

Uji konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* Steenis) sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*

¹Klaudya E. Warokka

²Jane Wuisan

³Juliatri

¹Kandidat Skripsi Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran

²Bagian Farmakologi dan Terapi Fakultas Kedokteran

³Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran

Universitas Sam Ratulangi Manado

Email: klaudyaeunike@yahoo.com

Abstract: Inadequate oral and dental hygiene can cause plaques containing various kinds of bacteria; one of them is *Streptococcus mutans* which is the main cause of dental caries. Binahong leaf (*Anredera cordifolia* Steenis) is a medicinal herb that contains antibacterial compounds namely flavonoids, alkonoid, terpanoid, and saponins. This study aimed to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of binahong leaf extract to the growth of *Streptococcus mutans*. This was a true experimental study with a randomized pretest-posttest control group design. The method used in this study was serial dilution method with turbidimetry and spectrophotometry as the test methods. Binahong leaves were taken from Tempok village and were extracted with maceration method using ethanol 96%. *Streptococcus mutans* bacteria were obtained from a pure bacterial stock in Microbiology Laboratory of Pharmacy Study Program, Faculty of Mathematics and Natural Science University of Sam Ratulangi Manado. The result showed that the minimal inhibitory concentration (MIC) of binahong leaf extract (*Anredera cordifolia steenis*) to the growth of *Streptococcus mutans* was 6.25%.

Keywords: *Streptococcus mutans*, binahong leaf, MIC, tooth caries

Abstrak: Kebersihan gigi dan mulut yang buruk dapat menyebabkan terbentuknya plak yang mengandung berbagai macam bakteri, salah satu diantaranya *Streptococcus mutans* yang menjadi penyebab utama terjadinya karies gigi. Daun binahong (*Anredera cordifolia steenis*) merupakan tanaman herbal yang mengandung senyawa antibakteri yaitu flavonoid, alkonoid, terpanoid dan saponin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum (KHM) dari daun binahong terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*. Jenis penelitian ini ialah eksperimental murni dengan *randomized pretest-posttest control group design*. Penelitian ini menggunakan metode serial dilusi dengan metode pengujian turbidimetri dan spektrofotometri. Daun binahong diperoleh di desa Tempok, dan diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 96%. Bakteri *Streptococcus mutans* diambil dari stok bakteri murni Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Farmasi Fakultas MIPA Universitas Sam Ratulangi Manado. Hasil penelitian mendapatkan bahwa KHM daun binahong terhadap pertumbuhan *streptococcus mutans* ialah pada konsentrasi 6,25%.

Kata kunci: *Streptococcus mutans*, daun binahong, KHM, karies gigi

Kebersihan gigi dan mulut yang buruk menyebabkan akumulasi plak pada gigi. Plak mengandung berbagai macam bakteri yang berperan dalam proses fermentasi

metabolisme serta menghasilkan komponen monosakarida, fruktosa dan glukosa yang menyebabkan terjadinya akumulasi bakteri yang berakibat terjadinya demineralisasi gigi dan infeksi pada rongga mulut.¹ Karies gigi merupakan masalah kesehatan gigi dan mulut yang sering terjadi di Indonesia. Berdasarkan Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) Nasional tahun 2013, prevalensi nasional masalah kesehatan gigi dan mulut mencapai 25,9% dan hanya 8,1% penduduk di Indonesia yang menerima perawatan dan pengobatan gigi dari tenaga medis gigi.²

Tanaman herbal di Indonesia telah banyak digunakan sebagai obat tradisional, salah satunya ialah tanaman binahong (*Anredera cordifolia* Steenis).³ Binahong memiliki akar, batang, bunga, umbi, dan daun yang mengandung senyawa aktif yaitu flavonoid, alkanoid, terpenoid, dan saponin.^{3,4} Senyawa aktif flavonoid dapat berperan langsung sebagai antibiotik terhadap mikroorganisme seperti bakteri dan virus.⁴ Binahong juga mengandung antimikroba yang aktif sehingga dapat digunakan dalam mencegah pertumbuhan bakteri.⁵

Penelitian oleh Rimporok R et al.⁶ melaporkan bahwa ekstrak daun binahong dapat menghambat pertumbuhan *S. mutans*, tetapi belum diteliti mengenai konsentrasi hambat minimum ekstrak daun tersebut terhadap bakteri *S. mutans*.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun binahong sebagai antibakteri terhadap *S. mutans*.

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini ialah eksperimental murni (*true experimental design*) dengan rancangan penelitian *randomized pretest-posttest control group design*. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmasi Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) Universitas Sam Ratulangi pada bulan Februari – Agustus 2016. Subjek dalam penelitian ini ialah *Streptococcus mutans* yang diperoleh dari Laboratorium Farmasi Fakultas MIPA

Universitas Sam Ratulangi Manado.

Daun binahong (*Anredera cordifolia steenis*) diambil dari perkebunan desa Tempok, Kecamatan Tompaso, Kabupaten Minahasa kemudian dimaserasi dengan etanol 96% sebanyak 500 ml selama 24 jam.

Metode penelitian yang digunakan yaitu dengan metode serial dilusi (pengenceran bertingkat) dengan perbandingan 1:2 (w/v). Metode pengujian dengan menggunakan turbidimetri dan diukur nilai absorbansi atau nilai kekeruhan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Bakteri *Streptococcus mutans* yang disimpan di media agar, diambil menggunakan jarum ose steril, lalu ditanamkan pada media agar miring dengan cara menggores, kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Bakteri yang telah diremajakan pada media agar miring, diambil koloninya dengan menggunakan jarum ose steril. Koloni yang diambil dimasukkan ke dalam media BHI-B dalam tabung reaksi dan diinkubasi 1x24 jam di dalam inkubator. Kekeruhan suspensi bakteri disesuaikan dengan standar kekeruhan McFarland 1. Sebanyak 11 tabung reaksi steril disiapkan. Setiap tabung uji diberi label 1-9, kemudian tabung 10 diberi label K(+) yang merupakan kontrol positif, yaitu tabung yang berisi *Streptococcus mutans* setara dengan standar kekeruhan McFarland 1. Tabung 11 diberi label K(-) yang merupakan kontrol negatif, yaitu tabung berisi ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia steenis*) dengan konsentrasi 100%. Tabung 1 diisi sebanyak 4 ml konsentrasi 100% ekstrak daun binahong. Tabung 2-9 diisi dengan 2 ml media cair BHI-B. Diambil 2 ml larutan dari tabung 1 menggunakan mikropipet, dimasukkan ke dalam tabung 2, dicampur hingga homogen sehingga didapat konsentrasi 50%. Hal yang sama dilakukan hingga tabung 9 dan didapatkan semua konsentrasi ekstrak dengan perbandingan 1:2 (w/v).

Pengujian dilakukan dengan mengambil suspensi bakteri yang telah disetarakan dengan standar kekeruhan McFarland 1

sebanyak 0,5 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi perlakuan label 1 lalu diukur nilai absorbansi awal dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis. Setelah itu, hal yang sama dilakukan pada tabung perlakuan label 2-9 dan kemudian diinkubasi di dalam inkubator selama 24 jam. Pada penelitian ini, perlakuan diulang sebanyak 2 kali. Setelah 24 jam, KHM ditentukan dengan cara pengamatan kekeruhan secara visual. Bila kekeruhan masing-masing tabung terlihat masih setara atau lebih keruh dari tabung K(+) berarti bakteri masih dapat bertumbuh, tetapi bila larutan dalam tabung perlakuan terlihat lebih jernih dari pada tabung K(+) berarti pertumbuhan bakteri mulai terhambat, yang menunjukkan KHM. Tabung-tabung perlakuan diukur nilai absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis sebagai nilai absorbansi akhir. Jika nilai absorbansi akhir (sesudah inkubasi) masing-masing tabung lebih besar dari nilai absorbansi awal (sebelum inkubasi) berarti masih terjadi pertumbuhan bakteri namun bila sebaliknya tidak terdapat perubahan nilai absorbansi antara nilai absorbansi akhir dengan nilai absorbansi awal atau nilai absorbansi akhir lebih kecil dari nilai absorbansi awal berarti pertumbuhan bakteri dihambat. Hal ini merupakan KHM yang ditentukan dari konsentrasi ekstrak terkecil pada tabung perlakuan yang mulai menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

HASIL PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmasi Fakultas MIPA Universitas Sam Ratulangi untuk pembuatan ekstrak, perlakuan penelitian, pengujian turbidimetri dan pengukuran nilai absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Hasil Uji KHM ekstrak daun binahong terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* pada perlakuan pertama, kedua dan ketiga dengan metode turbidimetri dapat dilihat pada Tabel 1. Penghambatan pertumbuhan bakteri secara minimum dengan uji turbidimetri terjadi pada

konsentrasi 50% karena mulai terlihat jernih dibandingkan tabung konsentrasi kecil dibawahnya yaitu tabung konsentrasi 25% sampai dengan tabung 0,39%.

Tabel 1. Hasil uji KHM ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia steenis*) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* pada perlakuan pertama, kedua dan ketiga dengan metode turbidimetri

Konsentrasi ekstrak daun binahong	Hasil perlakuan		
	I	II	III
100%	-	-	-
50%	-	-	-
25%	+	+	+
12,5%	+	+	+
6,25%	+	+	+
3,125%	+	+	+
1,56%	+	+	+
0,78%	+	+	+
0,39%	+	+	+
K(+)	+	+	+
K(-)	-	-	-

Keterangan: Tanda + menunjukkan larutan di dalam tabung terlihat keruh yang berarti bahwa bakteri *Streptococcus mutans* masih dapat bertumbuh; sedangkan tanda - menunjukkan larutan di dalam tabung terlihat jernih yang berarti bahwa pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* terhambat.

Setelah dilakukan pengamatan secara turbidimetri, dilanjutkan dengan mengukur nilai absorbansi atau nilai kekeruhan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Panjang gelombang sebelum dan sesudah inkubasi yaitu 343,00 nm.

Tabel 2 menunjukkan bahwa pada konsentrasi 100% telah terjadi penurunan nilai absorbansi yang berarti pertumbuhan bakteri dihambat dan pada konsentrasi 25% mengalami kenaikan nilai absorbansi yang berarti terdapat pertumbuhan bakteri. Pada konsentrasi 6,25% terlihat bahwa nilai absorbansi sebelum inkubasi dan sesudah inkubasi turun, sehingga konsentrasi ini ditetapkan sebagai KHM ekstrak daun binahong terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* dengan menggunakan metode Spektrofotometer UV-Vis.

Tabel 2. Hasil uji KHM ekstrak daun binahong terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* pada perlakuan pertama, kedua, dan ketiga dengan pengukuran menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.

Konsentrasi Ekstrak Daun Binahong (<i>Anredera Cordifolia Steenis</i>)	Hasil								Ket.
	Perlakuan I		Perlakuan II		Perlakuan III		Rata-rata		
	Sebelum Inkubasi	Sesudah Inkubasi							
100%	4000	3.899	3.940	3.802	4000	4000	3.980	3.900	Turun
50%	3.807	3.805	3.935	4000	4000	3.849	3.914	3.884	Turun
25%	3.777	3.860	3.816	3.839	4000	3.965	3.864	3.888	Naik
12,5%	3.917	3.883	3.966	3.917	4000	3.992	3.961	3.930	Turun
6,25%	4000	3.924	3.934	3.812	3.798	3.896	3.910	3.877	Turun
3,125%	3.943	3.976	3.892	3.949	3.869	3.871	3.901	3.932	Naik
1,56%	3.712	3.494	3.292	3.940	3.564	3.920	3.522	3.784	Naik
0,78%	3.653	3.948	3.304	3.696	2.841	3.872	3.266	3.838	Naik
0,39%	2.525	3.880	2.521	3.666	2.252	3.864	2.432	3.803	Naik
K (+)	0.559	1.365	0.479	1.391	0.507	1.563	0.515	1.439	Naik
K (-)	0.932	0.655	0.983	1.306	1.910	1.299	1.275	1.086	Turun

Keterangan: "Naik" menunjukkan nilai absorbansi setelah inkubasi > nilai absorbansi sebelum inkubasi, yang berarti bahwa terdapat pertumbuhan bakteri; sedangkan "Tetap" atau "Turun" menunjukkan nilai absorbansi setelah inkubasi ≤ nilai absorbansi sebelum inkubasi, yang berarti bahwa pertumbuhan bakteri terhambat.

BAHASAN

Hasil penelitian yang dilakukan pada tabung perlakuan pertama, kedua dan ketiga yang telah diinkubasi selama 24 jam kemudian dikeluarkan dari inkubator untuk dilakukan uji turbidimetri. Penghambatan pertumbuhan bakteri secara minimum dengan uji turbidimetri terjadi pada konsentrasi 50% karena mulai terlihat jernih dibandingkan tabung konsentrasi kecil dibawahnya yaitu tabung konsentrasi 25% sampai dengan tabung 0,39%. Pada penelitian penetapan KHM dilakukan secara visual yaitu membandingkan tabung konsentrasi dimulai dari tabung konsentrasi 0,39% sampai tabung konsentrasi 100% dibandingkan dengan tabung kontrol positif yang berisi suspensi bakteri setara dengan McFarland 1. Penentuan KHM melalui pengujian turbidimetri dilakukan dengan melihat kekeruhan larutan dalam tabung, bukan melihat kepekatan warna larutan dalam tabung, karena semakin tinggi konsentrasi warna larutan suatu ekstrak, maka semakin besar tingkat aktivitas penghambatannya terhadap pertumbuhan bakteri yang terlihat pada larutan semakin jernih.⁷ Metode turbidimetri memiliki

kelemahan yaitu mata manusia pada saat pengamatan kekeruhan tidak bisa membedakan antara sel bakteri yang hidup dengan sel bakteri yang mati. Oleh karena itu, perlu dilakukan pengujian lebih lanjut dengan cara mengukur nilai absorbansi menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.^{8,9}

Hasil penelitian selanjutnya menggunakan spektrofotometer UV-Vis menunjukkan bahwa pada konsentrasi 6,25% (Tabel 2) mulai terjadi penghambatan pertumbuhan bakteri. Pengamatan menggunakan metode turbidimetri dan menggunakan spektrofotometer UV-Vis memiliki hasil yang berbeda; hal ini terjadi karena nilai absorbansi sesudah dan sebelum inkubasi ialah turun. Konsentrasi 100% telah mengalami penurunan nilai absorbansi, yang berarti dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan maka aktivitas pertumbuhan bakteri dapat semakin berkurang, karena kandungan senyawa yang bersifat sebagai antibakteri dalam ekstrak semakin besar, namun pada penelitian ini konsentrasi 25% mengalami kenaikan nilai absorbansi. Konsentrasi 25% merupakan konsentrasi yang lebih tinggi dari konsentrasi 12,5%

yang seharusnya dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Kenaikan nilai absorbansi pada konsentrasi 25% tidak sepenuhnya karena pertumbuhan bakteri, tetapi dapat juga dipengaruhi oleh kepekatan konsentrasi yang terjadi pada konsentrasi yang lebih tinggi, sehingga dapat memengaruhi penyerapan cahaya oleh sel-sel bakteri yang mati di dalam larutan.^{10,11}

Salah satu kekurangan alat spektrofotometer UV-Vis yaitu cahaya yang diserap tidak dapat membedakan antara sel-sel bakteri mati dan yang hidup.¹¹ Kelemahan spektrofotometer UV-Vis dapat diminimalisasi dengan menggunakan alat *high performance liquid chromatography* (HPLC) atau kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). Kromatografi adalah teknik analisis yang berbasis pada pemisahan molekul-molekul berdasarkan perbedaan struktur dan/atau komposisinya.

Dengan menggunakan metode turbidimetri didapatkan hasil KHM pada konsentrasi 50% sedangkan dengan mengukur nilai absorbansi mendapatkan hasil KHM pada konsentrasi 6,25%. Hasil turbidimetri atau pengukuran kekeruhan secara visual sebenarnya sudah cukup untuk menentukan KHM, tetapi kemampuan mata manusia bersifat subjektif sehingga dapat menimbulkan kesalahan karena larutan berwarna kecoklatan yang hampir sama. Oleh karena adanya keterbatasan dengan menggunakan metode turbidimetri, maka dilakukan pengukuran nilai absorbansi dengan spektrofotometer UV-Vis. Nilai KHM dari penelitian ini ditentukan dengan metode yang akurat menggunakan spektrofotometer UV-Vis yaitu pada konsentrasi 6,25%.¹²

SIMPULAN

Konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* Steenis) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* yaitu konsentrasi 6,25%.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji konsentrasi hambat minimum

(KHM) ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* Steenis) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* dengan menggunakan metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) untuk memperoleh hasil yang lebih akurat. Diharapkan penelitian lanjut untuk melakukan uji konsentrasi bunuh minimum (KBM) ekstrak daun binahong terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Pratiwi ST. Buku Mikrobiologi Farmasi. Jakarta: Erlangga, 2008; p.177.
2. Tjahja I, Jovina T, Sintawati, Agtini MD, Kristanti CH, Sekratuti, et al. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Dapertemen Kesehatan RI Laporan Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) Nasional. Jakarta, 2013; p. 110-1.
3. Hariana HA. 262 Tumbuhan Obat dan Khasiat. Jakarta Timur: Penebar Swadaya, 2013; p. 60.
4. Manoi F. Binahong (*Anredera cordifolia*) sebagai obat. Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri. 2009;15(1):3-5.
5. Utami P. Buku Pintar Tanaman Obat. Jakarta Selatan: AgroMedia, 2008; p. 37-9.
6. Rimporok S, Kepel JB, Siagian KV. Uji efektifitas ekstrak daun binahong (*Anredera Cordifolia* Steenis) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* secara in vitro [Skripsi]. Manado: Universitas Sam Ratulangi; 2015.
7. Dewi FK. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol buah mengkudu (*Morinda citrifolia*, Linnaeus) terhadap bakteri pembusuk daging segar. Surakarta: Universitas Sebelas Maret; 2010.
8. Sastrohamidjojo H. Dasar-dasar Spektroskopi. Yogyakarta: Liberty, 1991; p. 22-3.
9. Cairns D. Intisari Kimia Farmasi (2nd ed). Jakarta: EGC, 2004; p. 160.
10. Watson DG. Pharmaceutical Analysis (2nd ed). London: Elsevier, 2005; p. 88.
11. Eckschlager K. Kesalahan Pengukuran dan Hasil dalam Analisis Kimia. Jakarta: Ghalia Indonesia, 1994; p. 104-6.
12. Khunaifi M. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun binahong (*Anredera Cordifolia* Steenis) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* [Skripsi]. Malang: Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri; 2010.