

Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum* Ruiz & Pav) Terhadap hambatan pertumbuhan bakteri *Streptococcus Mutans*

Mahmud Kholifa

Kedokteran Gigi Universitas Muhammadiyah Surakarta

Email: mk111@ums.ac.id

Abstrak

Keywords :

Streptococcus Mutans; antiseptik; hambatan pertumbuhan; ekstrak etanol daun sirih merah; bahan herbal.

Karies gigi adalah kerusakan gigi yang disebabkan oleh bakteri yang menyebabkan gigi berlubang sampai terjadinya kematian gigi. Bakteri yang paling dominan pada karies gigi adalah *Streptococcus mutans*. Salah satu upaya pencegahan karies adalah dengan menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* menggunakan antiseptik. Namun penggunaan bahan kimia antiseptik dalam jangka panjang dapat menyebabkan noda pada gigi, perubahan keseimbangan flora mulut, pembengkakan kelenjar parotis dan bahkan dapat menyebabkan kanker, sehingga diperlukan inovasi baru untuk memelihara dan menjaga kesehatan mulut yang lebih aman dengan bahan herbal. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menguji kemampuan konsentrasi ekstrak etanol daun sirih merah terhadap penghambatan pertumbuhan *Streptococcus mutans* secara *in vitro*. Metode yang digunakan adalah mengukur diameter zona hambatan yang terjadi setelah perlakuan dengan ekstrak etanol daun sirih merah. Subjek dikelompokkan menjadi 5 kelompok perlakuan yang masing-masing diberi perlakuan dengan ekstrak etanol daun sirih merah konsentrasi 10%, 20%, 40%, 80% dan 0,2% klorheksidin sebagai kontrol positif. Semua cawan petri diinkubasi pada suhu 37 C selama 24 jam, kemudian diukur diameter zona hambat yang terjadi. Hasil uji one way Anova menunjukkan nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$), yang berarti bahwa ekstrak etanol daun sirih merah berpengaruh secara signifikan terhadap hambatan pertumbuhan *Streptococcus Mutans in vitro*. Hasil *post hoc tes* menunjukkan ada perbedaan yang signifikan secara statistik antara masing-masing kelompok perlakuan terhadap hambatan pertumbuhan *Streptococcus Mutans* ($p < 0,05$). Kesimpulannya, ekstrak etanol daun sirih merah berpengaruh sebagai antiseptik pada penghambatan pertumbuhan *Streptococcus Mutans* dan peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun sirih merah diikuti dengan penurunan ukuran diameter zona hambat pada biakan *Streptococcus Mutans*.

1. PENDAHULUAN

Karies gigi adalah penyakit infeksi yang merusak jaringan keras gigi, yaitu email, dentin dan sementum yang mengakibatkan gigi berlubang dan jika tidak segera diatasi bisa timbul nyeri sampai pada kematian gigi dan akhirnya gigi tanggal (Kidd dan Bechal, 1991). Karies disebabkan oleh interaksi beberapa faktor yaitu mikroorganisme, diet karbohidrat, *host* dan waktu. Bakteri pada rongga mulut sangat banyak jenisnya, antara lain *Nocardia spp*, *Lactobacillus acidophilus*, *Actinomyces viscosus*, dan *Streptococcus mutans* (Hongini dan Aditiawarman, 2012). Awal terjadinya karies gigi merupakan proses demineralisasi yang melarutkan permukaan gigi oleh asam yang dihasilkan bakteri yang banyak menempel pada permukaan gigi (Hongini dan Aditiawarman, 2012).

Streptococcus mutans adalah bakteri kokus gram positif dan bersifat kariogenik karena mampu memetabolisme karbohidrat menghasilkan asam sehingga akan menurunkan pH sampai 4,3 (Irma dan Intan, 2013). Metabolisme sukrosa oleh *Streptococcus mutans* menghasilkan asam laktat (Slot J. Dan Taubman MA., 1992) yang dapat menyebabkan demineralisasi hidroksiapatit (BIMKGI, 2012).

Metabolisme karbohidrat diawali oleh kemampuan *Streptococcus mutans* menghasilkan enzim glukosiltransferase yang akan memecah sukrosa dan glukosa dalam plak menjadi glukukan. Selanjutnya *Streptococcus mutans* secara predominan membentuk rantai dekstran yang dapat larut dalam air yang mempunyai kemampuan melekat pada permukaan gigi dan membentuk koloni pada permukaan gigi.

Streptococcus mutans adalah bakteri kokus gram positif dan bersifat kariogenik karena mampu memetabolisme karbohidrat menghasilkan asam sehingga akan menurunkan pH sampai 4,3 (Irma dan Intan, 2013). Metabolisme sukrosa oleh *Streptococcus mutans* menghasilkan asam laktat (Slot J. Dan Taubman MA., 1992) yang dapat menyebabkan demineralisasi hidroksiapatit (BIMKGI, 2012).

Metabolisme karbohidrat diawali oleh kemampuan *Streptococcus mutans* menghasilkan enzim glukosiltransferase yang akan memecah sukrosa dan glukosa dalam plak menjadi glukukan. Selanjutnya *Streptococcus mutans* secara predominan membentuk rantai dekstran yang dapat larut dalam air yang mempunyai kemampuan melekat pada permukaan gigi dan membentuk koloni pada permukaan gigi.

Usaha memelihara kesehatan gigi dan mulut adalah dengan cara mekanis dan khemis. Cara mekanis yaitu dengan menyikat gigi secara teratur, tetapi cara ini hanya akan membersihkan sisa makanan yang menempel pada gigi. Kelemahannya adalah tidak mampu menjangkau seluruh area interdental serta membutuhkan kemahiran yang tinggi dari setiap individu dalam menyikat gigi. Sedangkan cara khemis untuk memelihara dan mencegah gigi dari karies adalah dengan menggunakan obat kumur yang bertujuan untuk menekan pertumbuhan bakteri dalam rongga mulut dengan penggunaan larutan kumur misalnya klorheksidin (Carannza, 1996). Pemakaian obat kumur yang mengandung bahan kimia sangat efektif dalam memelihara kesehatan gigi dan mulut, namun, pemakaian secara terus menerus dalam jangka panjang dapat menimbulkan noda pada gigi, merubah keseimbangan flora di dalam mulut, pembengkakan kelenjar parotis dan efek lainnya (Kidd dan Bechal, 1991) serta dapat memicu terjadinya kanker (Mc Cullough MJ dan Farah, 2008), sehingga diperlukan inovasi baru untuk memelihara dan menjaga kesehatan gigi dan mulut dengan bahan yang lebih aman.

Pada penelitian ini pertumbuhan pada biakan *Streptococcus mutans* diuji dengan pemberian larutan ekstrak etanol daun sirih merah. Hasil yang diharapkan pada penelitian ini berupa terjadinya hambatan pertumbuhan pada biakan *Streptococcus mutans* setelah di beri perlakuan dengan larutan ekstrak etanol daun sirih merah.

2. METODE

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah biakan *Streptococcus mutans*. Tahap yang dilakukan dalam penelitian ini adalah preparasi sampel, pembuatan biakan *Streptococcus mutans*, pengelompokan sampel, pemberian ekstrak etanol daun sirih merah sebagai anti bakteri, kemudian dilanjutkan pengamatan untuk mengukur diameter zona hambat.

Preparasi sampel diawali dengan pembuatan suspensi bakteri *Streptococcus mutans* (10^8 CFU/ml). Koloni bakteri *Streptococcus mutans* diambil dari biakan murni dengan menggunakan ose steril kemudian dimasukkan ke dalam 0,5 ml media MHA dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C sehingga dihasilkan suspensi bakteri *Streptococcus mutans*. Selanjutnya suspensi bakteri dibuat sesuai dengan Standar Mc. Farland. Koloni bakteri dari suspensi diambil dengan menggunakan ose steril kemudian diencerkan dengan NaCl 0,85% dan di vortex sampai kekeruhan sesuai dengan standar Mc. Farland $0,5 (1,5 \times 10^8 \text{CFU/ml})$.

Pembuatan biakan *Streptococcus mutans* dilakukan dengan mengambil koloni bakteri dari standar Mc. Farland dan diusapkan secara merata pada cawan petri yang sudah di beri media MHA selanjutnya dibuat sumuran menggunakan perfomrator besi dengan diameter 6 mm.

Pengelompokan sampel dilakukan dengan membuat lima kelompok yang terdiri dari kelompok A, B, C, D dan E. Masing – masing kelompok terdiri dari 5 cawan petri yang berisi biakan *Streptococcus mutans* yang sudah dibuat sumuran sehingga seluruhnya berjumlah 25 cawan petri. Masing – masing kelompok biakan *Streptococcus mutans* tersebut akan diberi perlakuan dengan ekstrak etanol daun sirih merah dengan konsentrasi yang berbeda .

Pemberian ekstrak etanol daun sirih merah sebagai anti bakteri. Ekstrak etanol daun sirih merah dibuat 4 konsentrasi yaitu 10%, 20%, 40%, dan 80%. Selanjutnya ekstrak etanol daun sirih merah konsentrasi 10% di berikan pada kelompok A, ekstrak etanol daun sirih merah konsentrasi 20% di berikan pada kelompok B, ekstrak etanol daun sirih merah konsentrasi 40% di berikan pada kelompok C dan ekstrak etanol daun sirih merah konsentrasi 80% di berikan pada kelompok D sedangkan kelompok E di beri perlakuan dengan klorheksidin 0,2% sebagai kontrol positif. Masing – masing sumuran di isi dengan 50 μ l ekstrak etanol daun sirih merah dan di inkubasi pada suhu 37^oC selama 24 jam. Tahap selanjutnya dilakukan pengukuran zona hambat menggunakan jangka sorong yang telah distandarkan. Data pengamatan diperoleh dari rata-rata pengukuran diameter zona hambat.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil perhitungan rerata diameter zona hambat untuk setiap perlakuan ditampilkan pada tabel 1, cawan petri pada kelompok kontrol positif memiliki diameter zona hambat paling besar, yakni sebesar 3,93 mm, diikuti berturut-turut kelompok konsentrasi 80% sebesar 3,23 mm, kelompok konsentrasi 40% sebesar 2,99 mm, kelompok konsentrasi 20% sebesar 2,35 mm dan yang terkecil kelompok konsentrasi 10% dengan nilai 1,59 mm.

Tabel 1. Kelompok Perlakuan dan Rerata zona hambat.

Bahan (μ g/ml)	No	Konsentrasi	Rerata Zona Hambat \pm SD (dalam mm)
Ekstrak Etanol	1	10%	1,59 \pm 0,07
Daun Sirih	2	20%	2,35 \pm 0,11
Merah	3	40%	2,99 \pm 0,09
	4	80%	3,23 \pm 0,03
	5	Klorheksidin	3,93 \pm 0,07

Hasil penelitian didapatkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun sirih merah dengan konsentrasi 10%, 20%, 40% dan 80% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun sirih merah menghasilkan penurunan pertumbuhan biakan bakteri *Streptococcus mutans*.

Untuk memastikan distribusi datanya normal, dilanjutkan dengan uji *Saphiro-Wilk* pada tabel 2 dengan hipotesis H_0 : Data sampel berdistribusi normal, H_a : Data sampel tidak berdistribusi normal dengan $\alpha = 0,05$, daerah kritis: H_0 ditolak jika nilai probabilitasnya $< \alpha$.

Tabel 2. Distribusi data Rerata Zona Hambat.

Materi Uji	Konsentrasi	P
Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah	10%	.290(*)
	20%	.214(*)
	40%	.241(*)
	80%	.692(*)
	Klorheksidin	.289(*)

Keterangan : p = nilai probabilitas
(*) = bermakna bila $p > 0,05$

Uji *Saphiro-Wilk* menunjukkan keseluruhan nilai probabilitas bermakna, yaitu lebih besar dari 0,05 (Tabel 2). Karena nilai $p > \alpha$ maka H_0 diterima, kesimpulannya berarti data sampel kenaikan rerata zona hambat memiliki distribusi normal.

Selanjutnya untuk mengetahui variansi yang homogen dengan *Levene test* (Tabel 3) dengan hipotesis H_0 : Varian semua sampel identik, H_a : Varian semua sampel tidak identik dengan $\alpha = 0,05$, daerah khusus : H_0 ditolak jika nilai probabilitasnya $< \alpha$.

Tabel 3. Persamaan variansi zona hambat

<i>Levene Statistic</i>	df1	df2	P
2.543	4	20	0,072

Keterangan :
df = derajat kebebasan
P = nilai probabilitas
(*) = bermakna bila $p > 0,05$

Hasil uji persamaan variansi (Tabel 3) menunjukkan nilai probabilitas lebih besar dari α ($0,072 > 0,05$) maka H_0 diterima, kesimpulannya H_0 diterima sehingga varian semua sampel identik yang berarti data homogen atau tidak terdapat perbedaan bermakna variansi antar kelompok, sehingga memenuhi syarat untuk dapat dilakukan analisis *One Way ANOVA* (Tabel 4) dengan hipotesis H_0 : Rata-rata kenaikan zona hambat identik, H_a : Rata-rata kenaikan zona hambat tidak identik dengan $\alpha = 0,05$, daerah kritis : H_0 ditolak jika nilai probabilitasnya $< \alpha$.

Tabel 4. Hasil analisis *ANOVA* satu jalur terhadap nilai rerata kenaikan zona hambat.

	Jumlah Kuadrat	df	Rerata Kuadrat	F	p
Antar Kelompok	15,821	4	3,955	720.402	0,000(*)
Dalam Kelompok	0,110	20	0,005		
Total	15,931	24			

Keterangan :
db = derajat kebebasan
F = nilai statistik
p = nilai probabilitas
(*) = bermakna bila $p < 0,05$

Dari hasil analisis *ANOVA* satu jalur (Tabel IV) menunjukkan nilai $p = 0,000$, karena nilai p lebih kecil dari α ($0,000 < 0,05$), maka H_0 ditolak, kesimpulannya H_a diterima sehingga rata-rata hambatan pertumbuhan bakteri tidak identik yang berarti terdapat perbedaan bermakna rata-rata hambatan pertumbuhan bakteri dengan perlakuan berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun sirih merah.

Setelah mengetahui hasil uji Anova bahwa rata-rata hambatan pertumbuhan bakteri tersebut berbeda secara signifikan, maka untuk mengetahui, perbedaan rerata hambatan pertumbuhan bakteri kelompok mana saja yang memiliki nilai berbeda dapat dilakukan uji lanjut dengan uji Post Hoc (Uji *Least Significance Difference / LSD*), seperti ditampilkan pada tabel 5, dengan hipotesis H_0 adalah rata-rata hambatan pertumbuhan $i = j$ dan H_a adalah rata-rata hambatan pertumbuhan $i < j$ dengan keterangan i dan $j =$ kelompok

perlakuan dengan konsentrasi ekstrak etanol daun sirih merah 10%, 20%, 40%, 80%, kontrol positif dengan $\alpha = 0,05$, daerah kritis : H_0 ditolak jika nilai probabilitasnya $< \alpha$.

Tabel 5. Hasil Uji LSD Antar Tiap Kelompok Perlakuan dan Kenaikan Rerata Zona Hambat

Multiple Comparisons						
Hambatan LSD						
(I) Konsentrasi	(J) Konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
10	20	-.76000*	.04686	.000	-.8578	-.6622
	40	-1.40000*	.04686	.000	-1.4978	-1.3022
	80	-1.64000*	.04686	.000	-1.7378	-1.5422
	K (+)	-2.34060*	.04686	.000	-2.4384	-2.2428
20	10	.76000*	.04686	.000	.6622	.8578
	40	-.64000*	.04686	.000	-.7378	-.5422
	80	-.88000*	.04686	.000	-.9778	-.7822
	K (+)	-1.58060*	.04686	.000	-1.6784	-1.4828
40	10	1.40000*	.04686	.000	1.3022	1.4978
	20	.64000*	.04686	.000	.5422	.7378
	80	-.24000*	.04686	.000	-.3378	-.1422
	K (+)	-.94060*	.04686	.000	-1.0384	-.8428
80	10	1.64000*	.04686	.000	1.5422	1.7378
	20	.88000*	.04686	.000	.7822	.9778
	40	.24000*	.04686	.000	.1422	.3378
	K (+)	-.70060*	.04686	.000	-.7984	-.6028
K (+)	10	2.34060*	.04686	.000	2.2428	2.4384
	20	1.58060*	.04686	.000	1.4828	1.6784
	40	.94060*	.04686	.000	.8428	1.0384
	80	.70060*	.04686	.000	.6028	.7984

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Dari hasil uji *LSD* menunjukkan nilai p yang kurang dari 0,05 adalah antara kelompok 10% dengan 20% yaitu 0.000, antara kelompok 10% dengan 40% yaitu 0.000, antara kelompok 10% dengan 80% yaitu 0.000, antara kelompok 10% dengan K (+) klorheksidin yaitu 0.000, demikian juga antara kelompok dosis yang lainnya semua menunjukkan nilai p yang kurang dari 0,05. Karena antara semua kelompok perlakuan konsentrasi ekstrak etanol daun sirih merah nilai $p < \alpha$ ($p < 0,05$) maka H_0 ditolak, kesimpulannya H_a diterima sehingga rata-rata hambatan pertumbuhan bakteri antara semua kelompok perlakuan tidak identik yang berarti terdapat perbedaan bermakna rata-rata ukuran hambatan pertumbuhan bakteri tiap kelompok perlakuan dengan berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun sirih merah.

Semakin besar konsentrasi ekstrak ethanol daun sirih merah yang diberikan maka akan semakin besar pula hambatan pertumbuhan bakteri yang terjadi. Peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun sirih merah secara signifikan akan meningkatkan hambatan pertumbuhan bakteri streptococcus mutans.

Dalam penelitian ini di dapatkan hasil bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada perlakuan ekstrak etanol daun sirih merah terhadap hambatan pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Hal ini sesuai dengan teori bahwa daun sirih merah kaya akan kandungan fitokimia, antara lain flavonoid, tanin, alkaloid dan minyak atsiri. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri dalam ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) dengan membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri sehingga mampu menghambat pertumbuhan bakteri.

Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri dalam ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) dengan mengkerutkan dinding sel atau membran sel bakteri sehingga mengganggu permeabilitas sel yang menyebabkan sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhan bakteri akan terhambat (Ajizah, 2004 dalam Juliantina, 2010).

Mekanisme alkaloid di dalam daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) dengan mengganggu komponen penyusunan peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak dapat terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut.

Zat aktif lainnya yang terdapat di dalam ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) adalah minyak atsiri. Aktifitas antibakteri dari minyak atsiri adalah dengan merusak dinding sel bakteri yang terdiri dari peptidoglikan, asam teikoat dan polisakarida. Kerusakan lapisan ini dapat mengakibatkan gangguan pada kekakuan dinding sel bakteri, sehingga menyebabkan terhambatnya pertumbuhan bakteri (Juliantina *et al*, 2008 *cit* Parwata *et al*, 2010).

4. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa

- a. Ekstrak etanol daun sirih merah dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.
- b. Ekstrak etanol daun sirih merah konsentrasi 80% mempunyai hambatan pertumbuhan yang tertinggi namun masih dibawah kontrol positif.

SARAN

Bedasarkan hasil penelitian yang dilakukan, saran yang dapat diberikan adalah :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kestabilan ekstrak pada jangka panjang
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efek ekstrak pada penggunaan jangka panjang.
3. Hasil penelitian ini cukup menjanjikan. Untuk bisa dibuat dalam bentuk sediaan kemasan obat kumur herbal

REFERENSI

- BIMKGI., 2012, *Streptococcus mutans*. Surat Keputusan No.1/Sekjen/PSMKGI/X2012. Carranza F.A., Newman M. G., and Takei H.
- H., 1996, *Clinical Periodonta* 'l 8th End. W. B. Saunders Compang. H. 85 : Philadelphia.
- Hongini, Yundali S. Andityawarman, Mac., 2012. *Kesehatan Gigi dan Mulut*. Bandung : Pustaka Reka Cipta.
- Indah Irma, S. Ayu Intan, 2013, *PenyakitGigi dan Mulut*. Yogyakarta : Nuha Medika.
- Ismarani, 2012, *Potensi Senyawa Tanin dalam Menunjukkan Produksi Ramah Lingkungan*. Jurnal Agrobisnis dan Pengembangan Wilayah Vol. 3 No. 2.

- Juliantina, Citra, Nirwani, Nurmasitoh, Bowo. 2010. “Manfaat Sirih Merah (*Piper Crocatum*) Sebagai Agen Antibakterial Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif”. *JKKI*. 1 (7)
- Kidd, Edwin A.M., Bechal, Sally J., 1991, *Dasar - Dasar Karies Penyakit dan Penanggulangannya*. Cetakan I, Jakarta : EGC, p.1-144.
- Mc. Cullough MJ., Farah CS., 2008, *The Role Of Alcohol In Oral Carcinogenesis with Particular Eference to Alcohol-Containing Mouth Washes..* AustraliaDental Journal 2008 : 53 : 302 - 5.
- Slot, J. Taubman, M. A., 1992, *Contemporary Oral Microbiology and Immunology*. Mosby Year Book. 366 – 69, 377- 414, 524 – 69.