

Original Research

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI ETIL ASETAT DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L.) TERHADAP BAKTERI PENYABAB KARIES GIGI *Streptococcus sanguis*

ANALYSIS ANTIBACTERIAL ACTIVITIES ETHYL ACETATE FRACTION OF SEED LEAF (*Psidium guajava* L.) ON DENTAL BACTERIA OF DENTAL CARIES *Streptococcus sanguis*

Ovysta Darsono^{1*}, Sumantri²

Farmasi, Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta, Jakarta Utara, Indonesia, 14350

*E-mail: ovystad@gmail.com

Diterima: 11/09/2019

Direvisi: 29/09/2019

Disetujui: 06/11/2019

Abstrak

Jambu biji (*Psidium guajava* Linn.) adalah tanaman obat yang digunakan didaerah tropis dan subtropis untuk mengobati banyak gangguan kesehatan. Ekstrak daun jambu biji putih mengandung senyawa yang memiliki antibakteri. Namun dari fraksi daun jambu biji (*Psidium guajava* Linn.) saat ini belum diketahui khasiat antibakteri penyebab karies gigi yaitu *Streptococcus sanguis*. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan difusi cakram (*Kirby-bauer*), dimana media *Nutrient Broth* yang sudah dibiakkan dengan bakteri *Streptococcus sanguis* dan diinkubasikan selama 24 jam. Kontrol positif menggunakan *ampicillin*, kontrol negatif menggunakan DMSO, serta sampel uji yakni fraksi etil asetat. Zona hambat diukur menggunakan jangka sorong millimeter. Uji lanjutan dengan mengukur KHM dari senyawa yang memiliki aktivitas tertinggi terhadap pertumbuhan bakteri, dilakukan dengan metode dilusi cair. Media *Nutrien Broth* yang sudah dibiakkan *S. sanguis* diberikan konsentrasi ekstrak masing-masing 5 %, 10 %, 15 %, 20 % dan 25 %. Hasil penelitian menunjukkan fraksi etil asetat daun jambu biji memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan rerata zona hambat 16.00 ± 0.719 mm pada bakteri *S. sanguis*. Dilanjutkan dengan uji KHM dengan nilai KHM 15 %. Uji kebocoran asam nukleat dan protein menunjukkan adanya kebocoran sel pada bakteri pada nilai 1 KHM dan 2 KHM.

Kata kunci : Fraksi; Daun Jambu Biji; *Psidium guajava* Linn; *Streptococcus sanguis*

Abstract

Guava (*Psidium guajava* Linn.) is a medicinal plant used in tropical and subtropical regions to consume a lot of health benefits. White guava leaf extract contains compounds that have antibacterial properties. But from the guava leaf fraction (*Psidium guajava* Linn.) At present there is no known antibacterial effect of dental caries, *Streptococcus sanguis*. The antibacterial activity test was carried out by disc diffusion (*Kirby-bauer*), where the *Nutrient Broth* media was cultured with *Streptococcus sanguis* bacteria and incubated for 24 hours. The positive control group used

ampicillin, the negative control group used DMSO, and the test sample was ethyl acetate fraction. The inhibition zone is measured using millimeter calipers. Further testing by measuring the MIC of the compound which has the highest activity against bacterial growth was carried out by liquid dilution method. Nutrient Broth media which have been cultivated by *S. sanguis* are given extract concentrations of 5%, 10%, 15%, 20% and 25% respectively. The results showed that ethyl acetate fraction of guava leaves had activity in inhibiting the greatest bacterial growth with a mean inhibition zone of 16.00 ± 0.719 mm in *S. sanguis* bacteria. Followed by MIC test with a MIC value of 15% for each bacterium. Leak test of nucleic acid and protein showed cell leakage in both bacteria at 1 MIC and 2 MIC values.

Keywords: Fraction; guava leaves; *Psidium guajava* Linn; *Streptococcus sanguis*

PENDAHULUAN

Penyakit karies gigi dan jaringan pendukung gigi (periodontal) umumnya disebabkan oleh plak gigi, yang sampai saat ini masih menjadi masalah utama dalam bidang kesehatan mulut dan gigi. Plak gigi adalah lengketan yang berisi bakteri dan produk-produknya yang terbentuk pada permukaan gigi [2].

Bakteri kariogenik merupakan bakteri yang memiliki kemampuan dalam menyebabkan karies. Bakteri ini meliputi *Actinomyces*, *Lactobacillus*, *Streptococcus mutans* dan *Streptococcus sanguis*. *Streptococcus sanguis* merupakan bakteri yang dapat berkolonisasi di permukaan gigi pada tahap awal pembentukan plak sehingga menyebabkan bakteri lain [7].

Jambu biji (*Psidium guajava* Linn.) adalah tanaman obat yang digunakan didaerah tropis dan subtropis untuk mengobati banyak gangguan kesehatan. Jambu biji (*Psidium guajava* Linn.) menunjukkan bahwa daunnya memiliki antibakteri, hipoglikemik, antiinflamasi, analgesik, antipiretik [6].

Ekstrak daun jambu biji putih mengandung senyawa saponin, tanin, steroid, flavonoid, alkaloid dan triterpenoid [5]. Flavonoid dari isololat daun jambu biji memiliki antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. Coli* [9]. Namun dari fraksi daun jambu biji (*Psidium guajava* Linn.) saat ini belum diketahui khasiat antibakteri penyebab karies gigi yaitu *Streptococcus sanguis*. Berdasarkan paparan diatas maka peneliti ingin melakukan pengujian aktivitas antibakteri fraksi etil asetat terhadap bakteri penyebab karies gigi yaitu *Streptococcus sanguis*.

METODE

Sampel (Bahan) Penelitian

Bahan alam yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jambu biji yang diperoleh dari Balitro. Determinasi tanaman daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dilakukan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI). Bahan yang digunakan untuk ekstraksi, uji fitokimia, dan fraksi adalah etanol 96%, aquadest, pereaksi *Dragendorf*, logam magnesium, amil alkohol, ammonia, reagen $FeCl_3$, *Bouchardat*, etil asetat. Bahan uji aktivitas antibakteri yaitu media TSA, mrdia NB, DMSO, Natrium klorida, *McFarland* 0,5. *Streptococcus sanguis* di peroleh dari Laboratorium Kedokteran Universitas Indonesia.

Prosedur kerja

Ekstraksi

Daun jambu biji dibersihkan dari kotoran lalu dikeringkan dan diblender menjadi bubuk. Serbuk diekstraksi dengan etanol 96% dengan perbandingan 1 bagian bahan dan 6 bagian pelarut. Metode yang digunakan yaitu macerasi selama selama 3 x 24 jam. Lakukan pengocokan berputar tanpa membuka botol kaca 1 x 12 jam, Setelah 3 hari simplisia tersebut disaring menggunakan kertas saring. Ekstrak dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan *water bath*.

Fraksi Etil Asetat

Ekstrak etanol ditimbang sebanyak 30 g dimasukkan kedalam gelas piala kemudian ditambahkan 20 mL aquadest dan 10 mL larutan etil asetat, lalu diaduk. Dimasukkan ke dalam corong pisah, didiamkan hingga terjadi pemisahan antara air dan etil asetat. Kemudian dikeluarkan air, dimasukkan ke dalam gelas piala dan etil asetat dimasukkan ke dalam vial sebagai ekstrak etil asetat. Ekstrak hasil fraksinasi dipekatkan dengan penangas air sehingga diperoleh bentuk fraksi kental.

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas dilakukan terhadap bakteri *Streptococcus sanguinis* dengan menggunakan metode difusi cakram menggunakan kertas cakram. Pada media TSA yang sudah dicampurkan suspensi bakteri, kertas cakram diletakkan di atas media TSA dan ditetesi larutan uji dengan konsentrasi 100%. Ampisilin sebagai kontrol positifnya, dan kontrol negative digunakan aquadest steril. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Setelah itu diameter daerah hambat diukur menggunakan penggaris dan jangka sorong.

Uji Konsentrasi Hambat Minimum

Sebanyak 5 mL media NB steril dimasukan dalam tabung reaksi yang ditambkan 1 mL fraksi etil asetat daun jambu biji dengan konsentrasi (5 %, 10%, 15%, 20% dan 25%) dan bakteri uji dalam hal ini yaitu *Streptococcus sanguis* kemudian semua tabung reaksi dihomogenkan dan diambil sebanyak 2 mL untuk diukur nilai absorbansi Optical Density (OD) bakteri dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS ($\lambda = 600$ nm). Setelah itu tabung reaksi diatas diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Nilai OD pasca inkubasi diukur kembali dengan mengambil 2 mL untuk diukur nilai OD dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS ($\lambda = 600$ nm). Pada kontrol positif yang dipakai berisi media, suspensi bakteri dan antibiotik ampisilin. Sedangkan pada kontrol negatif berisi media.

Uji Kebocoran Protein dan Asam Nukleat

Diambil suspensi bakteri yang akan diuji yaitu *Streptococcus sanguinis* yang sebelumnya telah diinkubasi selama 24 jam dalam media NB sebanyak 10 mL Kemudian lakukan sentrifus

dengan kecepatan 10.000 g selama 15 menit. Selanjutnya filtrat dibuang dan pellet dalam tabung dicuci dengan buffer fosfat pH 7,0 sebanyak 2 kali.

Kemudian pellet disuspensikan kedalam larutan buffer fosfat dengan pH sebesar 7,0 ditambahkan larutan uji (fraksi). Kemudian inkubasi dalam *shaker inkubator* selama 24 jam. Kemudian suspensi bakteri disentrifuse selama 15 menit dengan kecepatan 10.000 g sehingga diperoleh filtrat yang selanjutnya diukur absorbansi dengan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm. Kontrol positif yang dipakai berisi media, suspense bakteri dan antibiotik ampisilin.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Nilai rendamen yang didapatkan adalah 15,13% hasil ini sesuai dengan syarat yaitu tidak kurang dari 12.3%.³ Hasil identifikasi organoleptis ekstrak daun Jambu biji yaitu ekstrak kental berwarna hijau kehitaman dengan rasa pahit dan dengan bau yang khas dari simplisia. Hasil bobot dari ekstrak kental fraksi etil asetat sebesar 4,9 g dari perbandingan 30 g ekstrak : 10 mL aquadest : 90 mL etil asetat lalu dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan *water bath*. Uji antibakteri ekstrak fraksi etil asetat dilakukan triplo pada setiap sampel.



Gambar 1 Daun Jambu Biji



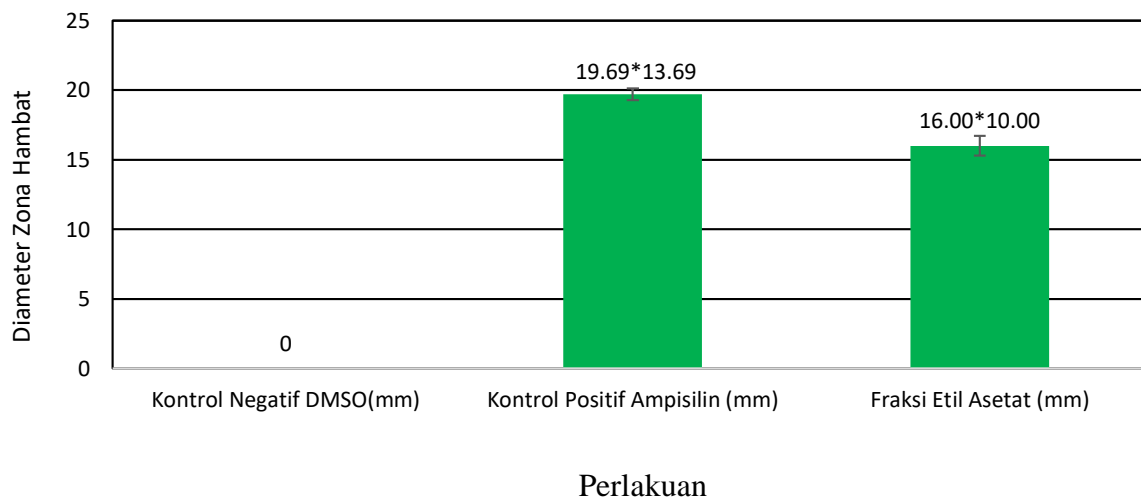
Gambar 2 Ekstrak Kental Daun Jambu Biji



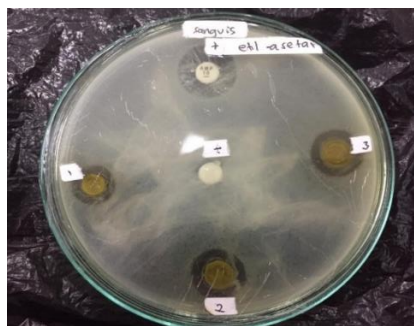
Gambar 3 Fraksinasi Etil Asetat Daun Jambu Biji

Tabel 1 Hasil Uji Antibakteri Ekstrak Fraksi Etil Asetat

Pengulangan	Kontrol Negatif (mm)	Kontrol Positif (mm)	Zona Hambat (mm)
1	0	20.18	15.62
2	0	19.44	16.83
3	0	19.46	15.55
Jumlah	0	59.08	48.00
Diameter rata-rata (mm)	0	19.69	16.00
SD	0	0.421	0.719



Gambar 4 Diagram Diameter rata-rata *S. Sanguis*



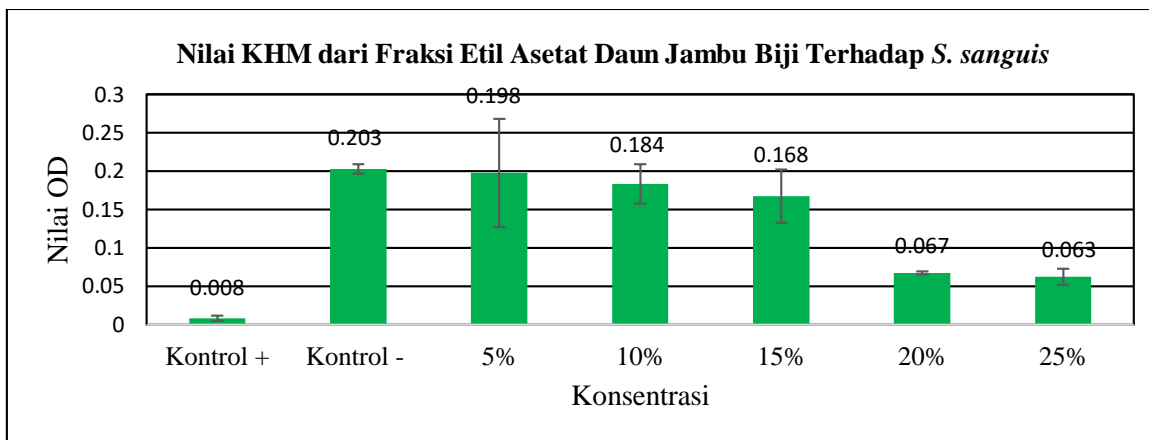
Gambar 5 Hasil Uji Aktivitas Bakteri *S. Sanguis*

Uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa sampel fraksi etil asetat daun jambu biji memiliki aktivitas sebagai antibakteri yang dapat dilihat dari zona hambat yang terbentuk. Terbentuknya zona bening merupakan bentuk penghambatan pertumbuhan terhadap bakteri. Hasil hambatan menjadi 4 kelompok zona hambat yaitu zona hambat yang lemah dengan diameter ≤ 5 mm, zona hambat sedang dengan diameter 5-10 mm, zona hambat yang kuat dengan diameter 10-20 mm dan zona hambat yang sangat kuat dengan diameter ≥ 20 mm.¹⁰ Berdasarkan dari penelitian yang dilakukan nilai rata-rata zona hambat yang didapat untuk bakteri dapat dikatakan sudah memasuki standar. Hasil uji aktivitas antibakteri pada ekstrak fraksi daun jambu biji adalah 16.00 mm tersebut termasuk dalam zona hambat kuat. Uji antibakteri fraksi daun jambu biji terhadap bakteri *Streptococcus sanguis* digunakan untuk membandingkan dengan penelitian sebelumnya yang menggunakan ekstrak daun jambu biji terhadap bakteri *Streptococcus mutan* [8].

Hasil uji aktivitas antibakteri dari fraksi etil asetat daun jambu biji memberi pengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus sanguis* oleh karena itu bisa dilanjutkan untuk mengetahui nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) dari fraksi etil asetat daun jambu biji. Hasil dari KHM yang didapatkan dari konsentrasi 5 % - 25 % diperoleh nilai KHM 15 % pada bakteri *S. sanguis*. Uji aktivitas antibakteri dari fraksi etil asetat daun jambu biji dilakukan triplo pada setiap sampel.

Tabel 2 Nilai OD dari Fraksi Etil Asetat Daun Jambu Biji Terhadap *S. sanguis*

Konsentrasi	Rata-rata	SD
Kontrol +	0.008	0.004
Kontrol -	0.203	0.006
5%	0.198	0.070
10%	0.184	0.026
15%	0.168	0.035
20%	0.067	0.002
25%	0.063	0.010

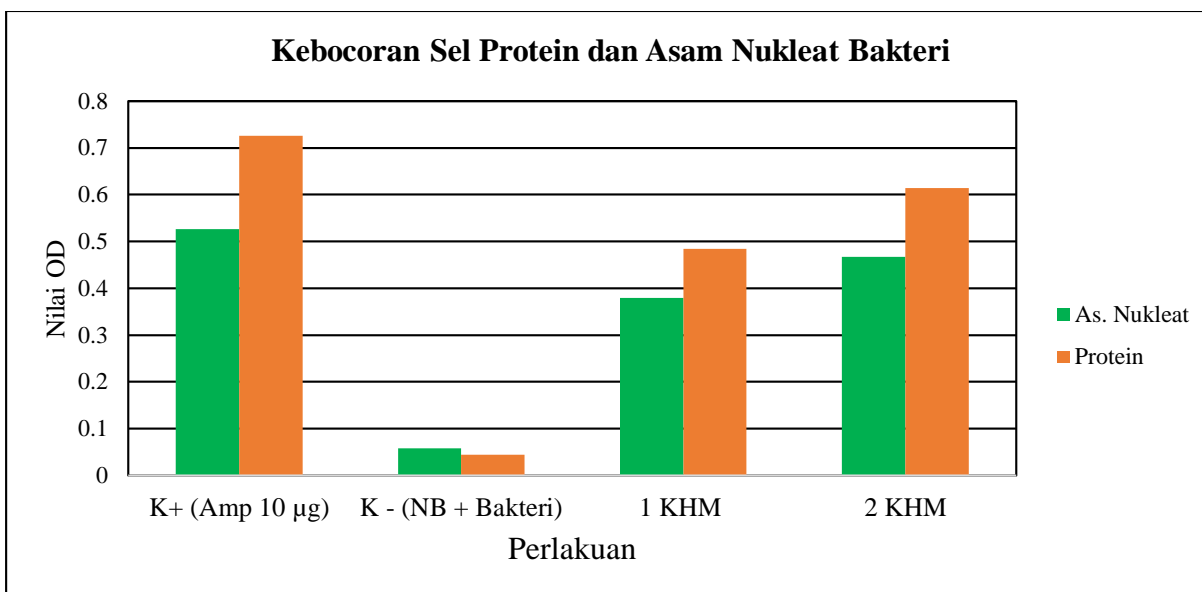


Gambar 6 Diagram Nilai OD dari Fraksi Etil Asetat Daun Jambu Biji Terhadap *S. sanguis*

Hasil uji aktivitas antibakteri dari fraksi etil asetat daun jambu biji memberi pengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus sanguis* oleh karena itu bisa dilanjutkan untuk mengetahui nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) dari fraksi etil asetat daun jambu biji. Uji KHM digunakan 5 varian konsentrasi dimana konsentrasinya adalah sebesar 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25% untuk masing-masing bakteri. Hasil dari KHM yang didapatkan dari konsentrasi 5% - 25% diperoleh nilai KHM 15% pada bakteri *S. sanguis*. Pada konsentrasi 15% ekstrak fraksi daun jambu biji memiliki selisih nilai absorbansi OD adalah nol, sehingga dapat diartikan terjadi penghambatan pertumbuhan bakteri. Konsentrasi 5% masih terdapat pertumbuhan bakteri karena tingginya nilai absorbansi. Sedangkan pada konsentrasi 15% terjadi penurunan absorbansi yang signifikan yaitu 0,244. Hal ini dapat menunjukkan bahwa pada konsentrasi 15% tidak ada pertumbuhan bakteri *S. sanguis*. Peningkatan absorbansi pada 1 KHM dan 2 KHM menunjukkan terjadinya peningkatan kebocoran sitoplasma. Adanya kebocoran pada sel bakteri uji diduga diakibatkan oleh kandungan senyawa-senyawa pada fraksi. Uji konsentrasi hambat minimum (KHM) biji dilakukan triplo pada setiap sampel.

Tabel 3 Nilai OD Spektrofotometer Ekstrak Fraksi Etil Asetat Daun Jambu Biji Terhadap *S. Sanguis*

Perlakuan	Nilai			
	K+ (Amp 10 µg)	K - (NB + Bakteri)	1 KHM	2 KHM
As. Nukleat	0.520	0.059	0.382	0.467
	0.534	0.062	0.381	0.465
	0.523	0.054	0.376	0.468
Rata-Rata	0.526	0.058	0.380	0.467
SD	0.007	0.004	0.003	0.002
Protein	0.712	0.043	0.487	0.616
	0.765	0.037	0.486	0.614
	0.700	0.051	0.481	0.613
Rata-Rata	0.726	0.044	0.485	0.614
SD	0.034	0.007	0.003	0.002



Gambar 7 Diagram Kebocoran Sel Protein dan Asam Nukleat Fraksi Etil Asetat Daun Jambu Biji terhadap *S. Sanguis*

Pemberian fraksi etil asetat daun jambu biji pada bakteri sesuai dengan KHM dapat mengakibatkan terjadinya kebocoran sel yang diamati dengan adanya kebocoran protein dan asam nukleat. Adanya kebocoran pada sel bakteri uji diduga diakibatkan oleh kandungan senyawa-senyawa pada fraksi. Peningkatan absorbansi menunjukkan terjadinya peningkatan kebocoran sitoplasma. Sesuai dengan penelitian sebelumnya jika semakin tinggi konsentrasi yang diberikan semakin tinggi nilai absorbansi yang terdeteksi dan semakin meningkat kebocoran sel [4].

Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri dapat dibagi menjadi 3 yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi. Mekanisme antibakteri flavonoid menghambat sintesis asam nukleat adalah cincin A dan B yang memegang peran penting dalam proses interkalisasi atau ikatan hidrogen dengan menumpuk basa asam nukleat yang menghambat pembentukan DNA dan RNA. Flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri [1].

Berdasarkan pembahasan di atas menunjukkan bahwa mekanisme dari flavonoid yang terdapat dalam daun jambu biji (*Psidium guajava* L) memiliki peran sebagai antibakteri terhadap bakteri *S. sanguis*. Mekanisme kerja zat aktif tersebut dapat menghambat sintesis dinding sel dan menghambat fungsi membran sel. Oleh karena itu penelitian ini perlu dilanjutkan untuk membuat bentuk sediaan antibakteri terhadap bakteri *S. sanguis*.

KESIMPULAN

Adanya aktivitas antibakteri fraksi etil asetat daun jambu biji terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus sanguis* sebesar 16,00 mm yang termasuk zona hambat yang kuat. Nilai KHM yang diperoleh dari ekstrak fraksi etil asetat daun Jambu biji terhadap pertumbuhan *Streptococcus sanguis* adalah pada konsentrasi 15%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Dekan dan Ketua Program Studi Farmasi yang telah memberikan kesempatan untuk berkarya di Kampus Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta dan pihak-pihak lain yang telah mendukung dalam pembuatan jurnal penelitian ini.

DAFTAR RUJUKAN

1. Carolia, N., & Noventi, W. *Potensi ekstrak daun sirih hijau (Piper betle L.) sebagai alternatif terapi Acne vulgaris*. Jurnal Majority. 2016. 5(1). 140-145.
2. Handayani F., Reksi S., Ria M.S. *Formulasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Streptococcus mutans dari Sediaan Mouthwash Ekstrak Daun Jambu Biji (Psidium guajava Linn.)*. Akademi Farmasi, Samarinda. 2017.
3. Kemenkes RI. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi I*. Penerbit Menkes RI. Jakarta. 2009.
4. Madduluri S, Babu S, *In Vitro Evaluation Of Antibacterial Activity Of Five Indigenous Plants Extract Against Five Bacterial Pathogens Of Human*. Internasional Journal Of Pharmacy And Pharmasetical Sciences. 2013, 5 (4):679-684.
5. Maulana, E. A., Asih, I. A., & Arsa, M. *Isolasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Ekstrak Daun Jambu Biji Putih (Psidium guajava Linn)*. Jurnal Kimia. 2016.
6. Oktiarni D, Manaf S, Suripno. *Pengujian Ekstrak Daun Jambu Biji (Psidium guajava linn) Terhadap Penyembuhan Luka Bakar pada Mencit (Mus musculus)*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Bengkulu; 2012. 8(1).
7. Santoso, T. B., & Budi, H. T. *Pengaruh Seduhan Teh Hijau (Camellia Sinensis) Terhadap Hambatan Pertumbuhan Bakteri Streptococcus Sanguis Penyebab Karies (In Vitro)*, Doctoral dissertation. Universitas Muhammadiyah Surakarta, 2017.
8. Tampedje, A. A, *Uji efek antibakteri ekstrak daun jambu biji (Psidium guajava Linn.)*

terhadap pertumbuhan koloni Streptococcus mutans. PHARMACON, 2016, 5(3).

9. Ukwueze, S. E., Osadebe, P. O., & Okoye, F. B. *A new antibacterial benzophenone glycoside from Psidium guajava (Linn.) leaves. Natural product research, 2015. 29(18). 1728-1734.*
10. Wijaya, I., Valerian, A., Purba, M. H., Dalmasius, D., Girsang, E., & Nasution, S. W. *Uji Perbandingan Antibakteri Antara Ekstrak Daun Mangkok (Nothopanax scutellarium) dengan Antibiotik Ciprofloxacin Terhadap Staphylococcus aureus. SCIENTIA JOURNAL. 2018. 7(2). 176-181.*