidophilus*) has a role in the caries process. Efforts to control *L. acidophilus* are to use antibacterial agents from nature, one of these is pare leaf. Pare leaf has flavonoids, saponins, tanins, triterpenoids, and alkaloids that have different antimicrobial action. This experiment is aimed to knowing the antibacterial activity of pare leaf extract against *L. acidophilus*. This is an experimental laboratories. The method of this experiment is well diffusion method with 12 samples for each treatment. *L. acidophilus* inoculated in MRS-A medium, then sterilized straw tubes (diameter, 5 mm) were added to the surfaces of the media and filled with 5 µL of each test substance and its control. Extract concentration used for this experiment were 100%, 50%, 25%, 12,5%, . Then the plates were incubated at 37°C for 24 hours. Zones of inhibition of microbial growth were measured and recorded after the incubation period. The result showed that among various extracts, 100% extract concentration were found to be most effective against *L. acidophilus*. And 12,5% extract concentration has the smallest antimicrobial activity. In conclusion, the extract of pare leaf has antimicrobial activity against *L. acidophilus*.

Keywords: Antibacterial activity, pare leaf, *Lactobacillus acidophilus*, well diffusion method.

Pendahuluan

Masalah kesehatan gigi di Indonesia masih membutuhkan perhatian yang sangat serius. Berdasarkan hasil Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) pada tahun 2001, prevalensi karies gigi di Indonesia telah mencapai 71,20% [1]. Karies gigi adalah penyakit infeksi dan merupakan suatu proses demineralisasi progresif pada

jaringan keras permukaan mahkota dan akar gigi yang disebabkan oleh aktivitas bakteri [2]. Bakteri yang berkaitan dengan terjadinya karies adalah *Streptococcus mutans* dan *Lactobacillus sp* [3]. Spesies yang paling dominan diantara spesies *Lactobacillus* lain dalam menyebabkan karies gigi adalah *Lactobacillus acidophilus*. Oleh karena itu, diperlukan upaya untuk mengendalikan *L. acidophilus*, salah

satunya dengan menggunakan bahan yang bersifat antibakteri.

Saat ini telah banyak dikembangkan penggunaan bahan alami sebagai obat, salah satunya adalah tanaman pare. Ternyata selain buah, daun pare memiliki manfaat bagi kesehatan. Daun pare mengandung berbagai senyawa kimia seperti tanin, flavonoid, saponin, triterpenoid, dan alkaloid. Senyawa-senyawa tersebut dapat bersifat antibakteri terhadap beberapa bakteri patogen rongga mulut [4].

Bahan dan Metode

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah MRS-A (*Mannitol Rogossa and Sharpe-Agar*), MRS-B (*Mannitol Rogossa and Sharpe-Broth*), aquades steril, alkohol 70%, *Betadine Solution*® (PT. Mahakam Beta Farma, Indonesia), etanol 70%, galur murni *L. acidophilus* (Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya), dan daun pare.

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian yang digunakan adalah *the post test only control group design* yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Uji identifikasi tanaman dilakukan di Laboratorium Botani dan Kultur Jaringan Fakultas MIPA Universitas Jember. Pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Jember. *L. acidophilus* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.

Cara membuat ekstrak daun pare adalah daun pare dicuci bersih kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama 3 hari setelah itu dipotong tipis-tipis sehingga diperoleh potongan kasar. Selanjutnya dihaluskan dengan *blender* sampai halus dan diayak. Serbuk halus tersebut dimaserasi dengan direndam dalam etanol 70% selama ± 3 hari kemudian disaring. Setelah itu dipekatkan menggunakan *rotavaporator*, lalu dimasukkan dalam *water bath* pada suhu 150° C untuk menghilangkan kadar air yang masih tersisa sehingga didapatkan ekstrak daun pare konsentrasi 100% dengan konsistensi *semisolid*. Pembuatan ekstrak daun pare dalam berbagai konsentrasi digunakan metode *serial dilution*. Untuk membuat sediaan 50% dilakukan dengan cara mengambil 1 ml sediaan 100% dicampur dengan 1 ml aquades steril. Sediaan 25% dibuat dengan cara mengambil 1 ml sediaan 50% dicampur dengan 1 ml aquades steril. Dan sediaan 12,5% dibuat dengan cara mengambil 1 ml sediaan 25% dicampur dengan 1 ml aquades steril.

Pembuatan suspensi *L. acidophilus* dengan cara satu ose *L. acidophilus* dari galur murni dimasukkan tabung reaksi yang berisi media cair MRS-B sebanyak 2 ml, kemudian tabung tersebut ditutup kapas dan dimasukkan dalam *desicator* untuk mendapatkan suasana fakultatif anaerob. Selanjutnya *desicator* dimasukkan inkubator dengan suhu 37° C selama 24 jam untuk mempertahankan suhu luar *desicator*. Setelah 24 jam suspensi *L. acidophilus* dalam tabung reaksi tersebut dikocok menggunakan *thermolyne* dan diukur tingkat kekeruhannya menggunakan spektrofotometer dengan larutan standar Mc. Farland 0,5.

Setelah itu, mempersiapkan *Petridish* dengan cara masing-masing bagian bawah *Petridish* dibagi menjadi 6 daerah. Tiap daerah diberi kertas label bertuliskan P100 (ekstrak daun pare konsentrasi 100%), P50 (ekstrak daun pare konsentrasi 50%), P25 (ekstrak daun pare konsentrasi 25%), P12,5 (ekstrak daun pare konsentrasi 12,5%), K(+) (kontrol positif), dan K(-) (kontrol negatif). Untuk membedakan 12 *Petridish* tersebut, maka pada bagian tengah diberi nomor urut 1 sampai 12.

Uji daya antibakteri yang digunakan adalah metode difusi sumuran (*well diffusion method*). Pada setiap *Petridish* dituangkan media MRS-A hangat sebanyak 25 ml kemudian suspensi bakteri *L. acidophilus* sebanyak 0,5 ml diinokulasikan pada media tersebut dan diaduk sampai merata dengan gigaskrin. Setelah itu media dibiarkan memadat (media lempeng). Pada setiap media lempeng MRS-A yang telah diinokulasi *L. acidophilus* dibuat 6 lubang sumuran di daerah K(-), K(+), P100, P50, P25, dan P12,5 dengan diameter 5 mm dan kedalaman 4 mm menggunakan sedotan kaku sebagai pengganti borer steril. Kemudian pada masing-masing lubang sumuran dimasukkan 5 μ L berbagai konsentrasi ekstrak daun pare, kontrol positif, dan negatif.

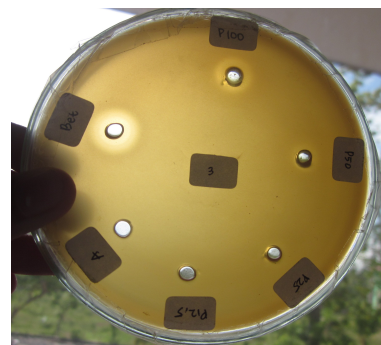
Media lempeng MRS-A yang sudah diinokulasi dengan *L. acidophilus* dan diberi perlakuan dimasukkan *desicator* dan diletakkan dalam inkubator dengan suhu 37° C selama 24 jam. Setelah itu, dilakukan pengamatan dan pengukuran zona hambat, yaitu daerah jernih di sekitar lubang sumuran. Selanjutnya dengan menggunakan jangka sorong, zona hambat diukur diameternya. Pengukuran dilakukan oleh 3 pengamat dan diambil rata-rata dari ketiganya.

Data penelitian dilakukan uji normalitas dengan uji Kolmogorov-Smirnov dan uji homogenitas dengan uji Levene. Apabila kedua uji menunjukkan data normal dan homogen ($p > 0,05$), maka dilakukan uji statistik parametrik dengan Anova satu arah. Tetapi apabila datanya tidak terdistribusi normal dan atau tidak homogen dilanjutkan dengan uji statistik non parametrik Kruskal Wallis ($p < 0,05$).

Hasil

Hasil penelitian tentang daya hambat ekstrak daun pare terhadap *L. acidophilus* dapat dilihat pada Gambar 1 dibawah ini.

Gambar 1 Zona hambat terhadap pertumbuhan *L. acidophilus*



Hasil penelitian daya antibakteri ekstrak daun pare terhadap pertumbuhan *L. acidophilus* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil penghitungan rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan *L. acidophilus*

Kelompok	N	X (mm)	SD
P 100	12	8,8700	0,55834
P 50	12	7,4158	0,47870
P 25	12	6,1625	0,28829
P 12,5	12	5,5783	0,22065
K(+)	12	10,1275	0,50053
K(-)	12	5,0000	0,00000

Keterangan:

N : jumlah sampel

X : nilai rata – rata diameter zona hambat

SD : standar deviasi (simpang baku) diameter zona hambat

P100 : kelompok ekstrak daun pare konsentrasi 100%

P50 : kelompok ekstrak daun pare konsentrasi 50%

P25 : kelompok ekstrak daun pare konsentrasi 25%

P12,5: kelompok ekstrak daun pare konsentrasi 12,5%

K(+): kelompok kontrol positif

K(-) : kelompok kontrol negatif

Pada Tabel 1 dapat dilihat bahwa nilai rata-rata diameter zona hambat yang paling besar adalah pada kelompok kontrol positif yaitu 10,12 mm. Kemudian berturut-turut kelompok ekstrak daun pare konsentrasi 100% dengan 8,87 mm, kelompok ekstrak daun pare konsentrasi 50% dengan 7,41 mm, kelompok ekstrak daun pare konsentrasi 25% dengan 6,16 mm, dan kelompok ekstrak daun pare konsentrasi 12,5% dengan 5,57 mm. Sedangkan kelompok kontrol negatif memiliki nilai rata-rata diameter zona hambat terkecil yaitu 5,00 mm seluas lubang sumuran. Kemudian dilakukan uji normalitas menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov dengan pengambilan keputusan jika nilai $p < 0,05$ maka tidak terdistribusi normal.

Hasil uji normalitas diperoleh nilai signifikansi yang lebih besar dari 0,05 sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa data terdistribusi normal. Setelah data dikatakan normal kemudian dilakukan uji homogenitas varian menggunakan uji Levene. Uji Levene bertujuan untuk menguji apakah setiap varian penelitian ini sama atau homogen. Hasil uji homogenitas diperoleh nilai signifikansi lebih kecil dari 0,05 yang berarti data tidak homogen.

Berdasarkan hasil kedua uji tersebut maka data hasil penelitian ini selanjutnya dianalisis menggunakan uji statistik non parametrik. Untuk mengetahui apakah ada perbedaan diameter zona hambat pada masing-masing kelompok dilakukan uji Kruskal Wallis. Hasil uji Kruskal Wallis diperoleh nilai $\alpha < 0,05$ yaitu 0,000 berarti masing-masing kelompok memiliki perbedaan diameter zona hambat yang signifikan.

Untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda signifikan maka dilakukan uji Mann Whitney. Hasil uji Mann-Whitney menunjukkan bahwa antar kelompok ekstrak daun pare konsentrasi 100%, kelompok ekstrak daun pare konsentrasi 50%, kelompok ekstrak daun pare konsentrasi 25%, kelompok ekstrak daun pare konsentrasi 12,5%,

kelompok kontrol positif, dan kelompok kontrol negatif memiliki perbedaan diameter zona hambat yang signifikan ($\alpha < 0,05$).

Pembahasan

Pengujian daya antibakteri ekstrak daun pare terhadap *L. acidophilus* pada penelitian ini menggunakan metode difusi sumuran (*well diffusion method*) yang diketahui dari adanya zona hambat yaitu daerah jernih di sekeliling lubang sumuran yang menunjukkan terhambatnya pertumbuhan bakteri di daerah tersebut. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak daun pare mempunyai daya antibakteri terhadap *L. acidophilus*. Kemampuan ini dikarenakan bahan tersebut mengandung beberapa komponen seperti flavonoid, tanin, alkaloid, triterpenoid, dan saponin yang memiliki sifat antibakteri [5].

Aktivitas biologis senyawa flavonoid dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara merusak permeabilitas dinding sel bakteri [6]. Mekanisme antibakteri tanin diduga dengan mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati [7].

Saponin juga dapat bekerja sebagai antimikroba, yaitu dengan mengganggu permeabilitas membran sehingga terjadi hemolisis sel, apabila saponin berinteraksi dengan sel bakteri, maka bakteri tersebut akan dapat pecah atau lisis [8]. Alkaloid merupakan senyawa organik yang diduga mempunyai sifat antibakteri. Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri diduga melalui penghambatan sintesis dinding sel yang akan menyebabkan lisis pada sel sehingga sel akan mati. Mekanisme antibakteri senyawa triterpenoid diduga melalui reaksi dengan protein transmembran pada membran luar dinding sel bakteri yang membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya protein transmembran tersebut. Rusaknya protein transmembran yang merupakan jalan keluar masuknya substansi, akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri sehingga sel bakteri akan kekurangan nutrisi yang berakibat pertumbuhannya menjadi terhambat atau bahkan mati [9].

L. acidophilus merupakan bakteri yang berperan pada lesi karies lanjut sehingga bahan antibakteri ini kemungkinan dapat dimanfaatkan sebagai bahan antibakteri tambahan pada *pulp capping* dalam ilmu kedokteran gigi kuratif. Bahan antibakteri tambahan pada *pulp capping* ini digunakan untuk mematikan sisa bakteri yang ada [10]. Bahan tersebut adalah iodoform. Salah satu kompleks iodoform adalah povidone iodine. Kandungan povidone iodine terdapat dalam *Betadine Solution®* yaitu sebesar 10%. Iodine telah diketahui mempunyai efek *broad spectrum* untuk bakteri juga efektif dalam melawan jamur, virus, dan protozoa. Dalam 10% povidone iodine mengandung 1% iodine aktif yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara merusak zat organik bakteri. Bahan ini akan mengubah tegangan permukaan (*surface-active agent*) membran sel bakteri sehingga keutuhan membran sel akan rusak [11].

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kontrol positif yang mengandung povidone iodine 10% memiliki

kemampuan lebih baik dalam menghambat pertumbuhan *L. acidophilus* daripada ekstrak daun pare konsentrasi 100%, 50%, 25%, dan 12,5%. Hal tersebut kemungkinan disebabkan kandungan iodine dalam povidone iodine memiliki aktivitas antibakteri yang lebih baik dari kandungan senyawa dalam ekstrak daun pare karena merupakan senyawa sintesis yang memiliki sifat antibakteri berspektrum luas yang dapat lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Ekstrak daun pare konsentrasi 100% merupakan konsentrasi yang mempunyai daya hambat paling efektif terhadap *L. acidophilus* dibanding ekstrak daun pare konsentrasi 50%, 25%, dan 12,5%. Kemampuan suatu bahan antibakteri dalam meniadakan kemampuan hidup mikroorganisme tergantung pada konsentrasi bahan antibakteri itu. Jumlah bahan antibakteri dalam suatu lingkungan bakteri sangat menentukan kehidupan bakteri yang terpapar [7]. Besarnya daya hambat ekstrak daun pare konsentrasi 100% ini kemungkinan disebabkan masih banyaknya senyawa-senyawa antibakteri yang aktif dalam ekstrak daun pare sehingga konsentrasi ini mempunyai daya antibakteri paling efektif dalam menghambat *L. acidophilus* dibanding konsentrasi lainnya. Semakin tinggi konsentrasi suatu bahan antibakteri maka aktivitas dalam menghambat bakteri akan semakin besar pula [6]. Hasil penelitian ini diperoleh konsentrasi minimal ekstrak daun pare yang masih mempunyai daya hambat terhadap *L. acidophilus* adalah konsentrasi 12,5% karena diameter zona hambat secara signifikan lebih besar daripada diameter zona hambat kontrol negatif yang sama sekali tidak memiliki daya hambat.

Kesimpulan dan Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun pare (*Momordica charantia*) mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan *L. acidophilus* dan konsentrasi minimal ekstrak daun pare yang masih mempunyai daya hambat terhadap *L. acidophilus* adalah konsentrasi 12,5%.

Beberapa saran yang mungkin bermanfaat bagi penelitian mendatang, yaitu perlu adanya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kemampuan ekstrak daun pare dalam menghambat pertumbuhan mikroflora lain yang patogen dalam rongga mulut dan perlu penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh ekstrak daun pare sebagai bahan antibakteri tambahan pada *pulp capping*.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dr. drg. Purwanto, M. Kes. selaku Dosen Penguji Ketua, dan drg. Pujiana Endah L., M. Kes. selaku Dosen Penguji Anggota. Selain itu ucapan terima kasih kepada seluruh staf Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, seluruh staf Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember, dan seluruh staf Laboratorium Botani Fakultas MIPA Universitas Jember.

Daftar Pustaka

- [1] Indirawati. 2010. *Angka Koreksi Caries Experience di Kabupaten Ketapang Propinsi Kalimantan Barat dan Kabupaten Kulon Progo Propinsi Daerah Istimewa Yogyakarta*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- [2] Angela, A. 2005. Pencegahan Primer pada Anak yang Beresiko Karies Tinggi. *Majalah Kedokteran Gigi (Dent. J.)*. Vol. 38 (30): 130-134.
- [3] Pratiwi, D. 2009. *Gigi Sehat dan Cantik: Perawatan Praktis Sehari-hari*. Jakarta: PT. Kompas Media Nusantara.
- [4] Roopashree, Dang, Rani, dan Narendra. 2008. Antibacterial Activity of Antipsoriatic Herbs: *Cassia tora*, *Momordica charantia*, and *Calendula officinalis*. *International Journal of Applied Research in Natural Products*. Vol. 1 (3): 20-28.
- [5] Costa, Nascimento, Campos, dan Rodrigues. 2011. Antibacterial Activity of *Momordica charantia* (*Curcubitaceae*) Extracts and Fractions. *Journal of Basic and Clinical Pharmacy*. Vol. 2 (1): 45-51.
- [6] Sabir, A. 2005. Aktivitas Antibakteri Flavonoid Propolis *Trigona* sp terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* (in vitro). *Majalah Kedokteran Gigi (Dent. J.)*. Vol. 38 (3): 135-141.
- [7] Ajizah, A. 2004. Sensitivitas *Salmonella Typhimurium* terhadap Ekstrak Daun *Psidium guajava* L. *Bioscientiae*. Vol. 1 (1): 31-38.
- [8] Poeloengan, M. dan Pratiwi. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* Linn). *Media Litbang Kesehatan*. Vol. 20 (2): 65-69.
- [9] Gunawan, I.W.G., Bawa, I.G.A., dan Sutrisnayati, N.I. 2008. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Terpenoid yang Aktif Antibakteri pada Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn). *Jurnal Kimia*. Vol. 2 (1): 31-39.
- [10] Kidd, E. A. M. dan Bechal, S. J. *Dasar-Dasar Karies Penyakit dan Penanggulangannya*. Alih bahasa oleh Narlan Sumawinata dan Safrida Faruk. 1991. Jakarta: EGC.
- [11] Departemen Farmakologi dan Terapeutik FKUI. 2007. *Farmakologi dan Terapi Edisi 5*. Jakarta: Gaya Baru.