

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) Terhadap Pertumbuhan *Enterococcus faecalis*

(Antibacterial Activities of *Muntingia calabura L.* Leaves Ethanol Extracts against *Enterococcus faecalis*)

Pungky Anggraini¹, Atik Kurniawati², Melok Aris Wahyukundari³

¹Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

²Bagian Ilmu Kedokteran Gigi Dasar Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

³Bagian Periodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Korespondensi: Pungky Anggraini. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember Jln. Kalimantan 37, Jember 68121. Email korespondensi: pungkytungky@yahoo.co.id

ABSTRACT

Background: Pulp necrotic means the death of the dental pulp. The required treatment for this case is root canal treatment. The failures of this treatment are generally due to the inadequate sterilization of the canal, causing re-infection. The infection is inseparable from the role of bacteria, specifically *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*). These bacteria are commonly found inside the obturated root canal and acted as a marker of chronic apical periodontitis. Ethanol extract of the Jamaican cherry leaves (*Muntingia calabura L.*) possesses a numerous benefits, one of which is as an antibacterial agent. **Purpose:** To acknowledge the antibacterial activity of ethanol extract of Jamaican cherry leaves and its minimum inhibitory concentration on *E. faecalis*. **Methods:** The well diffusion method was used to test the antibacterial effect. The positive control group (K(+)) was ChKM, negative control (K(-)) was sterile distilled water, and the treatment group was the Jamaican cherry leaves ethanol extract (EDK) with the concentration of 12.5%, 25%, 50% and 100 %. The extract was obtained from maceration with 96% ethanol. Following the experiment, the inhibition zones formed around the well's hole were measured with a digital caliper. **Conclusions:** The result of Kruskal-Wallis test showed a significant difference with $p < 0.05$. The result of Mann-Whitney test showed no significant differences between the groups K(+) with EDK100, K(+) with EDK50, EDK12,5 with EDK25 marked with $p > 0.05$. Based on the experiment performed, the Jamaican cherry leaves extract has an antibacterial effect towards *E. faecalis* with minimum inhibitory concentration of 12,5%.

Keywords: ethanol extract of Jamaican cherry leaves, enterococcus faecalis, pulp necrotic, root canal treatment

Pendahuluan

Nekrosis pulpa adalah kematian pulpa. Penatalaksanaan yang dilakukan untuk nekrosis pulpa adalah perawatan saluran akar.¹ Kegagalan perawatan dapat disebabkan karena kesalahan saat proses sterilisasi saluran akar sehingga menyebabkan infeksi ulang. Infeksi yang terjadi juga tak lepas dari peran bakteri, khususnya *E. faecalis*.² Bakteri *E. faecalis* juga biasa ditemukan dalam saluran akar yang telah diobtulasi dan menjadi penanda adanya periodontitis apikal kronis.³ Mikroorganisme

pada infeksi ulang pasca perawatan saluran akar dapat diminimalkan dan dibunuh dengan obat sterilisasi yang mengandung daya antibakteri.⁴

Kebanyakan pada perawatan saluran akar digunakan obat sterilisasi saluran akar Chlorophenol Kamfer Menthol (ChKM). ChKM merupakan medikamen saluran akar yang baik terutama dalam mengeliminasi *E. faecalis*. Disamping kelebihan yang dimilikinya, ChKM mempunyai sifat biokompatibilitas yang masih dipertanyakan serta dapat

menimbulkan efek toksik.⁵ Saat ini sudah banyak dikembangkan antibakteri dari bahan alami yang mudah didapatkan. Salah satu bahan alam yang merupakan tanaman obat yang sangat penting dan dimanfaatkan sebagai obat adalah kersen atau talok.

Kersen yang memiliki nama latin *Muntingia calabura L.* keberadaannya sangat familiar di mata masyarakat. Sebenarnya tanaman ini mempunyai manfaat kesehatan yang sangat berguna. Daun kersen sering digunakan oleh masyarakat sebagai peluruh dahak batuk produktif yang menambah fungsi pohon kersen selain buah dan batangnya.⁶

Mayoritas masyarakat menganggap bahwa kersen adalah tanaman liar dan cenderung untuk ditebang. Hal ini disebabkan banyak orang yang belum mengetahui kandungan dalam daun dan buah kersen.⁶ Berdasarkan hasil uji fitokimia yang telah dilakukan, daun kersen secara kualitatif mengandung senyawa flavonoid, terpenoid, tanin, saponin dan steroid.⁷

Penelitian tentang daun kersen yang pernah dilakukan adalah ekstrak etanol daun kersen menghambat aktivitas glukosiltransferase (GTF) pada *Streptococcus mutans* [8]. Penelitian lain yang pernah dilakukan mengemukakan bahwa ekstrak etanol daun kersen mempunyai daya untuk menghambat pertumbuhan koloni bakteri uji yaitu *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*.⁶

Peneliti ingin mengetahui daya hambat ekstrak etanol daun kersen terhadap pertumbuhan *E. faecalis* dan konsentrasi yang masih mampu menghambat pertumbuhan *E. faecalis* dengan menelaah kandungan yang terdapat dalam

daun kersen dan hasil penelitian terdahulu.

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan penelitian *the post test only control group design*. Penelitian dilakukan pada bulan Oktober sampai dengan November 2015 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Daun kersen yang digunakan pada penelitian diperoleh dari satu pohon yang sama di lahan parkir belakang RSGM Fakultas Kedokteran Gigi UNEJ. Daun dalam kondisi segar, bebas kontaminasi hama, dipetik saat fotosintesis maksimal, yaitu pada sore hari dan daun yang tua, yaitu daun pada urutan ke-5 dari pucuk, daun ke-6 dan seterusnya hingga daun berada pada posisi paling bawah.^{6,8} Besar sampel dalam penelitian ini adalah sebanyak 8 sampel untuk setiap kelompok penelitian. Sampel terbagi ke dalam 6 kelompok yaitu kelompok kontrol positif (*ChKM*), kontrol negatif (akuades steril), EDK12,5 (konsentrasi 12,5%), perlakuan EDK25 (konsentrasi 25%), perlakuan EDK50 (konsentrasi 50%), perlakuan EDK100 (konsentrasi 100%).

Daun kersen sebanyak 1,2 kg dicuci bersih dengan air dan ditiriskan, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada suhu kamar selama 2x24 jam sampai kering, setelah itu daun dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 40°C selama 2x24 jam.

Daun kersen yang telah dioven kemudian digiling dengan mesin penggiling ayakan 80 mesh hingga menjadi bubuk halus kemudian ditimbang, didapat serbuk simplisia sebanyak 150 gram. Kemudian bubuk halus 150 gram dimaserasi dengan perbandingan

bobot sampel dibanding pelarut adalah 1:7,5. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96% sebanyak 1125 ml dan diaduk dengan menggunakan pengaduk selama 10 menit sampai larutan homogen. Larutan yang telah diaduk diendapkan selama 3x24 jam. Setelah dimaserasi selama 3x24 jam kemudian disaring menggunakan kertas saring dan corong filtrat, sehingga akan diperoleh hasil saringan berupa filtrat.

Filtrat kemudian diuapkan dengan tujuan membebaskan dari pelarut etanol menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 45°-50°C dengan kecepatan 180 rpm sehingga diperoleh ekstrak kental sebanyak 17,96 gram. Setelah itu dioven kembali untuk menghilangkan kadar airnya pada suhu 40°C selama 12 jam.

Hasil akhir didapatkan ekstrak dengan konsentrasi 100% dengan konsistensi *semi solid*. Selanjutnya dilakukan pembagian konsentrasi ekstrak untuk kelompok perlakuan 12,5%, 25%, 50% dan 100% menggunakan metode pengenceran seri (*serial dilution*). Penelitian ini menggunakan perbandingan 1:1 (gr/ml) untuk kelompok perlakuan konsentrasi 100%, perbandingan 0,5:1 (gr/ml) untuk kelompok perlakuan konsentrasi 50%, perbandingan 0,25:1 (gr/ml) untuk kelompok perlakuan konsentrasi 25%, dan perbandingan 0,125:1 (gr/ml) untuk kelompok perlakuan konsentrasi 12,5%.

Media *Brain Heart Infusion-Agar* (BHI-A) yang telah diinokulasikan dengan *E. faecalis* pada petridish diberi label, kemudian dibuat lubang sumuran

dengan diameter 5 mm. Kemudian ditetesi kontrol positif *ChKM*, kontrol negatif akuades steril dan kelompok perlakuan ekstrak etanol daun kersen dengan beberapa konsentrasi masing-masing sebanyak 20 µl ke dalam lubang sumuran. Petridish diinkubasi ke dalam desikator kaca untuk memperoleh suasana anaerob selama 24 jam. Keesokan harinya dilakukan pengamatan dan pengukuran diameter zona hambat dengan menggunakan jangka sorong digital. Pengukuran dilakukan oleh tiga orang pengamat dan dilakukan dengan cara mengambil rata-rata dari pengukuran masing-masing pengamat. Diameter zona hambat dihitung dari tepi (*break point*) ke tepi (*break point*) yang bersebrangan melewati pusat lubang sumuran. Apabila tidak terdapat zona hambat disekitar lubang sumuran, maka dinyatakan diameter zona hambatnya adalah 0,00 mm.

Hasil Penelitian

Penelitian mengenai daya hambat ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura L.*) terhadap pertumbuhan *E. faecalis* telah dilakukan dengan menggunakan sampel yang terdiri dari kelompok kontrol positif (*ChKM*), kelompok kontrol negatif (akuades steril), dan 4 kelompok perlakuan (ekstrak etanol daun kersen dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, dan 12,5%). Pada penelitian ini digunakan besar sampel sebanyak 8 sampel. Berdasarkan pengamatan dan pengukuran zona hambat yang dilakukan (lihat Gambar 1), didapatkan rerata zona hambat yang disajikan pada Tabel 1 dan Gambar 2.



Gambar 1. Pengukuran zona hambat. Lingkaran hijau adalah pengukuran zona hambat ekstrak etanol daun kersen konsentrasi 100% menggunakan jangka sorong digital.

Tabel 1. Nilai Rata-Rata Zona Hambat pada Pertumbuhan *E. faecalis*

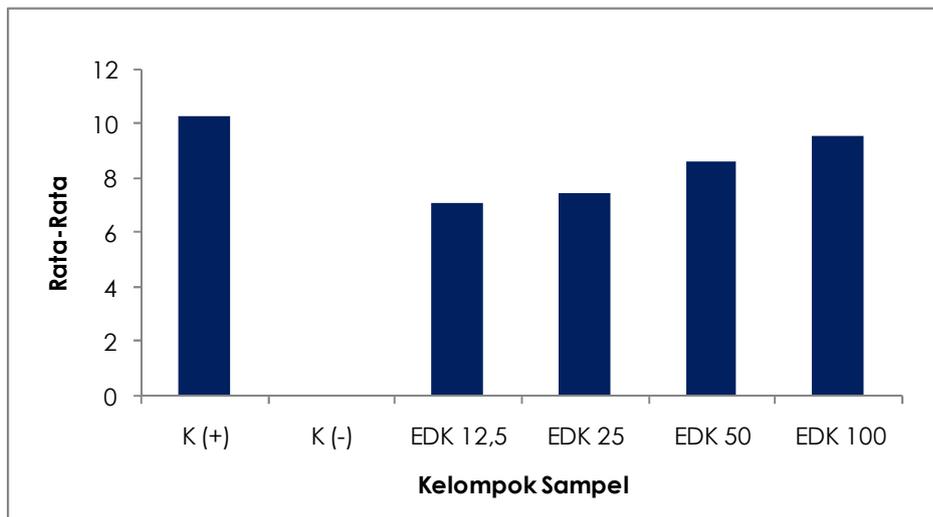
Kelompok penelitian	N	Rata-rata±SD
K (+)	8	10,30±2,80
K (-)	8	0,00±0,00
EDK12,5	8	7,08±0,65
EDK25	8	7,43±0,56
EDK50	8	8,64±0,59
EDK100	8	9,56±0,59

Keterangan:

N : Jumlah sampel

SD : Simpangan Baku

EDK : Ekstrak Etanol Daun Kersen



Gambar 2. Diagram batang rata-rata zona hambat pertumbuhan *E. faecalis*

K(+): kontrol positif ChKM; K(-): kontrol negatif akuades steril; EDK12,5: ekstrak etanol daun kersen konsentrasi 12,5%; EDK25: ekstrak etanol daun kersen konsentrasi 25%; EDK50: ekstrak etanol daun kersen konsentrasi 50%; EDK100: ekstrak etanol daun kersen konsentrasi 100%

Data hasil penelitian dilakukan uji normalitas Kolmogorov-Smirnov dan didapatkan nilai $p > 0,05$ pada setiap kelompok, sehingga dapat dinyatakan bahwa data terdistribusi normal. Kemudian dilakukan uji homogenitas menggunakan uji Levene Test dan didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,006 ($p < 0,05$) maka dapat dikatakan bahwa data tidak homogen. Setelah diketahui bahwa data tidak homogen maka dilakukan uji nonparametrik berupa uji Kruskal Wallis dan uji Mann-Whitney. Hasil uji Kruskal Wallis menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$), sehingga dapat dinyatakan bahwa terdapat signifikansi pada seluruh kelompok penelitian.

Uji Mann-Whitney bertujuan untuk mengetahui perbedaan antar kelompok sampel. Hasil uji Mann-Whitney menunjukkan tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok K(+) dengan EDK100, K(+) dengan EDK50, EDK12,5 dengan EDK25 yang ditandai dengan ditunjukkan dengan $p > 0,05$.

Pembahasan

Metode uji antibakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode difusi sumuran (*well diffusion*). Metode difusi sumuran ini dipilih agar peneliti dapat melihat tingkat sensitifitas dari *E. faecalis* terhadap ekstrak etanol daun kersen. Metode difusi merupakan metode umum yang praktis serta mudah dalam menguji kepekaan antibakteri terhadap bakteri aerob maupun bakteri fakultatif anaerob, cepat dalam pembacaan hasil dan murah, sehingga cocok untuk digunakan didalam penelitian.¹⁰ Metode difusi sesuai dengan sifat *E. faecalis* yaitu fakultatif anaerob.

Bahan antibakteri yang akan diuji dalam penelitian ini adalah daun kersen (*Muntingia calabura L.*)

yang diekstrak dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Penggunaan pelarut etanol pada ekstraksi ini akan memperlihatkan perubahan warna yang tidak merusak komponen dari daun, etanol juga mempunyai titik didih yang rendah dan cenderung aman, tidak beracun dan tidak berbahaya. Pelarut etanol memiliki gugus -OH yang bersifat polar (mampu mengekstrak senyawa tanin, komponen fenolik, karotenoid, gula, asam amino).¹¹

Metode maserasi digunakan karena dapat menghasilkan diameter zona hambat yang lebih besar serta dapat mencegah kemungkinan terjadinya kerusakan senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak karena metode maserasi tidak menggunakan panas.¹²

Pada diagram batang nilai rata-rata zona hambat pertumbuhan *E. faecalis* (Gambar 2) diketahui bahwa grafik berbanding lurus antara konsentrasi ekstrak dan zona hambat yang dihasilkan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Brooks *et al.* (2007), bahwa efektivitas suatu zat antibakteri dipengaruhi oleh konsentrasi zat yang diberikan, semakin tinggi konsentrasi semakin tinggi pula bahan aktif sebagai antibakteri sehingga meningkatkan kemampuan daya hambatnya terhadap mikroba.¹³ ChKM sebagai kontrol positif memiliki rata-rata zona hambat tertinggi dibanding kelompok sampel lain. Komponen utama ChKM yakni *para-klorophenol* merupakan medikamen intrakanal golongan fenol.¹⁴ Mekanisme kerja ChKM adalah antimikroba yang menghambat sintesis protein sel mikroba.¹⁵

Hasil analisis data menunjukkan data berdistribusi normal, namun tidak homogen karena pada uji Levene didapatkan nilai signifikansi kurang dari 0,05. Hasil

uji nonparametrik *Kruskal Wallis* didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,000. Nilai $p < 0,05$ menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada seluruh kelompok penelitian. Sehingga dapat dinyatakan bahwa ekstrak etanol daun kersen memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *E. faecalis*.

Hasil uji *Mann-Whitney* (lihat Tabel. 2), rata-rata zona hambat antara ekstrak etanol daun kersen antara kelompok K(+) dengan EDK50, K(+) dengan EDK100, EDK12,5 dengan EDK25 tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Hal tersebut dikarenakan rata-rata diameter zona hambat antara kedua kelompok sampel memiliki nilai yang tidak bermakna. Artinya bahwa kelompok sampel K(+) mempunyai jumlah kandungan zat aktif yang mempunyai kemampuan menghambat bakteri *E. faecalis* setara dengan rata-rata zona hambat kelompok sampel EDK50 dan EDK100, begitu pula kelompok sampel EDK12,5 dengan kelompok sampel EDK25. Hal ini diduga karena ekstrak etanol daun kersen memiliki senyawa aktif golongan fenol yaitu flavonoid dan tannin.^{16,17}

Mekanisme kerja flavonoid sebagai senyawa antibakteri adalah menghambat sintesis asam nukleat adalah dengan menghambat pembentukan DNA dan RNA. Hal ini menyebabkan penumpukan basa asam nukleat, dan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, lisosom, serta mikrosom.¹⁸ Mekanisme dalam menghambat fungsi membran sel adalah dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut yang menyebabkan rusaknya membrane sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler.¹⁹ Sedangkan mekanisme flavonoid dalam menghambat metabolisme energi adalah dengan cara menghambat sitokrom C

reduktase dan menghambat penggunaan oksigen pada bakteri. Padahal energi dibutuhkan bakteri dalam melakukan biosintesis makromolekul.¹⁸

Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk.²⁰ Tanin juga mempunyai target pada 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.²¹ Tanin memiliki aktivitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktifkan adhesin sel mikroba juga menginaktifkan enzim, dan mengganggu transport protein pada pada lapisan dalam sel.¹⁷

Kesimpulan

Hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan ekstrak etanol daun kersen memiliki daya antibakteri terhadap pertumbuhan *E. faecalis*. Konsentrasi terkecil yang masih memiliki daya hambat antibakteri terhadap pertumbuhan *E. faecalis* adalah konsentrasi 12,5%.

Saran penelitian yaitu perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kemampuan ekstrak etanol daun kersen terhadap mikroflora lain yang ada di dalam rongga mulut, pembuatan ekstrak etanol daun kersen menggunakan metode yang berbeda untuk mengetahui perbandingan keefektifan metode yang digunakan, uji biokompatibilitas sebelum dipakai sebagai bahan medikamen saluran akar.

Daftar Pustaka

1. Setyaningsih, L. S., Lestari, S., dan Fatmawati, D. W. A. "Prevalensi

- Indikasi Perawatan Endodonsia Pasien yang Berkunjung di RSGM UNEJ Tahun 2015." Tidak Diterbitkan. Jurnal 2015. Jember: Program Sarjana Universitas Jember.
2. Santoso, M. L., Sudirman, A., dan Setyowati, L. Konsentrasi Hambat Minimum Larutan Propolis terhadap Bakteri *Enterococcus faecalis*. Jurnal PDGI 2012; ISSN NO. 0024-9548. 61 (3): 96-101.
 3. Nurdin, D., dan Satari, M. H. Peranan *Enterococcus faecalis* terhadap Persistensi Infeksi Saluran Akar. PROSIDING Dies Forum 52 Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran 2011; 69-76.
 4. Stuart, Schwartz, Beeson, & Owatz. "Enterococcus faecalis: Its Role in Root Canal Treatment Failure and Current Concepts in Retreatment". Journal of Endodontic 2006; 32 (2): 93-8.
 5. Dammaschke, Jung, Harks, dan Schafer. The effect of different root canal medicaments on the elimination of *Enterococcus faecalis* ex vivo. European J. of Dent 2013; 7 (4): 442-8.
 6. Arum, Y. P., Supartono, dan Sudarmin. Isolasi dan Uji Daya Antimikroba Ekstrak etanol daun kersen. Jurnal MIPA UNNES 2012; ISSN NO. 0215-9945. 35 (2): 165-74.
 7. Kuntorini, E. M., Fitriana, S., dan Astuti, M. D. Struktur Anatomi dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kersen (*Muntingia calabura*). Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung 2013; 291-6.
 8. Isnarianti, R., Wahyudi, I. A., dan Puspita, R. M. *Muntingia calabura* L Leaves Extract Inhibits Glucosyltransferase Activity of *Streptococcus mutans*. Journal of Dentistry Indonesia 2013; 20 (3): 59-63.
 9. Suyitno. "Faktor-faktor Fotosintesis." Tidak Diterbitkan. Makalah 2006. Yogyakarta: Jurusan Pendidikan Biologi FMIPA Universitas Negeri Yogyakarta.
 10. Faatih, M. Aktivitas Anti-Mikrobia Kokon (*Attacus atlas*, L.). J. Penelitian Sains & Teknologi 2005; 6 (1): 35 - 48.
 11. Azis, T., Febrizky, S., dan Mario, A. D. Pengaruh Jenis Pelarut terhadap Persen Yieldalkaloid dari Daun Salam India (*Murraya koenigii*). J. Tek. Kim. 2014; 20 (2): 1-6.
 12. Asmardi, A., Roza, R. M., dan Fitmawati. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun *Cyclea barbata* (L.) Miers Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*. JOM FMIPA. 2014; 1(2): 1-9.
 13. Brooks, G. F., Butel, J. S., dan Morse, S. A. Mikrobiologi Kedokteran Jawetz Melnick, and Adelberg. 23th edition. Jakarta: EGC; 2007.
 14. Walton, R. E., Torabinejad, M. Prinsip dan Praktek Ilmu Endodonsi. Alih bahasa: Narlan S, Winiati S, Bambang N. Edisi 3. Jakarta: EGC; 2008.
 15. Tanu, I., Farmakologi dan Terapi. Edisi 5. Jakarta: UI Press; 2007.
 16. Hendra, R., Ahmad, S., Sukari, A., Shukor, M. Y. Oskoueian E. Flavonoid analyses and antimicrobial activity of various parts of *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl fruit. Int J Mol Sci. 2011; ISSN NO. 1422-0067. 1(12): 3422-31.
 17. Cowan, M. M. Plant Products as Antimicrobial Agents. Clinical Microbiol. Reviews 1999; 12: 564-82.
 18. Cushnie, T. P. Tim. Lamb, Andrew J. Antimicrobial Activity of Flavonoids, IJAA. 2005; (26): 343-56.
 19. [19] Ngajow, M., Abidjulu, J., dan Kamu, V. S. Pengaruh

- Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In vitro. *JURNAL MIPA UNSRAT*. 2013; 2 (2): 128-32.
20. Nuria, M.C., A. Faizatun., dan Sumantri. Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Jurnal Ilmu-ilmu Pertanian* 2009; 5: 26–37.
21. Sari, F.P., dan S. M. Sari. Ekstraksi Zat Aktif Antimikroba dari Tanaman Yodium (*Jatropha multifida* Linn) sebagai Bahan Baku Alternatif Antibiotik Alami. Fakultas Teknik Universitas Diponegoro, Semarang; 2011.