

Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Kamboja Putih (*Plumeria acuminata Ait*) Terhadap Pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus*

(Inhibition Test of White Frangipani Leaf Ethanol Extract (*Plumeria acuminata Ait*) toward Growth of *L.acidophilus*)

Arfi Rifadah¹, Yani Corvianindya R², Atik Kurniawati²

¹Mahasiswa Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

²Bagian Ilmu Kedokteran Gigi Dasar Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Korespondensi: Arfi Rifadah, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. e-mail: arfi.ri@gmail.com

ABSTRACT

Background: The dental health problem needs special attention is higher prevalence of dental caries. *Lactobacillus acidophilus* is one of acidogenic bacteria that it takes role on the growth of caries. The extract of white frangipani leaf had been proven having antibacterial effects against some bacteria. However, the research about antibacterial effects of white frangipani leaf against *L. acidophilus* hasn't yet been conducted. **Objective:** to determine the antibacterial activity and minimum inhibition concentration of white frangipani leaf extract to suppress *L. acidophilus* growth. **Materials and Methods:** The method used well diffusion. The inhibition zone around the well showed antibacterial activity. Total research samples were 8 samples which were divided into 6 treated groups. They were P50, P25, P12.5, P6.25, positive control, and negative control. **Result and Conclusion:** White frangipani leaf extract concentration 50%, 25%, and 12.5% have antibacterial activity against *L. acidophilus*, whereas 6,25 % concentration does not have antibacterial activity.

Keywords: Antibacterial, *L.acidophilus*, *Plumeria acuminata Ait*, white frangipani leaf's extract

Pendahuluan

Karies gigi adalah penyakit infeksi mikroba pada gigi yang dapat menyebabkan perubahan secara lokal dan kerusakan pada jaringan keras gigi.¹ Hasil survei Riskesdas pada tahun 2007-2013 menunjukkan telah terjadinya peningkatan prevalensi karies aktif dari 43,4% (2007) menjadi 53,2% atau kurang lebih 93.998.727 jiwa yang menderita karies.² Hasil survei tersebut menandakan bahwa masalah karies gigi membutuhkan perhatian khusus.

Terjadinya karies sangat dipengaruhi oleh peran bakteri asidogenik. Bakteri tersebut dapat

menghasilkan beberapa produk asam organik, dengan cara memfermentasikan karbohidrat di permukaan gigi.³ Kondisi asam ini akan menyebabkan terjadinya proses demineralisasi jaringan keras gigi.⁴ Bakteri asidogenik penyebab karies diantaranya adalah *Streptococci*, *Lactobacilli*, dan *Actinomycetes*.³

Lactobacillus acidophilus merupakan agen terjadinya karies sekunder yang dapat mempercepat demineralisasi permukaan gigi.⁵ Bakteri tersebut berperan dalam metabolisme glukosa dengan menghasilkan asam organik yang dapat menurunkan pH hingga

kurang dari 5. Beberapa penelitian membuktikan bahwa bakteri ini memiliki peran yang besar dalam proses perkembangan dan kelanjutan karies yang lebih dalam.⁴ Oleh karena itu, dibutuhkanlah suatu upaya pengendalian terhadap aktivitas *L.acidophilus* dalam rongga mulut kita.

Salah satu upaya pengendalian aktivitas *L.acidophilus* yaitu dengan menggunakan bahan yang bersifat antibakteri. Bahan antibakteri yang sekaarang digunakan berasal dari bahan sintetik atau alami. Salah satu bahan sintetik yang biasa digunakan dan memiliki kemampuan antibakteri yang efektif adalah *providone iodine* 10%. namun, penggunaan *providone iodine* ini dapat menimbulkan efek samping yang berbahaya bagi host berupa hipersensitivitas, iritasi lokal, dan reaksi toksis yang dihasilkan oleh kandungan *iodine* tersebut.⁶ Penggunaan tanaman obat sebagai bahan antibakteri alami merupakan suatu jalan alternatif untuk meminimalisir efek samping yang membahayakan bagi host.⁷

Salah satu bahan alami yang mudah diperoleh dan memiliki potensi sebagai antibakteri ialah daun kamboja putih (*Plumeria acuminata Ait*). Pada beberapa penelitian mengenai ekstrak daun kamboja putih menunjukkan aktivitas antibakteri pada beberapa jenis bakteri : Gram Positif (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* dan *Micrococcus luteus*) dan Gram Negatif (*Eschericia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*).⁸

Pada penelitian widodo *et al* (2010), diketahui bahwa ekstrak daun kamboja putih memiliki efek antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Kandungan senyawa aktif seperti flavonoid, saponin, alkaloid, dan polifenol pada ekstrak daun kamboja putih

diduga berperan sebagai senyawa antibakteri terhadap *S.aureus*.

Penelitian ini bertujuan mengetahui kemampuan ekstrak daun kamboja putih dalam menghambat pertumbuhan *L.acidophilus*.

Metode Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah *experimental laboratories*. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2015, dilakukan di Laboatorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dan di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Jember. Kriteria daun kamboja putih yang digunakan meliputi daun yang segar, tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua, daun yang dipetik dari halaman *Argotekno Park* Universitas Jember. Sampel yang digunakan berjumlah 8 sampel terbagi dalam 6 kelompok perlakuan yaitu kontrol positif (*povidone iodine* 10%), kontrol negatif (aquades steril), ekstrak daun kamboja putih 50% (P50), 25% (P25), 12,5% (P12,5), dan 6,25% (P6,25).

Daun kamboja yang digunakan adalah *Plumeria acuminata Ait* yang telah diidentifikasi oleh Laboratorium Botani dan Kultur Jaringan Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Jember. Pembuatan ekstrak daun kamboja putih menggunakan metode maserasi. 500 gram daun kamboja putih dicuci hingga bersih menggunakan air mengalir, kemudian daun dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama 3 hari. Selanjutnya dipotong tipis-tipis dan dimasukkan kedalam oven dengan suhu 50°C selama 12 jam untuk menghilangkan kadar air yang masih ada. Daun yang telah kering kemudian dihaluskan dengan menggunakan mesin penggiling dan diayak hingga berbentuk simplisia. Serbuk kering simplisia kemudian

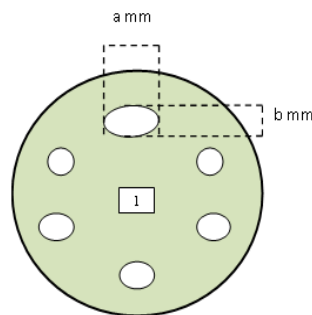
direndam dalam etanol 70% selama 3 hari. Hasil filtrat maserasi kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporato* dengan suhu 50°C selama 45 menit. Ekstrak daun kamboja semisolid 100% kemudian dilakukan pengenceran sehingga didapatkan ekstrak daun kamboja 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25%. Pengujian daya hambat dilakukan dengan memasukkan 20 µl bahan uji ke dalam sumuran dengan menggunakan mikropipet dengan tip yang berbeda pada setiap bahan. Perlakuan tersebut dilakukan pengulangan sebanyak 8 kali pada *petridish* yang berbeda. Delapan petridish yang telah diberi perlakuan, selanjutnya dimasukkan ke dalam desicator dan diinkubasikan ke dalam inkubator pada suhu 37°C selama 48 jam. Setelah dilakukan inkubasi selama 48 jam, kemudian zona hambat yang terbentuk diukur dengan menggunakan jangka sorong digital. Diameter zona hambat diukur dari tepi (*break point*) ke tepi (*break point*) zona hambat yang bersebrangan melewati pusat lubang sumuran. Cara pengukuran diameter zona hambat berbentuk lonjong yaitu dengan mengukur

diameter panjang (a) ditambah diameter pendek (b) kemudian dibagi 2 (Gambar 1). Pengukuran dilakukan 3 kali oleh orang yang berbeda yang sebelumnya telah dilakukan penyamaan persepsi, kemudian diambil rata-ratanya.

Hasil data yang diperoleh kemudian dilakukan tabulasi data, kemudian dilakukan uji normalitas (*Kolmogorov-smirnov test*) dan uji homogenitas (*Levene test*). Kemudian dilanjutkan dengan uji statistik non parametrik dengan uji *Kruskal Wallis* dan dilanjutkan uji beda antar kelompok dengan uji *Mann-Whitney*

Hasil Penelitian

Hasil penelitian menunjukkan ekstrak daun kamboja putih mampu menghambat pertumbuhan bakteri *L.acidophilus*. Pengamatan terhadap kemampuan hambat ekstrak daun kamboja putih ditentukan dengan terbentuknya zona hambat di sekitar lubang sumuran. Hasil penelitian besar rata-rata zona hambat pada setiap kelompok perlakuan dapat dilihat pada Tabel.1.



Gambar.1 Pengukuran Zona Hambat berbentuk lonjong.

Tabel 1 Hasil rata-rata diameter zona hambat *L. acidophilus* (mm) pada ekstrak daun kendali dengan berbagai konsentrasi, kontrol positif, dan kontrol negatif

Kelompok	N	M	SD
Kontrol positif	8	24,37	3,77511
Ekstrak daun konsentrasi 50%	8	18,64	2,43890
Ekstrak daun konsentrasi 25%	8	14,72	2,88869
Ekstrak daun konsentrasi 12,5%	8	12,43	3,31463
Ekstrak daun konsentrasi 6,25%	8	0,00	0,00000
Kontrol negatif	8	0,00	0,00000

Keterangan:

N : jumlah sampel

M : nilai rata-rata zona hambat

SD : standar deviasi (simpang baku) diameter zona hambat

Tabel 2. Rangkuman Hasil uji beda *Mann-Whitney*

Kelompok penelitian	Ekstrak daun konsentrasi 50%	Ekstrak daun konsentrasi 25%	Ekstrak daun konsentrasi 12,5%	Ekstrak daun konsentrasi 6,25%	Kontrol positif	Kontrol negatif
Ekstrak daun konsentrasi 50%	-	0,003*	0,001*	0,000*	0,003*	0,000*
Ekstrak daun konsentrasi 25%	0,003*	-	0,083	0,000*	0,000*	0,000*
Ekstrak daun konsentrasi 12,5%	0,001*	0,083	-	0,000*	0,000*	0,000*
Ekstrak daun konsentrasi 6,25%	0,000*	0,000*	0,000*	-	0,000*	1,000
Kontrol positif	0,003*	0,000*	0,000*	0,000*	-	0,000*
Kontrol negatif	0,000*	0,000*	0,000*	1,000	0,000*	

Keterangan: tanda * menunjukkan nilai yang signifikan

Data hasil penelitian lalu diuji normalitas dengan uji *Kolmogorov-smirnov* menunjukkan data penelitian ini normal dengan nilai signifikansi $>0,05$. Setelah data dikatakan normal kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas dengan menggunakan uji *Levene*. Pada uji *Levene* menunjukkan data tidak homogen dengan nilai signifikan $<0,05$, sehingga dilanjutkan dengan uji statistik menggunakan uji non parametrik *Kruskal-wallis*. Hasil uji *Kruskal-Wallis* diperoleh nilai signifikan $<0,05$ berarti daya antibakteri ekstrak daun kamboja putih terhadap pertumbuhan *L. acidophilus* pada seluruh kelompok penelitian mempunyai perbedaan. Selanjutnya

untuk mengetahui perbedaan bermakna antar kelompok penelitian maka dilakukan uji beda *Mann-Whitney*. Hasil uji beda *Mann-Whitney* dapat dilihat pada Tabel 2.

Pembahasan

Uji daya hambat ekstrak daun kamboja pada penelitian ini menggunakan metode difusi sumuran (*well diffusion method*). Pemilihan metode ini dikarenakan metode difusi sumuran adalah metode yang sederhana, mudah prosedurnya dan dapat diaplikasikan dalam menguji zona hambat terhadap bakteri aerob maupun anaerob fakultatif.⁹ Dari hasil penelitian yang diperoleh

diketahui bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak, maka semakin besar pula zona hambatnya. Menurut hasil analisis data yang diperoleh diketahui bahwa konsentrasi ekstrak daun kamboja yang masih mampu menghambat pertumbuhan *L.acidophilus* adalah 12,5%.

Kemampuan ekstrak daun kamboja putih dalam menghambat pertumbuhan *L.acidophilus* tidak terlepas dengan adanya kandungan senyawa aktif pada daun kamboja putih yang bersifat antibakteri. Kandungan senyawa aktif tersebut adalah alkaloid, saponin, flavonoid, dan beberapa senyawa polifenol.¹⁰ Setiap kandungan aktif tersebut memiliki mekanisme tersendiri dalam menghambat pertumbuhan *L.acidophilus*.

Mekanisme alkaloid sebagai antibakteri berhubungan dengan cara senyawa alkaloid dalam mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga pembentukan sel tidak sempurna. Keadaan ini menyebabkan sel bakteri mudah mengalami lisis, baik berupa fisik maupun osmotik dan menyebabkan kematian sel.¹¹

Senyawa saponin yang terkandung dalam ekstrak daun kamboja putih juga diduga memiliki peran sebagai senyawa antibakteri. Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dengan menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel. Senyawa saponin juga memiliki kemampuan dapat berdifusi melalui membrane luar dan dinding sel yang kemudian akan berikatan dengan membran sitoplasma sehingga mengganggu dan mengurangi kestabilan membrane sel yang mengakibatkan sel bakteri mengalami lisis.¹²

Kandungan flavonoid pada ekstrak daun kamboja putih diduga memiliki peran aktif dalam

menghambat pertumbuhan bakteri *L.acidophilus*. Hal ini dikarenakan, flavonoid memiliki kemampuan dalam menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma, dan menghambat metabolisme energi.¹³

Mekanisme senyawa polifenol dalam menghambat pertumbuhan bakteri *L.acidophilus* yaitu dengan cara merusak dinding sel bakteri sehingga menyebabkan terjadinya denaturasi protein dan terjadinya kebocoran sel. Ikatan hidrogen antara senyawa polifenol dan protein mengakibatkan struktur protein menjadi rusak sehingga mempengaruhi permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma yang mengakibatkan sel menjadi lisis atau mati.¹⁴

Kualitas kandungan senyawa kimia aktif pada daun kamboja putih sangat tergantung pada pengolahan pasca panen dan kriteria daun yang dipetik. Daun yang dipetik pada saat tanaman mengalami fotosintesis secara maksimal memiliki kandungan senyawa kimia aktif yang lebih banyak dibandingkan daun yang dipetik saat tanaman tersebut tidak dalam fotosintesis maksimal.¹⁵

Berdasarkan hasil yang diperoleh kemampuan hambat pertumbuhan bakteri ekstrak daun kamboja putih 50% tidak lebih baik dari kontrol positif yaitu *povidone iodine* 10%. Hal tersebut didukung dengan kemampuan oksidasi kuat dari *iodine* bebas terhadap asam amino, nukleotida dan ikatan ganda yang menyebabkan *povidone iodine* mampu merusak protein dan DNA bakteri.¹⁶ Selain itu, *povidone iodine* 10% memiliki spektrum luas dan terbukti efektif melawan bakteri Gram Positif dan Gram Negatif.¹⁷

Menurut Morales *et al* (2003), aktivitas antibakteri oleh bahan aktif dikelompokkan menjadi empat kategori, yaitu lemah (zona hambat

<6 mm), sedang (zona hambat 6-10 mm), kuat (zona hambat 11-20 mm), dan sangat kuat (zona hambat 21-30 mm).¹⁸ Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak daun kamboja putih 50%, 25%, 12,5% termasuk kategori kuat, sedangkan aktivitas antibakteri povidone iodine 10% termasuk kategori sangat kuat. Aktivitas antibakteri ekstrak daun kamboja putih dengan kategori kuat diharapkan dapat menggantikan bahan antibakteri sintetis dalam menghambat pertumbuhan *L.acidophilus* yang merupakan bakteri penyebab terjadinya karies, sehingga pada akhirnya dapat menurunkan resiko terjadinya karies dengan efek samping yang minimal.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat ditarik kesimpulan bahwa ekstrak daun kamboja putih memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *L.acidophilus* dan konsentrasi terkecil yang masih mampu menghambat pertumbuhan *L.acidophilus* adalah 12,5%. Saran dari penelitian ini adalah perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kemampuan ekstrak daun kamboja putih terhadap mikroflora patogen lain dalam rongga mulut dan perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai toksisitas ekstrak daun kamboja putih dengan berbagai konsentrasi.

Daftar Pustaka

1. Sturdevant CM, Barton RE, Sockwell CL, dan Strickland WD. The art and science of operative dentistry. 2nd edition. Missouri : Mosby. 2001: 77.
2. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI. Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas 2013). Jakarta: Kementrian

Kesehatan Republik Indonesia. 2013.

3. Sharma B, Goyal S, Yadav R. Study Of Dental Caries in Students between Age Groups 19 and 23 and Characterization of Genes Responsible For Dental Caries. *J VSRD Technical & Non-Technica* 2011; 2 (6): 294-300.
4. Soesilo D, Santoso RE, Diyatri I. Peranan Sorbitol dalam Mempertahankan Kestabilan pH Saliva pada Proses Pencegahan Karies. *J Dent.* 2005; 38 (1): 25-28.
5. Quivey RG. Oral Microbiology and Immunology. Washington DC: ASM Press. 2006: 232-252.
6. Rahmawati, Ika. Perbedaan Efek Perawatan Luka Menggunakan Gerusan Daun Petai Cina (*Leucaena glauca*, Benth) dan Povidon Iodine 10 % dalam Mempercepat Penyembuhan Luka Berish pada Marmut (*Cavia porcellus*). *J Wiyata* 2014; 1(2): 227-234.
7. Sukmono JK. Mengatasi Aneka Penyakit dengan Terapi Herbal. Jakarta: Agromedia pustaka 2009; 18.
8. Trubus. 100 Plus Herbal Indonesia Bukti Ilmiah & Racikan. Vol.11. Jakarta: PT. Niaga Swadaya. 2013 : 277.
9. Nissa U, dan Darjono A. Analisis Minyak Atsiri Serai (*Cymbopogon citratus*) Sebagai Alternatif Bahan Irigasi Saluran Akar Gigi dengan Menghambat Pertumbuhan *Enterococcus faecalis*. *J Majalah Ilmiah Sultan Agung* 2011; 49: 124.
10. Widodo PG, Ningsih D, dan Aprilia M. Aktivitas Antibakteri dan Penyembuhan Luka Fraksi-Fraksi Ekstrak Etanol Daun Kamboja (*Plumeria acuminata* Ait) pada Kulit Kelinci yang Diinfeksi *Staphylococcus aureus*. *J Farmasi Indonesia* 2010; 7(2): 73-77.

11. Retnowati Y, Bialangi N, dan Posangi NW. Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Media yang Diekspos dengan Infus Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*). *J Saintek* 2011; 6 (2): 1-9.
12. Cavalieri SJ, Rankin ID, Harbeck RJ, Sautter RS, McCarter YS, Sharp SE, Ortez JH, dan Spiegel CA. Manual of antimicrobial susceptibility testing. USA: American Society for Microbiology. 2005.
13. Hendra R, Ahmad S, Sukari A, Shukor MY, dan Oskoueian E. Flavonoid Analyses and Antimicrobial Activity of Various Parts of *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl fruit. *J Int Mol Sci*. 2011; 12: 3422-3431.
14. Roshida AN, Lestari PE, dan Astuti P. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Kendali (*Hippobroma longiflora* [L] G.Don) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus Mutans*. Jember: FKG Universitas Jember. 2014.
15. Katno. Pengelolaan Pasca Panen Tanaman Obat. DepKes RI: Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TO-OT), Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. 2008.
16. Noronha C dan Almeida A. Local burn treatment-topical antimicrobial agents. *Annals of burns and fire disasters* [serial on line] 2000; 8(4). http://www.medbc.com/annals/review/vol_13/num_4/text/vol13n4p216.htm. 2000. Diakses pada 14 November 2015.
17. Brooker C. Ensiklopedia Keperawatan. Jakarta : EGC. 2008.
18. Morales. Secondary Metabolites of Four Medicinal Plants From Northern Chile, Antimicrobial activity and Bioxicity Against *Artemia Salina*. *J Chilean Chemical Society* 2003; 48(2), 35-41.