

Uji Konsentrasi Hambat Minimum Ekstrak Daun Gedi (*Abelmoschus manihot* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus Mutans*

¹Helen N. Sekeon
²Heriyannis Homenta
¹Michael A. Leman

¹Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran
²Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran
Universitas Sam Ratulangi Manado
Email: helenoviane@yahoo.com

Abstract: *Streptococcus mutans* is the most common bacterium that causes dental caries due to its ability to ferment carbohydrates into acid resulting in the decreased pH on the tooth surface. Prevention of dental caries could be achieved by inhibiting the growth of cariogenic bacteria. Various efforts to control and prevent the cariogenic bacteria include the usage of herbal ingredients; one of them is gedi leaves (*Abelmoschus manihot* L.). These gedi leaves contain bioactive compounds such as flavonoids, alkaloids, steroids, and saponins. This study was aimed to prove that gedi leaf extract had inhibitory effect on the growth of *S. mutans* and to obtain the minimum inhibitory concentration (MIC) of this extract on the growth of *S. mutans*. This was a true experimental design with a randomized pretest-posttest control group design. Gedi leaf extract was obtained by maceration method in 96% ethanol. The results showed that gedi leaf extract had an antibacterial effect on the growth of *S. mutans*. We used turbidimetry, UV-Vis spectrophotometer, and two times of treatment to obtain the MIC of gedi leaf extract on *Streptococcus mutans* which was 6.25%. **Conclusion:** Gedi leaf extract could inhibit the growth of *S. mutans* with a MIC of 6.25%.

Keywords: dental caries, gedi leaf extract (*Abelmoschus manihot* L.), *Streptococcus mutans*

Abstrak: *Streptococcus mutans* merupakan bakteri yang paling banyak menyebabkan karies gigi karena bakteri ini berkemampuan memfermentasi karbohidrat menjadi asam yang berakibat turunnya pH pada permukaan gigi. Pencegahan karies gigi dapat dicapai dengan menghambat pertumbuhan bakteri kariogenik. Berbagai upaya dilakukan untuk mengendalikan dan mencegah bakteri kariogenik, antara lain dengan menggunakan bahan herbal; salah satunya yaitu tanaman gedi (*Abelmoschus manihot* L.). Daun gedi mengandung senyawa bioaktif antara lain flavonoid, alkaloid, steroid, dan saponin. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan efek inhibisi ekstrak daun gedi terhadap pertumbuhan *S. mutans* dan mendapatkan konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun gedi terhadap pertumbuhan bakteri *S. mutans*. Jenis penelitian ini ialah eksperimental murni dengan *randomized pretest-posttest control group design*. Ekstrak daun gedi dibuat dengan metode maserasi dengan menggunakan etanol 96%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun gedi (*Abelmoschus manihot* L.) memiliki efek antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Dengan menggunakan metode turbidimetri dan spektrofotometer UV-Vis dalam 2 (dua) kali perlakuan maka diperoleh KHM ekstrak daun gedi (*Abelmoschus manihot* L.) terhadap bakteri *Streptococcus mutans* terdapat pada konsentrasi 6,25%. **Simpulan:** Ekstrak daun gedi dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* dengan KHM pada konsentrasi 6,25%.

Kata kunci: karies gigi, ekstrak daun gedi (*Abelmoschus manihot* L.), *Streptococcus mutans*

Kesehatan merupakan salah satu aspek penting dalam kehidupan manusia sehari-hari. Oleh sebab itu, masyarakat pada umumnya selalu berusaha untuk tetap menjaga kesehatan, termasuk kesehatan gusi dan rongga mulut yang sehat. Namun kenyataannya, sebagian besar masih mengabaikan kondisi kesehatan gigi dan mulut mereka.¹ Kebersihan gigi dan mulut yang buruk menyebabkan akumulasi plak pada rongga mulut, lebih khusus pada gigi. Plak mengandung berbagai macam bakteri yang berperan dalam proses fermentasi metabolisme dan menghasilkan komponen monosakarida, fruktosa, dan glukosa yang menyebabkan terjadinya akumulasi bakteri yang berakibat lanjut terjadinya demineralisasi pada rongga mulut khususnya gigi dan infeksi pada rongga mulut.²

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.³ Karies gigi merupakan masalah kesehatan gigi dan mulut yang sering terjadi di Indonesia. Karies gigi merupakan suatu penyakit jaringan keras gigi yaitu terjadi pada email, dentin dan sementum yang disebabkan oleh aktivitas jasad renik dalam karbohidrat. Empat faktor penyebab utama karies yaitu hospes, substrat, bakteri, dan waktu. Salah satu bakteri penyebab karies yaitu *Streptococcus mutans*.⁴

Streptococcus mutans merupakan bakteri yang paling banyak menyebabkan karies gigi, karena bakteri ini memiliki kemampuan memfermentasi karbohidrat menjadi asam yang berakibat turunnya pH permukaan gigi. Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk mencegah karies gigi yaitu dengan menghambat pertumbuhan bakteri kariogenik, sehingga terbentuknya dan meluasnya koloni bakteri serta produksi asam dapat dikurangi. Penggunaan antibakteri bisa dijadikan pilihan, baik yang bersifat menghambat pertumbuhan maupun membunuh bakteri.⁵

Telah banyak upaya yang dilakukan untuk mengurangi angka karies gigi di

Indonesia, tetapi usaha tersebut belum cukup mampu untuk mengurangi angka kejadian karies gigi yang masih sangat tinggi. Berbagai upaya dilakukan untuk mengendalikan dan mencegah bakteri penyebab karies gigi, di antaranya dengan menggunakan bahan herbal. Salah satu bahan herbal yang dimanfaatkan sebagai obat tradisional ialah daun geddi dengan nama ilmiah yaitu *Abelmoschus manihot* L.⁶ Tanaman ini berkhasiat sebagai antibakteri karena daunnya mengandung senyawa bioaktif. Senyawa bioaktif adalah senyawa kimia yang dihasilkan tanaman dari reaksi biokimia jalur sekunder akibat dari reaksi jalur primer karbohidrat, asam amino, dan lipid. Daun geddi (*Abelmoschus manihot* L) juga mengandung zat-zat makanan seperti protein, polisakarida dalam *mucilase*, dan asam lemak heptadekanoat dan pentadekanoat yang tinggi, serta mengandung metabolit sekunder flavonoid, stigmasterol, γ -sitosterol, asam fenolat, dan klorofil.⁷

Pemberian antibakteri dengan menggunakan bahan herbal merupakan salah satu pilihan dan merupakan pengobatan relatif lebih terjangkau. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum pada ekstrak daun geddi (*Abelmoschus manihot* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini ialah eksperimental murni dengan *randomized pretest-posttest control group design*. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Fakultas MIPA Universitas Sam Ratulangi pada bulan Maret-April 2017. Subjek dalam penelitian ini yaitu bakteri biakan murni *Streptococcus mutans* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Farmasi Fakultas MIPA Universitas Sam Ratulangi Manado.

Metode pengujian yang dipakai dalam penelitian ini ialah metode *turbidimetri* atau pengujian kekeruhan secara visual, kemudian dilanjutkan dengan menggunakan alat spektrofotometer untuk melihat nilai absorban sebagai penentu kekeruhan

yang akurat. Untuk menguji kekeruhan, diambil media suspensi bakteri yang sudah disetarakan dengan 2 ml, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi perlakuan label satu lalu diukur nilai absorbansi awal dengan spektrofotometer. Hal yang sama dilakukan pada tabung perlakuan label 2-9. Setiap tabung yang telah diketahui nilai absorbansi awal dimasukkan ke dalam inkubator dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam. Pada penelitian ini, perlakuan dan pengujian diulang sebanyak dua kali.

Setelah media tabung perlakuan diinkubasi selama 1x24 jam, semua tabung tersebut dilihat kekeruhannya secara visual. Apabila kekeruhan masing-masing tabung masih setara atau lebih keruh dari tabung kontrol (+)/K (+) yang berisi suspensi bakteri *Streptococcus mutans* sesuai standar kekeruhan McFarland I, berarti bakteri masih dapat bertumbuh. Bila larutan dalam tabung terlihat mulai lebih jernih daripada tabung K (+), berarti pertumbuhan bakteri mulai terhambat, yang menunjukkan konsentrasi hambat minimum (KHM).

Sesudah media tabung perlakuan diinkubasi selama 1x24 jam, semua tabung perlakuan tersebut diukur lagi nilai absorbansinya dengan spektrofotometer

sebagai nilai absorbansi akhir. Jika nilai absorbansi akhir (sesudah inkubasi) masing-masing tabung lebih besar dari nilai absorbansi awal (sebelum inkubasi), maka disimpulkan bahwa masih terjadi pertumbuhan bakteri. Namun, jika tidak terdapat perubahan nilai absorbansi antara nilai absorbansi akhir dengan absorbansi awal, atau nilai absorbansi akhir lebih kecil dari nilai absorbansi awal, maka disimpulkan bahwa pertumbuhan bakteri dihambat. KHM ditentukan dengan konsentrasi ekstrak terkecil pada tabung perlakuan yang sudah mulai menghambat pertumbuhan bakteri.

HASIL PENELITIAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan di Laboratorium Farmasi Fakultas MIPA Universitas Sam Ratulangi didapatkan data tentang Kadar Hambat Minimum (KHM) ekstrak daun gedi terhadap bakteri *Streptococcus mutans*, yang dilihat menggunakan metode turbidimetri dan spektrofotometer UV-Vis. Tabel 1 menunjukkan pengujian menggunakan metode turbidimetri dengan dua kali perlakuan. Perlakuan pertama dan kedua menunjukkan konsentrasi hambat minimum (KHM) terlihat pada konsentrasi 6,25%.

Tabel 1. Hasil pengujian menggunakan metode turbidimetri dari ekstrak daun gedi terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*

Nomor tabung	Konsentrasi ekstrak daun gedi (%)	Hasil	
		Perlakuan pertama	Perlakuan kedua
1	100	-	-
2	50	-	-
3	25	-	-
4	12,5	-	-
5	6,25	-	-
6	3,125	-	+
7	1,56	-	+
8	0,78	+	-
9	0,39	+	-
10	K (+)	-	-
11	K (-)	-	+

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

Tabel 2 menunjukkan bahwa pada konsentrasi 100% telah terjadi penurunan nilai absorbansi, kemudian pada konsentrasi 50% terjadi kenaikan nilai absorbansi. Kemudian pada konsentrasi 25% telah terjadi penurunan nilai absorbansi, kemudian pada konsentrasi 3,125% dan konsentrasi 1,56 terjadi

kenaikan nilai absorbansi. Pada konsentrasi 0,78% nilai absorbansi tetap. Pada konsentrasi 6,25% terjadi penurunan dan diikuti konsentrasi 12,5%-25% terus terjadi penurunan, sehingga konsentrasi 6,25% ditetapkan sebagai kadar hambat minimum ekstrak daun gedi terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

Tabel 2. Hasil pengujian menggunakan spektrofotometer UV-Vis ekstrak daun gedi terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*

Konsentrasi ekstrak daun gedi (%)	Hasil						Ket
	Perlakuan I		Perlakuan II		Rerata		
	Sebelum inkubasi	Sesudah inkubasi	Sebelum inkubasi	Sesudah inkubasi	Sebelum inkubasi	Sesudah inkubasi	
100	0,707	0,726	1,788	1,574	1,2475	1,15	Turun
50	0,466	0,480	1,301	1,301	0,8835	0,8905	Naik
25	0,470	0,365	1,013	1,006	0,7415	0,6855	Turun
12,5	0,389	0,324	1,305	1,183	0,847	0,7535	Turun
6,25	0,295	0,181	1,246	1,127	0,7705	0,654	Turun
3,125	0,179	0,159	1,142	1,474	0,6605	0,8165	Naik
1,56	0,153	0,150	0,995	1,272	0,574	0,711	Naik
0,78	0,142	0,155	1,135	1,121	0,6385	0,638	Tetap
0,39	0,137	0,155	0,946	0,887	0,5415	0,521	Turun
K (+)	0,928	0,845	1,035	1,035	0,9815	0,94	Turun
K (-)	0,515	0,508	1,005	1,087	0,76	0,7975	Naik

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

Pada penelitian ini dilakukan uji KHM ekstrak daun gedi terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* dengan menggunakan metode serial dilusi perbandingan 1:2 (w/v) yaitu 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%, 0,78%, dan 0,39%. Terdapat dua cara pengujian: 1) Uji turbidimetri, yaitu melihat nilai kekeruhan secara visual; dan 2) pengukuran nilai absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Perlakuan dilakukan setelah diinkubasi selama 24 jam.

Uji turbidimetri dengan penglihatan secara kasat mata pada 2 kali perlakuan, mendapatkan konsentrasi 6,25% (Tabel 1) merupakan KHM ekstrak daun gedi terhadap pertumbuhan bakteri *S. mutans*.

Pada konsentrasi 100% dan 50% (Tabel 1) larutan dalam tabung terlihat jernih, setelah diamati hasilnya tidak terjadi pertumbuhan bakteri atau terhambat. Begitu juga pada konsentrasi 25% (Tabel 1) dengan larutan semakin jernih, hasilnya pertumbuhan bakteri terhambat. Dengan metode pengujian secara visual (turbidimetri) sudah dapat ditentukan KHM namun metode ini memiliki kelemahan yaitu mata manusia pada saat melakukan pengamatan kekeruhan tidak bisa membedakan antara sel bakteri yang hidup dengan sel bakteri yang mati dan larutan bisa mencapai warna yang pekat sehingga hasil pengamatan kurang akurat. Oleh karena itu perlu dilakukan pengujian lebih lanjut dengan cara mengukur nilai absorbansi menggunakan spektro-

fotometer UV-Vis agar lebih akurat.^{8,9}

Pengukuran menggunakan spektrofotometer UV-Vis dilakukan sebelum dan sesudah inkubasi 24 jam yang dilihat melalui selisih hasil pengukuran nilai absorbansi sebelum dan sesudah inkubasi. Jika nilai absorbansi sebelum diinkubasi lebih tinggi dibandingkan nilai absorbansi sesudah diinkubasi maka pertumbuhan bakteri terhambat. Sebaliknya jika nilai absorbansi sesudah inkubasi lebih tinggi dibandingkan sebelum diinkubasi maka masih terjadi pertumbuhan bakteri.¹⁰ Inkubasi dilakukan dengan tujuan untuk mendapatkan sebuah biakan yang murni tanpa adanya mikroba lain yang tidak diinginkan ikut tumbuh.¹¹

Pada konsentrasi 100% terjadi penurunan nilai absorbansi, kemudian pada konsentrasi 50% terjadi kenaikan nilai absorbansi dimana hasil rerata nilai absorbansi sesudah inkubasi lebih tinggi dibandingkan sebelum inkubasi. Hal ini dikarenakan larutan dalam tabung masih pekat sehingga terjadi banyak penyerapan cahaya yang masuk sehingga menyebabkan terjadinya pertumbuhan bakteri. Selain itu juga, peningkatan nilai absorbansi pada konsentrasi 50% pada perlakuan pertama setelah inkubasi 1x24 jam dapat terjadi akibat faktor kelemahan alat spektrofotometer UV-Vis. Kelemahan dari spektrofotometer UV-Vis yaitu dalam selektivitas untuk membedakan sampel dengan partikel-partikel lain/kontaminan yang menyerap cahaya dalam panjang gelombang yang sama. Juga dapat disebabkan oleh karena besarnya cahaya yang diserap oleh larutan dalam tabung tidak sepenuhnya diserap oleh senyawa ekstrak, tetapi juga ikut terserap oleh sel bakteri yang telah mati. Selain itu, partikel lain yang berupa larutan sisa ekstrak yang tidak homogen bersama larutan juga dapat menyerap cahaya.

Pada konsentrasi 25% dan 12,5% telah terjadi penurunan nilai absorbansi sampai pada konsentrasi 6,25%. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa konsentrasi 6,25% merupakan KHM ekstrak daun gedi terhadap pertumbuhan bakteri *S. mutans*.

Melalui hasil penelitian terdapat perbedaan KHM ekstrak daun gedi terhadap pertumbuhan bakteri *S. mutans* yang dianalisis menggunakan metode turbidimetri dan spektrofotometer UV-Vis. Hal ini dapat disebabkan karena adanya perbedaan prinsip kerja dari masing-masing metode dimana pada metode turbidimetri peneliti hanya melihat hasil secara visual, dengan melihat kekeruhan perlakuan dibandingkan dengan Mc Farland 1, yang memberikan hasil KHM ekstrak daun gedi sebesar 6,25%.^{9,10}

Metode spektrofotometer UV-Vis menunjukkan hasil yang didapatkan bersifat kuantitatif yaitu bakteri dapat menyerap cahaya dalam gelombang panjang, tetapi dapat juga sampel dengan partikel-partikel lain atau kontaminan yang menyerap cahaya dalam panjang gelombang yang sama.^{12,13} Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) atau *High Pressure Liquid Chromatography* (HPLC) merupakan salah satu metode kimia dan fisikokimia. KCKT termasuk metode analisis terbaru yaitu suatu teknik kromatografi dengan fasa gerak cairan dan fasa diam cairan atau padat. Metode ini mempunyai banyak kelebihan jika dibandingkan dengan metode lainnya.¹⁴ Dapat disimpulkan bahwa metode HPLC memiliki hasil yang lebih baik dari pada metode spektrofotometri dari segi keakuratan, ketelitian, dan sensitivitas dalam membaca nilai absorbansi.

Uji KHM ekstrak daun gedi terhadap pertumbuhan bakteri *S. mutans* belum pernah dilakukan sebelumnya. Pada penelitian ini, konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun gedi (*Abelmoschus manihot* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *S. mutans* yaitu konsentrasi 6,25% yang diperoleh melalui hasil pengukuran dengan spektrofotometer UV-Vis.

SIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun gedi (*Abelmoschus manihot* L.) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dengan konsentrasi hambat minimum (KHM) terdapat pada 6,25%.

SARAN

Penelitian lanjut untuk mengetahui KHM dengan menggunakan metode turbidimetri dan spektrofotometer UV-Vis sebaiknya dilakukan dengan minimal 3 perlakuan sehingga dapat memberikan hasil rerata yang lebih akurat. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai nilai konsentrasi bunuh minimum (KBM) ekstrak daun gedi (*Abelmoschus manihot* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

Penelitian mengenai uji konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun gedi (*Abelmoschus manihot* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dapat juga menggunakan metode *High-Performance Liquid Chromatography* (HPLC) untuk memperoleh hasil yang lebih akurat.

DAFTAR PUSTAKA

- 1. Lolongan R, Waworuntu O, Mintjelungan C.** Uji konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun pacar air (*Impatiens balsamina* L.) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*. eG. 2016;4(2):242.
- 2. Pratiwi ST.** Buku Mikrobiologi Farmasi. Jakarta: Erlangga, 2008; p.177.
- 3. Tjahja I, Jovina T, Sintawati, Agtini MD, Kristanti CH, Sekratuti, et al.** Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI Laporan Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) Nasional. Jakarta, 2013; p. 110-1.
- 4. Kidd EAM, Joyston S.** Dasar-dasar Karies Penyakit dan Penanggulangannya. Jakarta: EGC, 2002; p.1-2.
- 5. Rakhmanda AP.** Perbandingan efek anti bakteri jus nanas (*Ananas comosus* L.Merr) pada berbagai konsentrasi terhadap *Streptococcus mutans* [Artikel Karya Ilmiah]. Semarang: Universitas Diponegoro; 2008.
- 6. Niu C, Gilbert ES.** Colorimetric method for identifying plant essential oil components that affect biofilm formation and structure. Appl Environ Microbiol. 2004;70(12):6951-6.
- 7. Soares LAL, Valquiria LB, George GO, Pedro RP.** Total flavonoid determination for the quality control of aqueous extractives from *Phyllanthus niruri* L. Lat Am J Pharm. 2003;22(3): 203-7.
- 8. Michel C, Blanc G.** Minimum inhibitory concentration methodology in aquaculture: the temperature. Aquaculture. 2001;196:311-8.
- 9. Septian K.** Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak spons laut *Callyspongia* sp. terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Dentire. 2016;5(1):5-10.
- 10. Sitompul R.** Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak daun gedi (*Abelmoschus manihot* L. Medik) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Dentire. 2016;5(1):21-7.
- 11. Harti SA.** Mikrobiologi Kesehatan (1st ed). Yogyakarta: Penerbit Andi, 2015; p. 124-6.
- 12. Watson DG.** Pharmaceutical Analysis (2nd ed). London: Elsevier, 2005; p. 88.
- 13. Cioabla AE,** editor. Spectrophotometry. Principle and Applications. Workshop in the frame of the project: sustainable development of a research center in Banat region and Danube flow area through scientific research and environmental simulation tools to asses and evaluate potential threats. Zrenjanin, Republic of Serbia: Envirobanat, 2013; p. 1.
- 14. Putra EDL.** Kromatografi cair kinerja tinggi dalam bidang farmasi. Medan; Universitas Sumatera Utara; 2004.