

Perbedaan Efektifitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) pada *Porphyromonas gingivalis* dan *Streptococcus viridans*.

Peni Pujiastuti¹, Sri Lestari²

¹ Bagian Periodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

² Bagian Konservasi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Abstract

Dental caries and periodontal disease has been experienced by about 90% of the people of Indonesia. *Porphyromonas gingivalis* is a major cause of periodontal disease particularly periodontitis. *Streptococcus viridans* is a cause of the disease and root canal pulp. Both microorganisms are gram-negative and gram-positive anaerobic bacteria. Periodontal disease and dental caries can be prevented by reducing bacteria on teeth using antibacterial material. The red betel leaf extract as traditional plants can be used as an antibacterial material. The purpose of this study was to determine differences in the effectiveness of antibacterial extract of red betel leaf (*piper crocatum*) in *Porphyromonas gingivalis* and *Streptococcus viridians*. This study used 16 diffusion wells and divided into 2 groups: group I *Porphyromonas gingivalis* were given red betel leaf extract and *Streptococcus viridans* group II were given red betel leaf extract. The wells diffusion incubated for 24 hours at 37 ° C and it measured the inhibition zone diameter. The results showed that the average diameter of inhibition zone *Porphyromonas gingivalis* were given red betel leaf extract is greater than *Streptococcus viridans*. Independent T-test results showed significant differences in both the test group ($p < 0.05$). Conclusion The study showed that the antibacterial power of red betel leaf extract in *Porphyromonas gingivalis* is more effective than the red betel leaf extract in the *Streptococcus viridians*.

Keywords: red betel leaf extract (*Piper crocatum*), *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus viridians*

Korespondensi (Correspondence): Peni Pujiastuti, Bagian Periodonsia FKG Universitas Jember Jl. Kalimantan 37 Jember 68121. E-mail: peni_puji@yahoo.co.id

Penyakit gigi dan mulut menduduki urutan pertama dari daftar 10 besar penyakit yang paling sering dikeluhkan masyarakat Indonesia. Masalah utama kesehatan gigi dan mulut yang paling banyak dijumpai adalah karies gigi dan penyakit periodontal. Berdasarkan Hasil Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) tahun 2004, bahwa penyakit karies gigi dan penyakit periodontal telah dialami oleh sekitar 90% masyarakat Indonesia dengan prevalensi karies gigi sebesar 90,05% dan prevalensi penyakit periodontal 96,58%¹. Prevalensi karies gigi dan penyakit periodontal yang tinggi dan tidak dirawat dapat menyebabkan tanggalnya gigi secara dini. Dengan melakukan perawatan gigi lebih awal dapat mempertahankan gigi didalam rongga mulut selama mungkin.

Karies gigi adalah suatu penyakit jaringan keras gigi yaitu email, dentin dan sementum yang disebabkan oleh aktivitas jasad renik dalam suatu karbohidrat yang diragikan². Proses karies gigi yang berkembang dan tidak dilakukan perawatan akan berlanjut mengenai ruang pulpa yang menyebabkan terjadinya infeksi pulpa. Karies gigi yang berkelanjutan akan menginvasi ke dalam saluran akar sehingga dapat menyebabkan infeksi saluran akar³.

Mikroorganisme penyebab utama pulpitis ireversibel, penyakit periapikal dalam saluran akar dan paling banyak di dalam rongga mulut adalah *Streptococcus viridans* kurang lebih 63%⁴. Salah satu bakteri dominan dalam pulpa yang terinfeksi adalah *Streptococcus viridians*⁵. *Streptococcus viridians* merupakan golongan bakteri gram positif anaerobik.

Penyakit periodontal adalah penyakit pada jaringan penyangga gigi (periodontium) yang disebabkan oleh bakteri plak. Jaringan penyangga gigi meliputi gingiva, ligamen periodontal, sementum dan tulang alveolar. Penyakit periodontal diawali dengan penyakit gingivitis yang dapat berlanjut menjadi periodontitis. Periodontitis adalah peradangan pada jaringan periodontal yang ditandai migrasi junctional epithelium ke apikal, kehilangan perlekatan dan resorpsi puncak tulang alveolar⁶.

Penyebab utama penyakit periodontal adalah bakteri plak. Kandungan bakteri plak yaitu golongan bakteri gram negatif fakultatif seperti *Prevotella loeschii*, *Prevotella intermedia*, *Capitocytophaga spp*, *Fusobacterium nucleatum* dan *Porphyromonas gingivalis*⁶. *Porphyromonas gingivalis* adalah bakteri gram negatif anaerobik yang merupakan etiologi utama pada perkembangan dan peningkatan periodontitis, khususnya pada periodontitis kronis⁷.

Salah satu tanaman tradisional yang mempunyai bahan antibakteri adalah sirih merah. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Puspitasari dalam⁸ secara kromatografi sirih merah mengandung flavonoid, alkaloid senyawa polifenolat, tannin, saponin dan minyak atsiri. Senyawa-senyawa tersebut diketahui memiliki sifat antibakteri terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif.

Adanya perbedaan golongan bakteri gram positif dan gram negatif maka peneliti ingin mengetahui perbedaan efektifitas antibakteri ekstrak daun sirih merah

(*Piper crocatum*) pada *Porphyromonas gingivalis* dan *Streptococcus viridans*.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang dilakukan adalah eksperimental laboratories dengan rancangan penelitian yaitu *the post test only control group design*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

1. Pembuatan Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum*)

Daun sirih sebanyak 100gr, dicuci sampai bersih, kemudian ditiriskan dan diangin-anginkan hingga kering. Daun yang sudah kering dihaluskan dengan blender hingga berbentuk serbuk yang akan digunakan untuk pembuatan ekstrak. Serbuk yang telah halus dimaserasi dengan etanol 96% sebanyak 1,5 lt selama 24 jam. Hasil maserasi disaring dengan menggunakan kertas saring sehingga diperoleh ekstrak dalam bentuk cair. Ekstrak cair tersebut kemudian diuapkan sampai bebas dari pelarut etanol dengan menggunakan *rotatory evaporator* pada suhu 40°C selama 3 jam, sehingga menjadi ekstrak berbentuk kental sebanyak 29,2 gram, sehingga didapat ekstrak sirih dengan konsentrasi 100%.

2. Membuat suspensi *Porphyromonas gingivalis* dan *Streptococcus viridans*

Cara membuat suspensi *Porphyromonas gingivalis* adalah dengan mencampur 2 ml larutan BHI-B steril dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 ose *Porphyromonas gingivalis*. Tabung reaksi tersebut dimasukkan ke dalam *desicator* kemudian diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam dengan suhu 37°. Setelah itu dilakukan pengenceran dengan menambah *aquadest steril*, dihomogenkan di atas *sentrifuge* dan diukur absorbansinya dengan standar Mc Farland 0,5 dengan absorbansi 0,05 dan panjang gelombang 560 nm dengan menggunakan *spektrofotometer*.

Sediaan *Streptococcus viridans* diambil 1 ose dari stok kuman *Streptococcus viridans* dan dimasukkan ke dalam tabung yang berisi 2 cc media BHI-B, dimasukkan ke dalam *desicator* dan diinkubasi dalam inkubator selama 1x24 jam dengan suhu 37°C. Setelah diinkubasi, bakteri distandardisasi dengan standar 0,5 Mc. Farland (1,5 x 10⁸ CFU/ml).

3. Mempersiapkan media lempeng BHI-A (*Brain Heart Infusion Agar*) untuk *Porphyromonas gingivalis*

Pembuatan plate dilakukan dengan mencampur 3,7 gram BHI-A dan dilarutkan dalam 100 ml *aquadest steril*. Kemudian ditambahkan vit.K 10 µl ditambahkan hemin 50 µl kemudian ditambahkan yeast ekstrak 500 µl dan diaduk sampai homogen. Media agar tersebut disterilkan dalam *autoclave*

pada suhu 121°C selama 15 menit. Kemudian dituang dalam *petridish* yang telah disterilkan setebal 2 mm. Inokulasikan 0,5 ml dengan suspensi bakteri *Porphyromonas gingivalis* dengan menggunakan pipet pada saat masih hangat dan diaduk dengan menggunakan gigaskrin, tunggu ± 15 menit sampai memadat dan diletakkan dalam keadaan terbalik.

4. Persiapan Media BHI-A (*Brain Heart Infusion Agar*) untuk *Streptococcus viridans*

Menimbang 5,2 gram bubuk BHI-A menggunakan neraca dan mengukur aquades steril sebanyak 100 ml menggunakan gelas ukur. Kedua bahan tersebut dimasukkan dalam tabung *Erlenmeyer*, kemudian diaduk dengan spatula sampai homogen dan dipanaskan sampai mendidih. Tabung *Erlenmeyer* ditutup dengan kapas steril supaya tidak ada kontaminan yang masuk dan disterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah media sudah hangat dengan suhu 40-50°, kemudian dituangkan ke *petridish* steril dengan ketebalan 4mm, didiamkan sampai padat kemudian dimasukkan ke dalam *desicator* dan diinkubasi dalam incubator selama 24 jam dengan suhu 37°C.

5. Perlakuan Uji Antibakteri dengan Metode Difusi Sumuran

a. Uji antibakteri *Porphyromonas gingivalis*

Pada bagian bawah masing-masing *petridish* yang berisi media lempeng BHIA diberi kertas label bertuliskan sirih merah (SM) pada bagian tepi diberi tanda nomor urut *petridish* 1 sampai 8. Pada *petridish* media yang telah mengandung *Porphyromonas gingivalis* dibuat lubang sumuran dengan diameter 5 mm menggunakan sedotan plastik. Pada lubang sumuran dengan dimasukkan ekstrak daun sirih merah sebanyak 10 µL dengan menggunakan mikropipet dan *petridish* diberi kode SM P. Untuk setiap perlakuan dilakukan pengulangan 8 kali. 8 *petridish* dimasukkan ke dalam *desicator*. *Petridish* dibiarkan supaya terjadi difusi kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah dikeluarkan dari inkubator segera diamati daerah pertumbuhan bakteri yang terjadi dan diukur diameter zona hambat dalam milimeter dengan menggunakan jangka sorong.

b. Uji antibakteri *Streptococcus viridans*

Suspensi bakteri *Streptococcus viridans* diambil dari tabung reaksi menggunakan *syringe* sebanyak 0,5 ml, dituangkan ke dalam media BHI-A yang steril dan masih cair, kemudian diratakan dengan gigaskrin. Suspensi bakteri *Streptococcus viridans* dibiarkan selama 15 menit agar dapat beradaptasi dengan media agar. Media yang sudah padat dilubangi menggunakan potongan sedotan dengan

cara menancapkan sedotan pada media biakan sehingga membentuk lubang sumuran dengan diameter 5 mm. Tiap *petridish* diberi kertas kode SM V pada bagian tepi diberi tanda nomor urut *petridish* 1 sampai 8. Masukkan ekstrak daun sirih merah ke dalam lubang sumuran sebanyak 5 μ L dengan mikropipet. Setiap *Petridish* dimasukkan ke *desicator* untuk mendapatkan suasana fakultatif anaerob. Kemudian *desicator* diletakkan dalam inkubator dengan suhu 37°C dan diamati setelah 24 jam. Setelah dikeluarkan dari inkubator segera diamati daerah pertumbuhan bakteri yang terjadi dan diukur diameter zona hambat dalam milimeter dengan menggunakan jangka sorong.

HASIL

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil rata-rata zona hambat ekstrak daun sirih merah pada *Porphyromonas gingivalis* dan *Streptococcus viridians* seperti yang terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata diameter zona hambat ekstrak daun sirih merah pada *Porphyromonas gingivalis* dan *Streptococcus viridians* (mm).

	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	<i>Streptococcus viridians</i>
Rata	10,34	8,42
SD	1,29	0,35

Pada table 1 menunjukkan rata-rata zona hambat pada kelompok *Porphyromonas gingivalis* adalah 10,34 mm sedangkan kelompok *Streptococcus viridians* adalah 8,42 mm sehingga dapat dikatakan rata-rata zona hambat pada kelompok *Porphyromonas gingivalis* lebih besar dari pada kelompok *Streptococcus viridians*. Selanjutnya untuk melihat perbedaan dari dua kelompok tersebut dilakukan uji t. Dari hasil uji t didapatkan adanya perbedaan yang signifikan antara daya antibakteri ekstrak daun sirih merah pada *Porphyromonas gingivalis* dan *Streptococcus viridians* $p=0,000$ ($p<0,05$).

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil pengukuran zona hambat pada Tabel 1 terlihat bahwa ekstrak daun sirih merah pada *Porphyromonas gingivalis* mempunyai diameter zona hambat lebih besar dari pada ekstrak daun sirih merah pada *Streptococcus viridians* dengan rata-rata diameter zona hambat pada kelompok *Porphyromonas gingivalis* 10,34 mm sedangkan kelompok *Streptococcus viridians* 8,42 mm.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Puspitasari dalam ⁸, secara kromatografi senyawa antibakteri yang terdapat pada daun sirih merah yaitu flavonoid, alkaloid senyawa polifenolat, tannin, saponin dan minyak atsiri. Flavonoid

berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri ⁸. Menurut Dwidjoseputro dalam ⁸, flavonoid merupakan senyawa fenol dapat bersifat koagulator protein. Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme yang diduga adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut.

Tanin merupakan kandungan tumbuhan yang bersifat fenol. Tanin sebagai senyawa metabolik sekunder pada tumbuhan yang bersifat antibakteri. Tanin dapat mengerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri akibatnya sel tidak dapat melakukan aktivitas hidupnya sehingga pertumbuhan terhambat atau sel menjadi mati ⁹.

Minyak atsiri sirih merah secara kromatografi mengandung kavikol, fenol, eugenol, trans-karyopilen, dan betaselenin ¹⁰. Mekanisme kerja minyak atsiri sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengganggu proses terbentuknya membran atau dinding sel sehingga tidak terbentuk atau terbentuk tidak sempurna. Minyak atsiri yang aktif sebagai antibakteri pada umumnya mengandung gugus fungsi hidroksil (-OH) dan karbonil. Komponen utama dari minyak atsiri tersebut terdiri dari fenol dan senyawa turunannya. Senyawa fenol apabila terjadi interaksi dengan dinding sel mikroorganisme akan terjadi denaturasi protein dan meningkatkan permeabilitas mikroorganisme ⁸.

Berdasarkan hasil uji t didapatkan adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok *Porphyromonas gingivalis* dan *Streptococcus viridians* $p<0,05$. Perbedaan tersebut disebabkan karena adanya perbedaan ketebalan dinding sel bakteri. Ketebalan dinding sel pada bakteri *Porphyromonas gingivalis* lebih tipis dibandingkan dinding sel bakteri *Streptococcus viridians*. Dengan adanya dinding sel bakteri yang lebih tipis akan lebih mudah dirusak oleh kandungan dari ekstrak daun sirih merah yang hampir semua senyawa-senyawanya merupakan golongan fenol.

Streptococcus viridians merupakan golongan bakteri gram positif sedangkan *Porphyromonas gingivalis* merupakan golongan bakteri gram negatif. Semua bakteri mempunyai dinding sel, dimana dinding sel merupakan suatu struktur penting pada dunia bakteri yang terdiri dari peptidoglikan. Komposisi peptidoglikan berbeda tergantung dari golongan bakteri gram positif atau gram negatif. Bakteri gram positif memiliki peptidoglikan yang tebal dengan ukuran dari 30 sampai 50 nm. Sedangkan bakteri gram negatif terdiri dari peptidoglikan dengan ukuran 3 sampai 5 nm

(atau sampai 10 nm) sehingga dinding selnya lebih tipis. Salah satu fungsi peptidoglikan yaitu lebih sensitif bila terkena desinfektan golongan fenol¹¹.

KESIMPULAN

Kesimpulan pada penelitian ini adalah daya antibakteri ekstrak daun sirih merah pada *Porphyromonas gingivalis* lebih efektif dari pada ekstrak daun sirih merah pada *Streptococcus viridans*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI. Laporan SKRT 2004. Studi morbiditas dan disabilitas. Dalam: Surkesnas. Jakarta. 2004.
2. Tarigan, R. *Karies Gigi*. Jakarta : Hipokrates, 1995.
3. Grossman, L.I. Ilmu Endodontik dalam Praktek. Edisi 11. Alih Bahasa : Rafiah Abiyono. Judul Asli :Endodontic Practice. Jakarta : EGC. 1995.
4. Ismiyatin, K.. Efektivitas Penggunaan Larutan Klor Heksidin 2 Sebagai Bahan Pembersih Kavitas Gigi Terhadap Kemampuan Anti Bakteri: Penelitian Eksperimental Laboratoris. 2001: 52
5. Silva D, Filho N, Faria, Souza G, Ito F. Bacterial Profile in Primary Teeth with Necrotic Pulp and Periapical Lesions. Sao Paulo: Braz dent J. 2006.
6. Newman M., Takei H., Klokkevold,P. and Carranza, F. Carranza's Clinical Periodontology. 10th edition. Philadelphia: WB Saunders. 2006.
7. Andrian, E., Grenier, D., dan Rouabhia, M. 2006. Porphyromonas gingivalis-Epithelial Cell Interactions in Periodontitis. J. Dent. Res. 2006, 85(5): 392-403.
8. Juliantina, Citra, Nirwani, Nurmasitoh, dan Bowo. Manfaat Sirih Merah (Piper Crocatum) Sebagai Agen Anti Bakterial Terhadap Bakteri Gram Positif Dan Gram Negatif. Tidak Diterbitkan. Laporan Penelitian. Yogyakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia Yogyakarta. 2009: 36.
9. Robinson, T. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Bandung : ITB. 1995.
10. Sulistyani, N., Sasongko, H., Hertanti, M., dan Meilana, L. Aktivitas Minyak Atsiri Daun Sirih Merah (Piper Crocatum Ruiz And Pav) Terhadap Staphylococcus Aureus, Escherichia Coli Dan Candida Albican Serta Identifikasi Komponen Kimianya. Med Far. 2007, 6 (2): 33-39.
11. Mikrobiologi dan Parasitologi : Pengantar Mikrobiologi Dasar-dasar Bakteriologi Dasar-dasar Virologi Dasar-dasar Imunologi.[cited 2013 Sept 24]. Available from: URL: <http://dikhawannafik.blogspot.com/p/dasar-dasar.bakteriologi.html>.