

Daya Hambat Ekstrak Daun Kamboja Putih (*Plumeria acuminata*) Terhadap *Streptococcus mutans*

(The Inhibitory of White Frangipani leaves (*Plumeria acuminata*) Extract against *Streptococcus mutans*)

Affian Hudatama Putra¹, Yani Corvianindya², Melok Aris Wahyukundari³

¹Mahasiswa Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

²Bagian Ilmu Kedokteran Gigi Dasar Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

³Bagian Periodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Korespondensi: Affian Hudatama Putra. Email. Affianhudatama@gmail.com

ABSTRACT

Background: Most of carries were caused by *Streptococcus mutans*. White frangipani leaves ethanol extract were alleged to control the growth of *Streptococcus mutans*. This extract contains antibacterial compound such as flavonoid, saponin, tannin, and alkaloid. **Purpose:** This study was to find out antibacterial activity of white frangipani leaves ethanol extract against the growth of *Streptococcus mutans*. **Method:** This study was well diffusion method with 6 treatment groups. Each petridish was filled BHI-A and inoculated by *S. mutans* followed by making 6 wells using the borer (diameter 5 mm). Extracts 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, positive and negative control were added into the wells at concentration of 20 μ L for each material. Then the incubation was carried out at a temperature of 37°C for 24 hours then inhibitory zones were measured. **Results:** this study showed that there were inhibitory zones in positive control, extract 50%, and 25% treatment groups and weren't inhibitory zones in negative control, extract 12.5%, and 6.25%. **Conclusion:** White frangipani leaves ethanol extract has antibacterial activity against the growth of *Streptococcus mutans* with minimum inhibitory concentration of 25%.

Keywords: Antibacterial activity, *Streptococcus mutans*, Well diffusion method, White frangipani leaves extract.

Pendahuluan

Streptococcus mutans (*S. mutans*) adalah bakteri utama penyebab karies gigi. Bakteri ini dapat dengan mudah melekat pada permukaan gigi¹. *S. 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 gigi².

Pertumbuhan bakteri *S. mutans* dapat dikendalikan dengan bahan antibakteri³. Bahan antibakteri bisa didapat dari bahan alami maupun bahan sintetik. Antibakteri sintetik yang sering digunakan ialah *providone iodine*. *Providone 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 putih⁴.

Daun kamboja putih sudah sering digunakan untuk mengobati dakit gigi, namun masih belum ada penjelasan bagaimana mekanisme kerja daun kamboja dalam menghentikan sakit gigi⁵. Daun kamboja putih memiliki kandungan antibakteri seperti flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid⁶. Daun ini juga telah diketahui memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan

bakteri saliva⁷. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan antibakteri daun kamboja putih terhadap pertumbuhan *S. mutans*.

Metode Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimen laboratorium, 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 steril, *Povidone iodine*, dan ekstrak daun kamboja putih segar, berwarna hijau, berukuran 15-20 cm, adipetik pada saat fotosintesis sempurna yaitu pada pagi hari atau sore hari, ditandai oleh banyaknya bunga dalam satu pohon dan diambil di lokasi yang sama, yaitu di halaman Universitas Jember. Sampel pada penelitian ini dibagi menjadi 6 kelompok sampel, yaitu kelompok kontrol negatif (aquades steril), kontrol positif (*providone 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 identifikasi tanaman kamboja berupa ujung batang kamboja beserta daun dan bunga di Laboratorium Botani dan Kultur Jaringan Jurusan Biologi Fakultas MIPA. Sterilisasi alat dan pembuatan ekstrak daun kamboja putih. Daun kamboja segar yang telah dipetik dicuci bersih dengan menggunakan air bersih dan ditiriskan, kemudian dikeringkan dengan diangin-

inginkan selama beberapa hari hingga layu kemudian dikeringkan dengan oven hingga kering sempurna. Daun kering tersebut dihaluskan dengan menggunakan mesin penggiling dan ditimbang simplisia halusya. Penimbangan dilakukan untuk menentukan jumlah larutan penyari yang akan digunakan. Setelah itu dilakukan proses maserasi 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. Mempersiapkan media BHI-B untuk pembuatan suspensi *S. mutans*, setelah dilakukan pembuatan media BHI-B lalu dimasukkan 1 ose isolat *S. mutans* dan diinkubasi dalam desikator selama 24 jam supaya bakteri tumbuh pada media, kemudian dilakukan vibrasi dengan menggunakan *thermolyne* dan diukur serta disetarakan nilai absorbansinya dengan standar absorbansi (0,5 *Mc Farland*). Sebelum melakukan penelitian, terlebih dahulu dilakukan uji identifikasi bakteri dengan pewarnaan Gram. Hasil uji identifikasi terhadap *S. mutans* antara lain bakteri ini berwarna ungu yang menunjukkan bakteri adalah bakteri gram positif, berbentuk kokus dengan susunan berantai, dan tidak terdapat kontaminasi.

Persiapan media bakteri *S. mutans* dengan pembuatan media BHI-A dengan mencampurkan bubuk BHI-A dengan aquades steril sesuai takaran. Kemudian dipanaskan di atas kompor dengan diaduk hingga homogen. BHI-A dituangkan pada masing-masing petridish dan ditambahkan 0,5 ml suspensi *S. mutans*.

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 *stainless-steel* 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 ke 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 membalik *petridish*, kemudian penghitungan dilakukan dengan cara diameter terluar daerah jernih.⁸

Data penelitian dilakukan normalitas dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* dan homogenitas dengan uji *Levene*. Apabila hasil uji menunjukkan data terdistribusi normal dan homogen ($p > 0,05$) maka dilakukan uji statistik parametrik. Apabila hasil uji menunjukkan data tidak terdistribusi normal dan/atau tidak homogen maka dapat dilakukan uji statistik nonparametrik.

Hasil Penelitian

Hasil penelitian tentang daya hambat ekstrak daun kamboja putih terhadap pertumbuhan *S. mutans* ditunjukkan pada Tabel 1, dimana diameter zona hambat berturut-turut dari yang terbesar adalah kontrol positif, kelompok M50, dan kelompok M25.

Hasil uji *Kolmogorov-Smirnov* menunjukkan bahwa data terdistribusi normal ($p > 0,05$). Uji homogenitas menunjukkan data tidak homogen ($p < 0,05$). Data dianalisis menggunakan uji non parametrik *Kruskal-Wallis*, untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan daya hambat pada seluruh kelompok perlakuan.

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

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

Keterangan:

n : Jumlah sampel

x : Rerata

Hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna pada nilai daya hambat antar kelompok perlakuan ($p < 0,05$). 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 kelompok penelitian. Uji *Mann-Whitney* dilakukan 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*, rerata zona hambat antara ekstrak etanol daun kamboja antara kelompok M12,5 dengan M6,25, M12,5 dengan K(-), M6,25 dengan K(-) tidak terdapat perbedaan yang signifikan. 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. *Povidone iodine* merupakan antibakteri yang memiliki sifat antibakteri spektrum luas yang dapat menghambat berbagai jenis bakteri. Mekanisme kerja *Povidone*

iodine dimana *povidone* membawa *iodine* bebas masuk menembus membran sel. Senyawa *iodine* memiliki sifat sitotoksik yang mampu membunuh bakteri⁹.

Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan pengujian daya antibakteri krim daun kamboja secara *in-vivo* pada tikus yang telah diinfeksi bakteri *Staphylococcus aureus*. Terbukti krim fraksi n-heksan, etil asetat dan etanol dari ekstrak etil asetat daun kamboja mampu menyembuhkan luka pada punggung kelinci yang sudah diinfeksi dengan *Staphylococcus aureus* dengan fraksi yang mempunyai aktivitas paling tinggi adalah fraksi etil asetat. Hal tersebut dikarenakan di dalam daun kamboja putih terdapat kandungan flavonoid, saponin, alkaloid, dan polifenol¹⁰.

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 bakteri¹¹. Mekanisme kerja flavonoid menghambat fungsi membran sel adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri yang diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler¹².

Mekanisme kerja tanin sebagai antimikroba yaitu dengan cara menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk¹². Enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sel bakteri tidak dapat terbentuk oleh kapasitas pengikat besi yang kuat oleh tanin

dimana Mikroorganisme yang tumbuh di bawah kondisi aerobik membutuhkan zat besi untuk berbagai fungsi. 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 mati¹³.

Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar¹². 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 bakterisida¹³.

Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh. Hal tersebut menyebabkan kematian sel¹⁴. 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 lisis¹³.

Kesimpulan

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 adalah mengevaluasi daya antibakteri kandungan flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid daun kamboja putih terhadap pertumbuhan bakteri *S. Mutans*, serta mengetahui kemampuan ekstrak daun kamboja putih terhadap mikroflorapatogen lain yang ada di dalam rongga mulut. Penelitian dengan menggunakan metode yang berbeda juga diperlukan untuk mengetahui perbandingan keefektifan metode yang digunakan. Hasil penelitian ini selanjutnya masih diperlukan uji biokompatibilitas sebelum dipakai sebagai bahan obat kumur.

Daftar Pustaka

1. Forssten SD, Bjorklund M, dan 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 O, Kara O, dan Sozen G. Allergy Dermatitis Caused by Providone Iodine: Uncommon Compilation of Chronic Peritoneal Dialysis Treatment. *Turkey: SSK Tepecik Teaching Hospital* 2005; 21.
5. PT. Trubus Swadaya. 100 Plus Herbal Indonesia Bukti Ilmiah dan

- Racikan Vol.11. Jakarta: PT. Trubus Swadaya. 2013.
6. Adrian dan Sulistyorini E. Kamboja (*Plumeria acuminata*). http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/?page_id=656. Diakses pada 22 September 2015.
 7. Jannah W, Wahyukundari M, dan Lestari PE. Potensi Antimikroba Ekstrak Bunga Kamboja Putih (*Plumeria alba* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri Saliva. *Jurnal Pustaka Kesehatan* 2015; 1-7.
 8. Nurdina, Praharani D, Ermawati T. Daya Hambat Ekstrak Daun Pare (*Momordica charantia*) Terhadap *Lactobacillus acidophilus*. *Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa* 2012; 1-4.
 9. Sinaredi, Pradopo Wibowo. Daya antibakteri obat kumur chlorhexidine, povidone iodine, fluoride suplementasi zinc terhadap, *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis*. *Dent. J. (Maj. Ked. Gigi)* 2014; 47(4): 211-214.
 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; 7(2): 73-77.
 11. Cushnie TPT dan Lamb AJ. Antimicrobial Activity of Flavonoid. *International Journal of Antimicrobial Agent* 2005; 26: 343-356.
 12. Nuria CM, Faizaitun A, dan 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; 5: 26 – 37.
 13. Rijayanti, Luliana Trianto. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura. 2014.
 14. Darsana I, Besung I, dan Mahatmi H. Potensi Daun Binahong (*Anredera Cordifolia* (Tenore) Steenis) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* secara In Vitro. *Indonesia Medicus Veterinus* 2012; 1: 337-351