#### **BUKTI KORESPONDENSI**

#### ARTIKEL JURNAL NASIONAL TERAKREDITASI

Judul Artikel: PERBEDAAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH HIJAU (Piper betle L) DAN DAUN SERAI (Cymbopogon citratus) TERHADAP STREPTOCOCCUS MUTANS IN VITRO

Jurnal : Cakradonya Dental Journal

Penulis : Owenya VJ Magno Neves, Winny Suwindere, Vinna Kurniawati Sugiaman

No	Perihal	Tanggal
1.	Register pada Cakradonya dental Journal	Desember 2022
2.	Bukti konfirmasi submit artikel dan artikel yang	Desember 2022
	disubmit	
3.	Bukti melakukan review yang pertama	20 Desember 2022
4.	Bukti konfirmasi submit revisi pertama yang telah	21 Desember 2022
	direvisi	
5.	Bukti melakukan review yang kedua	22 Desember 2022
6.	Bukti konfirmasi submit artikel yang telah revisi	22 Desember 2022
	kedua	
7.	Bukti konfirmasi artikel diterima	18 September 2023
8.	Bukti Galery Proof Manuscript	
9.	Bukti Publiksi Online Artikel	September 2023

#### Register pada Jurnal Cakradonya

#### Bukti konfirmasi submit artikel dan artikel yang disubmit (Desember 2022)

# PERBEDAAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH HIJAU (Piper betle L) DAN DAUN SERAI (Cymbopogon citratus) TERHADAP STREPTOCOCCUS MUTANS IN VITRO

Owenya VJ Magno Neves<sup>1</sup>, Winny Suwindere<sup>2</sup>, Vinna Kurniawati Sugiaman<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Kristen Maranatha, Bandung, Indonesia <sup>2</sup>Bagian Dental Public Health, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Kristen Maranatha, Bandung, Indonesia

<sup>3</sup>Bagian Oral Biology, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Kristen Maranatha, Bandung, Indonesia

\*Coressponding Author: Vinna Kurniawati Sugiaman

Email: vinnakurniawati@yahoo.co.id

**ABSTRAK** 

Latar belakang Karies gigi merupakan masalah utama bagi kesehatan gigi dan mulut di Indonesia, salah satu penyebabnya adalah mikroorganisme, yaitu *Streptococcus mutans*. Oleh karena itu diperlukan agen antibakteri untuk mencegah perkembangannya. Belakangan ini beberapa bahan alam telah dikaji dan telah terbukti memiliki aktifitas antibakteri, diantaranya yaitu tanaman sereh (*Cymbopogon citratus*) dan sirih hijau (*Piper betle L.*). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan aktivitas antibakteri kedua tanaman tersebut. **Metode** Pengukuran Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) menggunakan metode mikrodilusi. Penelitian ini menggunakan ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle L.*) dan daun sereh (*Cymbopogon citratus*). **Hasil** Ekstrak daun sereh tidak dapat menghambat dan membunuh pertumbuhan bakteri, sedangkan ekstrak daun sirih hijau konsentrasi 250 μg/ml sampai konsentrasi 2000 μg/ml dapat menghambat bakteri., dengan nilai KBM pada konsentrasi 500 (μg/ml). **Kesimpulan** Daun sirih hijau (*Piper betle L.*) memiliki aktivitas antibakteri yang lebih baik daripada daun sereh (*Cymbopogon citratus*) dalam menghambat dan membunuh pertumbuhan *Streptococcus mutans*.

Kata kunci: Antibakteri, Streptococcus mutans, Tanaman herbal.

#### **ABSTRACT**

Background Dental caries is a major problem for oral health in Indonesia, one of the causes is a microorganism, namely Streptococcus mutans. Therefore, an antibacterial agent is needed to prevent its development. Recently, several natural ingredients have been investigated and proven to have antibacterial activity, including lemongrass (Cymbopogon citratus) and green betel (Piper betle L.). The purpose of this study was to determine the difference in the antibacterial activity of the two plants. Method The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) measurement methods use the microdilution method. This study used ethanol extract of green betel leaf (Piper betle L.) and lemon grass (Cymbopogon citratus). Results Lemongrass leaf extract was unable to inhibit and kill bacterial growth, while green betel leaf extract with a concentration of 250 g/ml to a concentration of 2000 g/ml could inhibit bacteria, with the MBC value at a concentration of 500 (μg/ml). Conclusion Green betel leaf (Piper betle L) has better antibacterial activity than lemongrass leaf (Cymbopogon citratus) in inhibiting and killing the growth of Streptococcus mutans.

**Keywords:** Antibacterial, Streptococcus mutans, Herbal plants.

#### PENDAHULUAN

Kesehatan mulut merupakan penting yang harus mendapat perhatian khusus, karena sekitar 57,6% masyarakat Indonesia berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) tahun 2018 memiliki permasalahan kesehatan yang berkaitan dengan gigi dan mulut.<sup>1,2</sup> Karies gigi merupakan masalah utama bagi kesehatan gigi dan mulut di Indonesia.<sup>3</sup> Karies gigi disebabkan oleh beberapa faktor yang saling berinteraksi, yaitu gigi dan saliva sebagai host, subatrat, mikroorganisme, dan waktu. Namun, penyebab utama dari karies gigi ini adalah adanya kehadiran Streptococcus mutans (S. mutans) di rongga mulut. 3,4 Bakteri ini merupakan bakteri gram positif penyebab utama terjadinya karies yang bersifat nonmotil dan anaerob fakultatif yang dapat memetabolisme karbohidrat.<sup>5</sup> Oleh

karena itu diperlukan agen antibakteri untuk mencegah perkembangannya.

Belakangan ini beberapa bahan alam telah dikaji dan telah terbukti memiliki aktifitas antibakteri, diantaranya yaitu tanaman sereh (*Cymbopogon citratus*) dan sirih hijau (*Piper betle L.*) yang memiliki aktifitas antibakteri terhadap Streptococcus mutans. <sup>6,7</sup> Oleh karenan itu penggunaan tanaman herbal dalam pengobatan penyakit dapat dikembangkan karena tanaman herbal memiliki senyawa aktif yang dapat dimanfaatkan dalam pencegahan ataupun pengobatan penyakit akibat infeksi bakteri. <sup>8</sup>

Daun sereh (Cymbopogon citratus) adalah tanaman herbal yang biasanya digunakan sebagai penambah rasa pada makanan serta dipercaya dapat dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional. Dalam analisis

fitokimia diketahui bahwa daun sereh ini mengandung minyak atsiri, tanin, saponin, flavonoid, polifenol dan alkaloid. Berbagai kandungan komponen biologi aktif tersebut, dapat menunjukkan bahwa daun sereh memiliki efek sebagai antibakteri yang cukup baik khususnya kandungan minyak atsiri dan saponin. <sup>10,11</sup>

Tanaman lain yang dapat di manfaatkan sebagai antibakteri yaitu daun sirih hijau (Piper betle L.), daun ini memiliki aroma yang khas dengan kandungan minyak atsiri 4,2%, tannin, saponin, flavonoid, polifenol, terpenoid, dan steroid. 12,13 Fenol merupakan komponen utama dari minyak atsiri yang terdiri dari kavikol dan betlephenol yang merupakan senyawa aromatik kavibetol, eugenol, karvakol. allilpyrocatechol, ketekin serta sebagai senyawa turunannya. Kandungan fenol ini memiliki sifat antibakteri yang kuat dan efektif dalam menghambat pertumbuhan beberapa jenis bakteri. Daun sirih hijau juga mengandung diastase. seskuiterpen. gula. pati, tannin. 12,14

Kedua tanaman ini merupakan tanaman asli Indonesia serta paling umum di tanam di daerah beriklim tropis diindikasikan bermanfaat untuk pengobatan termasuk pengobatan gigi dan mulut. 15 Oleh karena itu, pemanfaatan daun sirih hijau (Piper betle L.) dan daun sereh (Cymbopogon citratus), belakangan ini mulai mendapat perhatian ahli untuk diteliti. Daun sirih hijau dan daun sereh dipercaya memiliki beberapa khasiat herbal, diantaranya sebagai antibakteri yang dapat dimanfaatkan oleh masyarakat.

#### METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium murni secara in vitro menggunakan metode microdilusi untuk menentukan KHM dan KBM. Penelitian ini menggunakan ekstrak etanol daun sirih hijau (Piper betle L.) dan daun sereh (Cymbopogon citratus) yang diperoleh dari Perkebunan Monoko Lembang dan Laboratorium Farmasi Bahan Alam Institut Teknologi Bandung. Determinasi tanaman dilakukan di Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung.

# Uji Fitokimia Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*) dan Daun Sereh (*Cymbopogon Citratus*)

Skrining fitokimia dari senyawasenyawa alkaloid, flavanoida, saponin, kuinon, steroid triterpenoid, tannin galat, tanin kateukat, sebagai berikut :

- 1. Analisis senyawa alkaloid: 5 gram simplisia di lembabkan dengan ammonia 25%, dengan menggunakan mortar, tambah 20ml CHl3, di saring, filtrat semprotkan pada kertas saring lalu teteskan dragendurf atau filtrat diekstrasi dengan HCl ke dalam tabung reaksi, teteskan dragendorf / mayer. Dragendorf akan terbentuk end merah. Mayer akan terbentuk end putih
- 2. Analisis senyawa flavanoida: 10 gram simplisia ditambah 100ml air didihkan selama 15menit, saring masukan 5 ml filtrat ke dalam tabung reaksi, tambahkan Mg dan 1 ml HCl lalu 2 ml amil alkohol lalu kocok. Terbentuk warna merah, kuning, hijau, jingga.
- 3. Analisis senyawa saponin :10ml larutan/sampel masukan ke dalam tabung reaksi, tambah 1 tetes HCL, lalu di kocok, terbentuk busa lebih dari 10detik
- 4. Analisis senyawa kuinon : 1 gram simplisia didihkan dengan 10ml air selama 5 menit, saring masukan ke dalam tabung reaksi, tambah 5ml NaOH IN. Terbentuk warna merah.
- 5. Analisis senyawa steroid triterpenoid: 5gram simplisia maserasi dengan 20ml eter selama 2 jam, saring uapkan ke dalam cawan penguap teteskan asam asetat glacial dan teteskan H2SO4. Terbentuk warna hijau merah dan biru.
- 6. Analisis senyawa tanin galat : 10gram simplisia didihkan dalam air 100ml selama 5menit, saring tambahkan Fecl3 1% atau gelatin atau Na asetat. Terbentuk warna biru, hijau hitam.
- 7. Analisis senyawa tanin kateukat : 5ml filtrat sisa dari yang sebelumnya tambahkan larutan steasny 1ml, panaskan dalam penangas air. Terbentuk warna merah.

# Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*) dan Daun Sereh (*Cymbopogon citratus*)

Daun sirih hijau (Piper betle L.) dan daun sereh (Cymbopogon citratus) dicuci dan menggunakan food dehydrator hingga diperoleh simplisia. Haluskan menjadi serbuk dan ekstraksi menggunakan teknik maserasi dengan pelarut etanol 70% sebanyak 2000 ml. Aduk larutan tersebut, tutup menggunakan alumunium foil, dan disimpan pada suhu ruang. Setiap 24 jam, filtrat hasil rendaman disaring dan ditampung kedalam botol bersih. Ekstraksi dilakukan selama 7 hari sampai tidak berwarna. Filtrat yang diperoleh dipekatkan menggunakan rotary evaporator

pada suhu 50°C hingga membentuk ekstrak kental/pasta.

# Pengenceran Ekstrak Daun Sirih Hijau (Piper betle L.) dan Daun Sereh (Cymbopogon citratus)

Proses pengenceran ekstrak etanol daun sirih hijau dan daun sereh (*working solution*) dilakukan dengan cara sebagai berikut:

- 1. Pembuatan larutan stok
- Sebanyak 20 mg ekstrak ditimbang, kemudian dilarutkan dalam 5 ml *Mueller Hinton Broth* (MHB), sehingga menghasilkan stok dengan konsentrasi 4000 µg/ml.
- 2. Pembuatan seri *working solution* (WS) ekstrak daun sirih hijau dan daun serai: konsentrasi 2000 μg/ml, 1000 μg/ml, 500 μg/ml, 250 μg/ml, 125 μg/ml, 62,5 μg/ml, 31,25 μg/ml, 15,625 μg/ml, 7,8125 μg/ml, 3,90625.
  - 3. Filtrasi sampel

Working solution difilter dengan menggunakan syringe filter tissue culture pori 0,22 μm, sehingga dapat diperoleh sampel yang steril.

## Persiapan Media Agar *Mueller Hinton* Agar (MHA)

Timbang Media MHA (*Muller Hinton Agar*) sejumlah 38gr dan larutkan dalam 1L akuades. Sterilkan media menggunakan autoklaf selama 20 menit pada suhu 121°C. Tuangkan media MHA ke dalam cawan petri steril, simpan hingga padat pada suhu ruangan. Setelah padat masukkan ke dalam lemari es (suhu 4°C).

#### Mueller Hinton Broth (MHB)

Timbang serbuk media cair MHB (gm/liter *Beef extract 300.0,* 17.5 *casein hydrolysate,* 1,5 *starch)* sebanyak 21 gram dan dilarutkan pada 1 liter air suling. Kemudian didihkan selama 60 detik dengan tujuan agar larutan dapat tercampur dengan baik, setelah itu media disterilisasi.

#### Persiapan Mikroorganisme Uji dan Pembuatan Suspensi *Streptococcus Mutans*

Inokulasi 1ose *Streptococcus mutans* ATCC 35668 ke plat media *Mueller Hinton Agar* dan

inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Ambil 1 ose suspensi bakteri, masukkan ke dalam 10ml media *Mueller Hinton Broth* diinkubasi pada suhu 37°C selama 24jam. Kemudian absorbansinya diukur dengan panjang gelombang 625nm sampai didapat absorban 0,08 – 0,12. Sesuai dengan 0,5 Mc. Farland. Encerkan suspensi bakteri dengan media *Mueller Hinton Broth, selanjutnya l*akukan pengujian Angka Lempeng Total (ALT) atau *Total Plate Count* (TPC) untuk mengetahui populasi dari bakteri tersebut.

#### Pemeriksaan KHM dan KBM

Siapkan *plate* (96 well plate), masing-masing diisi dengan 100μl media *Mueller hinton broth* sebagai kontrol media pada baris pertama, baris kedua diisi 100μl media dan 10μl suspensi bakteri sebagai kontrol bakteri. Sebanyak 100μl dari konsentrasi esktrak 2000 μg/ml, 1000 μg/ml, 500 μg/ml, 250 μg/ml, 125 μg/ml, 62.5 μg/ml, 31.25 μg/ml, 15.625 μg/ml, 7.8125 μg/ml, 3,90625 μg/ml di masukan ke dalam *well* pada baris 3 sampai 12, setelah itu tambahkan 10μl suspensi bakteri, begitu juga pada kontrol positif dan kontrol negatif.

Inkubasi *plate* selama 24 jam pada suhu 37°C lalu kekeruhan yang terjadi diamati untuk menetapkan nilai KHM. Nilai KBM di lakukan dengan cara menginokulasi 50µl cairan ekstrak pada *well* kedalam medium *Mueller hinton agar/plat Mueller hinton agar*. Cawan petri kemudian diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Koloni *streptococcus mutans* diamati pertumbuhannya untuk menentukan KBM. Lakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

#### HASIL PENELITIAN

Hasil uji fitokimia sampel tanaman yang telah dilakukan menunjukkan bahwa tanaman sereh (*Cymbopogon citratus*) dan sirih hijau (*Piper betle L.*). mengandung:

Tabel 1 Uji Skrining Fitokimimia Daun Sereh

Metabolit Sekunder	Hasil	Keterangan
1. Alkaloid	+	Terbentuk warna jingga
2. Flavonoid	+	Terbentuk warna hijau
3. Saponin	+	Terbentuk busa > 10 detik
4. Kuinon	-	Tidak terjadi perubahan warna
5. Tanin	+/galat	Terbentuk warna hijau kehitaman
6. Steroid/Triterpenoid	+	Terbentuk warna hijau

Tabel 2 Uji Skrining Fitokimimia Daun Sirih hijau

Metabolit Sekunder	Hasil	Keterangan
1. Alkaloid	+	Terbentuk warna merah
2. Flavonoid	+	Terbentuk warna kuning
3. Saponin	+	Terbentuk busa > 10 detik
4. Kuinon	+	Terbentuk warna merah
5. Tanin	+/galat	Terbentuk warna biru/violet
6. Steroid/Triterpenoid	+	Terbentuk warna merah

## Kadar Hambat Minimum (KHM)

Tabel 3 Hasil Pengamatan Well plate (KHM)

No. Well	Konsentrasi (µg/ml)	Ekstrak Daun Sereh				Ekstrak Daun Sirih Hijau			Khlorhexidine 2%			Etanol 96%		
plate		R.1	R.2	R.3	R.1	R.2	R.3	R.1	R.2	R.3	R.1	R.2	R.3	
1	MHB	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
2	Kontrol M	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
3	3,90625	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	
4	7.8125	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	
5	15.625	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	
6	31.25	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	
7	62.5	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	
8	125	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	
9	250	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	
10	500	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	
11	1000	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	
12	2000	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	

Keterangan:

MHB : Media Mueller Hinton Broth

Kontrol M : Media Uji

Tanda Negatif (-) : Menunjukan tidak adanya pertumbuhan bakteri Uji Tanda Positif (+) : Menunjukan adanya Pertumbuhan bakteri uji

R1, R2, R3 : Repetisi

Hasil pengamatan visual menunjukan ekstrak daun sereh pada konsentrasi 2000  $\mu$ g/ml, 1000  $\mu$ g/ml, 500  $\mu$ g/ml, 250  $\mu$ g/ml, 125  $\mu$ g/ml, 62.5  $\mu$ g/ml, 31.25  $\mu$ g/ml, 15.625  $\mu$ g/ml, 7.8125  $\mu$ g/ml, 3,90625  $\mu$ g/ml tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan ekstrak daun sirih hijau konsentrasi 250  $\mu$ g/ml

sampai konsentrasi 2000 µg/ml dapat menghambat bakteri. Etanol 96% pada seluruh konsentrasi tidak dapat menghambat bakteri, hal ini berbeda dengan khlorhexidine 2% pada dapat menghambat bakteri pada seluruh konsentrasi.

#### **Kadar Bunuh Minimum (KBM)**

#### Hasil Pengamatan Pertubuhan koloni pada Plat MHA

**Tabel 4** Hasil Pengamatan Plat MHA (KBM)

No. Well	Konsentrasi (μg/ml)	Ekstrak Daun Serai				Ekstrak Daun Sirih Hijau			Khlorhexidine 2%			Etanol 96%		
plate		R.1	R.2	R.3	R.1	R.2	R.3	R.1	R.2	R.3	R.1	R.2	R.3	
1	MHB	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
2	Kontrol M	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
3	3,90625	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	
4	7.8125	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	
5	15.625	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	
6	31.25	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	
7	62.5	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	
8	125	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	
9	250	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	
10	500	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	
11	1000	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	
12	2000	+	+	+	-	-	-	_	_	_	+	+	+	

Keterangan:

MHB : Media MHB Kontrol M : Media

Tanda Negatif (-) : Tidak ada pertumbuhan Bakteri Uji Tanda Positif (+) : Ada Pertumbuhan Bakteri Uji

R1, R2, R3 : Repetisi

Hasil pengamatan pertumbuhan koloni pada plat MHA yang di lakukan menunjukan ekstrak daun sereh konsentrasi 2000 μg/ml, 1000 μg/ml, 500 μg/ml, 250 μg/ml, 125 μg/ml, 62.5 μg/ml, 31.25 μg/ml, 15.625 μg/ml, 7.8125

μg/ml, 3,90625 μg/ml tidak dapat membunuh bakteri sehingga tidak dapat di tentukan nilai KBMnya, sedangkan pada ekstrak daun sirih hijau konsentrasi 500 (μg/ml) sampai konsentrasi 2000 μg/ml dapat membunuh

bakteri. Nilai KBM daun sirih hijau yaitu pada konsentrasi 500 (µg/ml). Etanol 96% dari seluruh konsentrasi yang digunakan tidak dapat membunuh bakteri uji, berbeda dengan khlorhexidine 2% pada seluruh konsentrasi yang digunakan dapat membunuh bakteri uji.

#### DISKUSI

Hasil uji fitokimia yang dihasilkan dalam penelitian ini dapat berbeda-beda, hal ini dapat dipengaruhi karena pengolahan simplisia, teknik penyarigan dan proses pengeringan, perajangan, penggilingan, pemanasan, dimana proses tersebut dapat mengakibatkan kerusakan pada kandungan metabolit sekunder. 16 Faktor lain yang juga berpengaruh yaitu lokasi atau faktor eksternal seperti iklim dan lingkungan dimana tanaman itu tumbuh dapat mempengaruhi kandungan metabolit sekunder.17

Hasil penelitian yang di lakukan dengan tiga kali pengulangan memperlihatkan bahwa ekstrak daun sereh pada berbagai konsentrasi tidak dapat menghambat ataupun membunuh pertumbuhan bakteri Streptococcus mutans jika dibandingkan dengan ekstrak daun sirih hijau. Hal ini sejalan dengan penelitian yang di lakukan oleh Prananda Adiguna dan Oedijani Santoso, menyatakan bahwa ekstrak daun sereh pada berbagai konsentrasi tidak memiliki daya hambat terhadap viabilitas bakteri Steptococcus mutans. 18,19 Berdasarkan penelitian lain yang telah dilakukan oleh Susanna A. F. Kawengian, dinyatakan bahwa ekstrak daun sereh termasuk dalam golongan lemah dalam menghambat pertumbuhan bakteri Streptococcus mutans. 11

Kandungan senyawa aktif dari ekstrak daun sirih hijau dan daun sereh diantaranya yaitu: flavonoid, tannin, saponin, dan steroid/triterpenoid. Kandungan ini dapat menyebabkan terganggunya permeabilitas membran sel (triterpenoid, steroid, tanin, flavonoid, dan saponin), sedangkan fenol dan flavonoid dapat menyebabkan terdenaturasinya protein sel.<sup>20,21</sup>

Selain itu, kuinon yang terjkandung dalam daun sirih hijau dapat membentuk senyawa kompleks yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri sehingga kuinon dapat berperan sebagai antibakteri.<sup>22</sup> Selanjutnya kehidupan sel bakteri juga akan terganggu karena terbentuknya residu asam amino nukleofilik pada protein transmembran dan pada membran plasma.<sup>23</sup>

Senyawa fenol yang merupakan kandungan minyak atsiri dalam daun sirih hijau terdiri dari Chevica dan Chavicol paraallyphenol yang memiliki efek berdasarkan konsentrasinya. Fenol dengan konsentrasi 0.1-1% memiliki sifat bakteriostatik dan konsentrasi 1-2% memiliki bakteriosidal dengan mekanisme antibakteri senyawa fenol dalam membunuh mikroorganisme vaitu dengan mendenaturasi protein sel.<sup>24,25</sup>

Saponin memiliki efek dalam menghambat bakteri karena dapat menyebabkan kebocoran sitoplasma akibat terganggunya kestabilan sitoplasma. Saponin juga dapat enyebabkan rusaknya membrane sel karena permeabilitas membran sel bakteri yang terganggu. Hal ini juga menyebabkan berbagai komponen penting sel bakteri seperti asam nukleat, protein, dan nukleotida keluar dari dalam sel yang selnjautnya mengakibatkan kematian sel. 13,22

Flavonoid sebagai antimikroba bekerja dengan menghambat fungsi membran sel, sintesis asam nukleat, dan metabolisme energi. Senyawa lainnya yaitu alkaloid yang memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri dan mengganggu integritas komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri yang menyebabkan lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel. 27

Terpenoid dapat berperan sebagai antibakteri melalui perusakan membran sel bakteri. Kerusakan membran sel dapat terjadi ketika terjadinya pelarutan konstituen lipid pada sisi aktif dari membran dan peningkatan membran.<sup>28</sup> permeabilitas Steroid menghambat pertumbuhan bakteri karena dapat menyebabkan kebocoran pada liposom bakteri. Komponen ini dapat menyebabkan sel manjadi rapuh dan lisis akibat terjadinya perubahan morfologi membran sel.<sup>23</sup>

Senyawa tanin memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri dengan menonaktifkan adhesin bakteri dan menghambat transport protein pada selubung sel. Tanin menyababkan tidak sempurnanya pembentukan dinding sel bakteri karena target kerusakan terjadi pada polipeptida dinding sel. Kondisi ini menyebabkan terjadinya kematian sel bakteri.<sup>23</sup>

Chlorhexidine pada penelitian ini sebagai kontrol positif, dimana chlorhexidine dapat menyebabkan rupturnya membran sel, karena

terjadinya peningkatan permeabilitas membrane sel akibat ikatannya dengan dinding sel. Kondisi ini menyebabkan terjadinya kematian sel akibat ketidakseimbangan osmotik dan penetrasi ke dalam sitoplasma.<sup>29</sup>

#### KESIMPULAN

Daun sirih hijau (*Piper betle L*) memiliki aktivitas antibakteri yang lebih baik dari pada daun sereh (*Cymbopogon citratus*) dalam menghambat dan membunuh pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

#### **DAFTAR PUSTAKA**

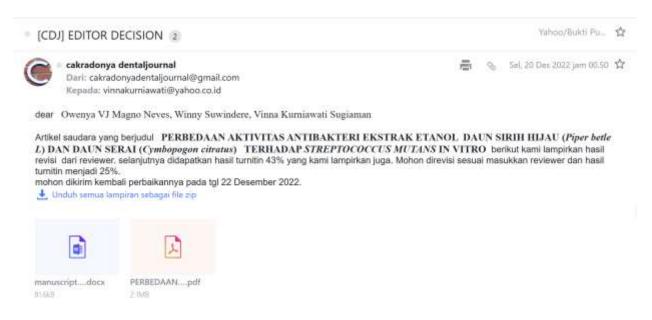
- Nindya Cahyaningrum A. Relationship of Mother Behavior Against Dental Caries Incidence in Toddler at Putra Sentosa Early Childhood. Jurnal Dental. 2017;2(5):142-151.
- 2. Hasil Utama Riskesdas. Kementerian Kesehatan. Riset Kesehat Dasar. 2018.
- 3. Listrianah. Indek Karies Gigi Ditinjau Dari Penyakit umum dan Sekresi Saliva Pada Anak di Sekolah Dasar Negeri 30 Palembang. Jurnal Kesehatan Palembang 2017; 2(12).
- 4. Rosdiana N, Nasution AI. Gambaran Daya Hambat Minyak Kelapa Murni Dan Minyak Kayu Putih Dalam Menghambat Pertumbuhan Streptokokus Mutans. Syiah Kuala Dental Soc Jurnal. 2016;1(1):43-50.
- 5. Novita W. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Sirih (Piper Betle L) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Streptokokus Mutan Secara in Vitro. 2016;2(4):140-155.
- Ortega Cuadros M, Tofiño Rivera AP, Merini LJ, Martinez Pabon MC. Antimicrobial activity of Cymbopogon citratus (Poaceae) essential oil on Streptococcus mutans biofilm and cytotoxic effect on keratinocytes and fibroblasts. Rev.Biol. Trop. 2018;4(66): 1519-1529.
- 7. Mangesa R, Aloatuan F. Efektifitas dan Kandungan Fraksi Aktif Metanol Daun Sirih Hijau (Piper Betle L) sebagai Antibakteri Salmonellatyphi. Biosf Jurnal Tadris Biol. 2019;10(1):57-65.
- 8. Vifta RL, Wansyah MA, Hati AK. Aktivitas antibakteri salep ekstrak etanol daun sirih hijau (Piper betleL.) Terhadap infeksi bakteri Staphylococcus aureus. Kartika Jurnal Ilmu Farmasi.

- 2017;5(2):56.
- 9. Diana F, Andila I, Safutra E. Pengaruh Ekstrak Sereh (Cymbopogon citratus DC) terhadap Prevalensi dan Survival Benih Ikan Mas (Cyprinus carpio L) yang diinfeksi Bakteri Edwardsiella tarda. Jurnal Akuakultura; 2017;1(1): 2579-4752.
- Erlyn P. Efektivitas Antibakteri Fraksi Aktif Serai (Cymbopogon citratus) terhadap Bakteri Streptokokus mutans. Syifa' Medika Jurnal Kedokteran dan Kesehat. 2016;6(2):111.
- 11. SAF, Wuisan J, Leman MA. Uji daya hambat ekstrak daun serai (Cymbopogon citratus L) terhadap pertumbuhan Streptokokus mutans. Jurnal e-GiGi. 2017:5(1):7-11.
- 12. Riset A, Indonesia JK, Sundari D. Uji Aktivitas Antiseptik Ekstrak Etanol Daun Sirih (Piper betle Linn.) dalam Obat Kumur terhadap Staphylococcus aureus secara in Vitro. Jurnal Kefarmasian Indonesia 2019; 1(5):10-18.
- 13. Vifta Rissa laila. Perbandingan Total Rendemen dan Skrining Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (Piper Betle L.) secara Mikrodilusi. Jurnal Sci Appl Technology. 2017;2(1):87-93.
- 14. Bustanussalam, Devi Apriasi, Eka Suhardi DJ. Efektivitas Antibakteri ekstrak Daun Sirih (Pipper Betle Linn.) Terhadap. Fitofarmaka. 2015;5(2):58-64.
- 15. Utara US. The Effectivity of Lemongrass (Cymbopogon Citratus) Extract Against Porphyromonas Gingivalis ATCC® 33277<sup>TM</sup> (In-VIitro). Int Dent. Conf. Sumatera Utara. 2017;8:169-172.
- Nurul Hasanah E. Harso Kardhinata dan Jamilah Nasution. Antibacterial Test of Sapilla Manila (Manilkara zapota) Leaf Extract Against Escherichia Coli. Jurnal Ilmiah Biologi UM. 2019; 2(2): 64-71.
- 17. N.E. Tajidin, S.H Ahmad, A.B. Rosenani, H. Azimah, M. Munirah, "Chemical composition and citral content in lemongrass (Cymbopogon citratus) essential oil at three maturity stages," Afr. J Biotechnol. 2012; 11(11): 2689.
- 18. Adiguna P, Santoso O. Pengaruh Ekstrak Daun Serai (Cymbopogon Citratus) pada Berbagai Konsentrasi terhadap Viabilitas Bakteri Streptokokus Mutans. Jurnal Kedokteran Diponegoro. 2017;4(6):1543-

- 1550.
- 19. Sugiaman V, Rosnaeni R. Pengaruh Berkumur Seduhan Daun Sirih Hijau (Pipper Bettle L.) terhadap Pembentukan Plak Gigi dan Perkembangan Colony Forming Unit (CFU) Streptokokus mutans di Rongga Mulut. Jurnal Tumbuh obat Indonesia. 2013;6(1):45-53.
- Brooks, Geo F; Janet S. Butel, Stephen A. Morse. Jawetz Melnick dan Adelberg Mikrobiologi Kedokteran Edisi 23. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. 2007.
- Aden Dhana Rizkita Edy Cahyono, Sri Mursiti. Isolasi dan Uji Antibakteri Minyak Daun Sirih Hijau dan Merah terhadap Streptococcus mutans Indonesian Journal of Chemical Science. 2017: 3(6).
- 22. Devy Kartika Hadi , Erina, Rinidar, Fakhrurrazi, Rosmaidar, Arman Sayuthi Daya Hambat Ekstrak Metanol Daun Mengkudu (Morinda citrifolia L.) Terhadap Pertumbuhan Salmonella sp. dan Escherichia coli. Jimvet e. 2019; 3(2):87-97.
- 23. Olivia Waworuntu, Michael A. Leman Potensi Antibakteri Air Perasan Bawang Putih Terhadap pertumbuhan (Allium sativum L) Staphylococcus aureus. Jurnal Ilmiah Farmasi. 2016; 4(5): 2302 2493.
- 24. Baviskar HP, Dhake GT, Kasai MA,

- Chaudhari NB, Deshmukh TA. Review of Piper Betle. Res Jurnal Pharmacogn Phytochem. 2017;9(2):128-134.
- 25. Novita Carolia, Wulan Noventi. Potensi Ekstrak Daun Sirih Hijau (Piper betle L.) sebagai Alternatif Terapi Acne vulgaris. Majority. 2016; 1(5)140.
- 26. Gagan Shah, Richa Shri, Vivek Pancha, Narender Sharma, Bharpur Singh, A. S. Mann Scientifific basis for the therapeutic use of Cymbopogoncitratus, Stapf (Lemon grass). Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research. 2011;1(2)
- 27. Rachmawaty, Farida Juliantina et al. Manfaat Sirih Merah (Piper crocatum) Sebagai Agen Anti Bakterial Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. 2017; 1(3).
- 28. Friska Ani Rahman, Tetiana Haniastuti, Trianna Wahyu Utam. Skrining Fitokimia dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirsak (Annona muricata L.) pada Streptococcus mutans ATCC 35668. Majalah Kedokteran Gigi Indonesia. 2017; 1(3).
- 29. Fajriani, Jenifer N. Andriani. Reduction of Salivary Streptococcus mutans Colonies in Children After Rinsing with 2.5% Green Tea Solution. Journal of Dentistry Indonesia. 2014; 3(21);79-84

### Bukti melakukan review yang pertama (20 Desember 2022)



Bukti konfirmasi submit revisi pertama yang telah direvisi (21 Desember 2022)



# 3PERBEDAAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH HIJAU (Piper betle L) DAN DAUN SERAI (Cymbopogon citratus) TERHADAP STREPTOCOCCUS MUTANS IN VITRO

# THE DIFFERENCES IN ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ETHANOL EXTRACTS OF GREEN BETEL LEAVES (Piper betle L) AND LEMONGRASS LEAVES (Cymbopogon citratus) AGAINST STREPTOCOCCUS MUTANS IN VITRO

Owenya VJ Magno Neves<sup>1</sup>, Winny Suwindere<sup>2</sup>, Vinna Kurniawati Sugiaman<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Kristen Maranatha, Bandung, Indonesia <sup>2</sup>Bagian Dental Public Health, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Kristen Maranatha, Bandung, Indonesia

<sup>3</sup>Bagian Oral Biology, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Kristen Maranatha, Bandung, Indonesia Coressponding Author: <a href="mailto:vinnakurniawati@yahoo.co.id">vinnakurniawati@yahoo.co.id</a>

#### **ABSTRAK**

Karies gigi adalah masalah utama bagi kesehatan gigi dan rongga mulut di Indonesia, salah satu penyebabnya adalah mikroorganisme, yaitu *Streptococcus mutans*. Oleh karena itu diperlukan agen antibakteri untuk mencegah perkembangannya. Belakangan ini beberapa bahan alam telah dikaji dan telah terbukti memiliki aktifitas antibakteri, diantaranya yaitu tanaman sereh (*Cymbopogon citratus*) dan sirih hijau (*Piper betle L.*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan aktivitas antibakteri kedua tanaman tersebut. Pengukuran Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) menggunakan metode mikrodilusi. Penelitian ini menggunakan ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle L.*) dan daun sereh (*Cymbopogon citratus*). Ekstrak daun sereh tidak dapat menghambat dan membunuh bakteri, sedangkan ekstrak daun sirih hijau konsentrasi 250 ppm sampai konsentrasi 2000 ppm dapat menghambat bakteri., dengan nilai KBM pada konsentrasi 500 ppm. Daun sirih hijau memiliki aktivitas antibakteri yang lebih baik daripada daun sereh dalam menghambat dan membunuh pertumbuhan *Streptococcus mutans*.

Kata kunci: Antibakteri, Streptococcus mutans, Tanaman herbal.

#### **ABSTRACT**

The main problem of oral health in Indonesia is dental caries and one of the causes is Streptococcus mutans. Therefore, an antibacterial agent is needed to prevent its development. Recently, several natural ingredients have been investigated and proven to have antibacterial activity, including lemongrass (Cymbopogon citratus) and green betel (Piper betle L.). The purpose of this study was to determine the difference in the antibacterial activity of the two plants. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) measurement methods use the microdilution method. This study used ethanol extract of green betel leaf (Piper betle L.) and lemon grass (Cymbopogon citratus). Lemongrass leaf extract was unable to inhibit and kill bacterial growth, while green betel leaf extract with a concentration of 250 ppm to a concentration of 2000 ppm could inhibit bacteria, with the MBC value at a concentration of 500 ppm. Green betel leaf has better antibacterial activity than lemongrass leaf in inhibiting and killing the growth of Streptococcus mutans. **Keywords:** Antibacterial, Streptococcus mutans, Herbal plants.

#### **PENDAHULUAN**

Perhatian khusus harus diberikan terhadap kondisi kesehatan, karena berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar 2018 masyarakat Indonesia sebanyak 57,6% memiliki permasalahan kesehatan yang berkaitan dengan gigi dan mulut.<sup>1,2</sup> Karies gigi adalah masalah utama kesehatan gigi dan mulut di Indonesia, dengan beberapa faktor etiologi yang saling berinteraksi. Faktor-faktor tersebut yaitu host (gigi dan saliva), substrat, mikroorganisme, dan waktu. Namun dari berbagai etiologi tersebut, kehadiran Streptococcus mutans (S. mutans) di rongga mulut dikatakan sebagai penyebab utamanya.<sup>3,4</sup> Bakteri gram positif ini bersifat anaerob fakultatif dan nonmotil yang dapat memetabolisme karbohidrat.<sup>5</sup> Oleh karena itu diperlukan agen antibakteri untuk mencegah perkembangannya.

Belakangan ini beberapa bahan alam telah dikaji dan telah terbukti memiliki aktifitas antibakteri, diantaranya yaitu tanaman sereh dan sirih hijau yang memiliki aktifitas antibakteri terhadap perkembangan Streptococcus mutans. <sup>6,7</sup> Oleh karenan itu penggunaan tanaman herbal dalam pengobatan penyakit dapat dikembangkan karena tanaman herbal memiliki senyawa aktif yang dapat dimanfaatkan dalam pencegahan ataupun pengobatan penyakit akibat infeksi bakteri.<sup>8</sup>

Daun sereh (*Cymbopogon citratus*) adalah tanaman herbal yang biasanya digunakan dalam pengobatan tradisional dan sebagai penambah aroma rasa pada makanan. Dalam analisis fitokimia diketahui bahwa daun sereh ini mengandung minyak atsiri, tanin, saponin, flavonoid, polifenol dan alkaloid.<sup>9</sup> Berbagai kandungan komponen biologi aktif

tersebut, dapat menunjukkan bahwa daun sereh memiliki efek sebagai antibakteri yang cukup baik khususnya kandungan minyak atsiri dan saponin. <sup>10,11</sup>

Tanaman lain yang dapat di manfaatkan sebagai antibakteri yaitu daun sirih hijau, yang memiliki kandungan minyak atsiri sebesar 4,2%, sehingga memiliki aroma yang khas. Kandungan lainnya yaitu tannin, saponin, flavonoid, polifenol, terpenoid, dan steroid. 12,13 Fenol merupakan komponen dari minyak atsiri yang utama dan terdiri dari kavikol dan betlephenol yang merupakan kavibetol dan senyawa aromatik, allilpyrocatechol, eugenol, karvakol, serta ketekin sebagai senyawa turunannya. Kandungan fenol ini memiliki sifat kuat sebagai antibakteri dan efektif dalam menghambat pertumbuhan beberapa jenis bakteri. Daun sirih hijau juga mengandung gula, pati, tannin. 12,14 diastase, seskuiterpen,

Kedua tanaman ini merupakan tanaman asli Indonesia serta paling umum di tanam di daerah beriklim tropis. Tanaman ini dapat bermanfaat dalam pengobatan beberapa penyakit, termasuk pengobatan gigi dan mulut.<sup>15</sup> Oleh karena itu, pemanfaatan daun sirih hijau dan daun sereh, belakangan ini mulai menarik perhatian para peneliti. Daun sirih hijau dan daun sereh dipercaya memiliki beberapa khasiat herbal, salah satunya adalah sebagai antibakteri sehingga dapat dimanfaatkan oleh masyarakat secara luas.

#### METODE PENELITIAN

Metode microdilusi untuk menentukan KHM dan KBM. Ekstrak etanol daun sirih hijau dan daun sereh yang akan digunakan diperoleh dari Perkebunan Monoko Lembang dan Laboratorium Farmasi Bahan Alam Institut Teknologi Bandung. Uji determinasi tanaman dilakukan di Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, ITB.

#### Uji Fitokimia Daun Sirih Hijau dan Daun Sereh

Skrining fitokimia dari senyawasenyawa alkaloid, flavanoida, saponin, kuinon, steroid triterpenoid, tannin galat, tanin kateukat, sebagai berikut:

- 8. Analisis senyawa alkaloid: 5 gram simplisia di lembabkan dengan ammonia 25%, dengan menggunakan mortar, tambah 20ml CHI3, di saring, filtrat semprotkan pada kertas saring lalu teteskan dragendurf atau filtrat diekstrasi dengan HCl ke dalam tabung reaksi, teteskan dragendorf / mayer. Dragendorf akan terbentuk end merah. Mayer akan terbentuk end putih
- 9. Analisis senyawa flavanoida : 10 gram simplisia ditambah 100ml air didihkan selama 15menit, saring dan masukkan ke dalam tabug reaksi 5 ml filtrate. Mg ditambhakan dengan HCl 1ml dan amil alkohol 2 ml lalu kocok. Terbentuk warna merah, kuning, hijau, jingga. 10. Analisis senyawa saponin :10ml larutan/sampel masukan ke tabung reaksi, tambah 1 tetes HCL, lalu di kocok, terbentuk busa lebih dari 10detik
- 11. Analisis senyawa kuinon : 1 gram simplisia didihkan dengan 10ml air selama 5 menit, saring masukan ke dalam tabung reaksi, tambah 5ml NaOH IN. Terbentuk warna merah.
- 12. Analisis senyawa steroid triterpenoid: 5gram simplisia maserasi dengan 20ml eter selama 2 jam, saring uapkan ke dalam cawan penguap teteskan asam asetat glacial dan teteskan H2SO4. Terbentuk warna hijau merah dan biru.
- 13. Analisis senyawa tanin galat : 10gram simplisia didihkan dalam air 100ml selama 5menit, saring tambahkan Fecl3 1% atau gelatin atau Na asetat. Terbentuk warna biru, hijau hitam.
- 14. Analisis senyawa tanin kateukat : 5ml filtrat sisa dari yang sebelumnya tambahkan larutan steasny 1ml, panaskan dalam penangas air. Terbentuk warna merah.

#### Ekstrak Daun Sirih Hijau dan Daun Sereh

Daun sirih hijau dan juga daun sereh dicuci dan dikeringkan menggunakan *food dehydrator* hingga diperoleh simplisia. Haluskan simplisia menjadi serbuk dan diekstraksi menggunakan 2000 ml pelarut

etanol 70% dengan teknik maserasi. Aduk larutan tersebut, tutup menggunakan alumunium foil, lalu simpan pada suhu ruang. Setiap 24 jam, filtrat hasil rendaman disaring dan ditampung kedalam botol bersih. Ekstraksi dilakukan selama 7 hari sampai tidak berwarna. Filtrat dipekatkan hingga membentuk ekstrak kental/pasta menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C.

#### Pengenceran Ekstrak Daun Sirih Hijau dan Daun Sereh

Proses pengenceran ekstrak etanol daun sirih hijau dan daun sereh (*working solution*) dilakukan dengan cara sebagai berikut:

4. Pembuatan larutan stok

Timbang 20 mg ekstrak dan larutkan dalam 5 ml *Mueller Hinton Broth* (MHB), sehingga menghasilkan stok dengan konsentrasi 4000 µg/ml.

- 5. Pembuatan seri *working solution* (WS) ekstrak daun sirih hijau dan daun sereh: konsentrasi 2000 ppm, 1000 ppm, 500 ppm, 250 ppm, 125 ppm, 62,5 ppm, 31,25 ppm, 15,625 ppm, 7,8125 ppm, 3,90625 ppm.
- 4. Filtrasi sampel

Working solution difilter dengan menggunakan syringe filter tissue culture pori 0,22 μm, sehingga dapat diperoleh sampel yang steril.

## Persiapan Media Agar *Mueller Hinton* Agar (MHA)

Timbang Media MHA (*Muller Hinton Agar*) sejumlah 38gr dan larutkan dalam 1L akuades. Sterilkan media menggunakan autoklaf (suhu 121°C, 20 menit). Media MHA dituangkan ke dalam cawan petri steril, simpan hingga padat pada suhu ruangan. Setelah padat masukkan ke dalam lemari es (suhu 4°C).

#### Mueller Hinton Broth (MHB)

Timbang serbuk media cair MHB (gm/liter *Beef extract 300.0,* 17.5 *casein hydrolysate,* 1,5 *starch)* sebanyak 21 gram dan dilarutkan pada 1 liter air suling. Kemudian didihkan selama 60 detik dengan tujuan agar larutan dapat tercampur dengan baik, setelah itu media disterilisasi.

#### Persiapan Mikroorganisme Uji dan Pembuatan Suspensi *Streptococcus Mutans*

Inokulasi 1 ose *Streptococcus mutans* ATCC 35668 ke plat media MHA lalu diinkubasi (suhu 37°C selama 24 jam). Ambil 1 ose suspensi bakteri, masukkan ke dalam 10ml

media MHB diinkubasi pada suhu 37°C selama 24jam.

Kemudian absorbansinya diukur dengan panjang gelombang 625nm sampai didapat absorban 0,08 – 0,12. Sesuai dengan 0,5 Mc. Farland. Encerkan suspensi bakteri dengan media *Mueller Hinton Broth, selanjutnya* lakukan pengujian *Total Plate Count* (TPC) untuk mengetahui populasi dari bakteri tersebut.

#### Pemeriksaan KHM dan KBM

Siapkan *plate* (96 well plate), masing-masing diisi dengan 100µl media Mueller hinton broth sebagai kontrol media pada baris pertama, baris kedua diisi 100µl media dan 10µl suspensi bakteri sebagai kontrol bakteri. Sebanyak 100µl dari konsentrasi sesuai dengan WS di masukan ke dalam well pada baris 3 sampai 12, setelah itu tambahkan 10µl suspensi

bakteri, begitu juga pada kontrol positif dan kontrol negatif.

Inkubasi *plate* selama 24 jam pada suhu 37°C lalu kekeruhan yang terjadi diamati untuk menetapkan nilai KHM. Nilai KBM di lakukan dengan cara menginokulasi 50µl cairan ekstrak pada *well* kedalam medium/ plat MHA. Lalu inkubasi cawan petri selama 24 jam dengan suhu 37°C. Koloni *streptococcus mutans* diamati pertumbuhannya untuk menentukan KBM. Lakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

#### HASIL PENELITIAN

Sampel tanaman diuji fitokimia dan menunjukkan bahwa tanaman sereh dan sirih hijau mengandung flavonoid, tannin, steroid/triterpenoid, alkaloid, dan saponin.

Hasil Uji Skrining Fitokimia

Tabel 1 Uji Skrining Fitokimimia Daun Sereh

Metabolit Sekunder	Hasil	Keterangan					
7. Alkaloid	+	Terbentuk warna jingga					
8. Flavonoid	+	Terbentuk warna hijau					
9. Saponin	+	Terbentuk busa > 10 detik					
10. Kuinon	-	Tidak terjadi perubahan warna					
11. Tanin	+/galat	Terbentuk warna hijau kehitaman					
12. Steroid/Triterpenoid	+	Terbentuk warna hijau					

Tabel 2 Uji Skrining Fitokimimia Daun Sirih hijau

Metabolit Sekunder	Hasil	Keterangan
7. Alkaloid	+	Terbentuk warna merah
8. Flavonoid	+	Terbentuk warna kuning
9. Saponin	+	Terbentuk busa > 10 detik
10. Kuinon	+	Terbentuk warna merah
11. Tanin	+/galat	Terbentuk warna biru/violet
12. Steroid/Triterpenoid	+	Terbentuk warna merah

### **Kadar Hambat Minimum** (KHM)

Tabel 3 Hasil Pengamatan Well plate (KHM)

No. Well	Konsentrasi (ppm)	Ekstrak Daun Sereh				Ekstrak Daun Sirih Hijau			rhexid	ine	Etanol 96%		
plate	41	R.1	R.2	R.3	R.1	R.2	R.3	R.1	R.2	R.3	R.1	R.2	R.3
1	MHB	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	Kontrol M	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	3,90625	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
4	7.8125	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
5	15.625	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
6	31.25	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
7	62.5	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
8	125	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
9	250	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+
10	500	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+
11	1000	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+
12	2000	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+

Keterangan:

MHB : Media Mueller Hinton Broth

Kontrol M : Media Uji

Tanda Negatif (-) : Menunjukan tidak adanya pertumbuhan bakteri Uji Tanda Positif (+) : Menunjukan adanya Pertumbuhan bakteri uji

R1, R2, R3 : Repetisi

Hasil pengamatan visual menunjukan ekstrak daun sereh pada berbagai konsentrasi yang digunakan dalam penelitian tidak manunjukkan kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan ekstrak daun sirih hijau konsentrasi 250 ppm

sampai konsentrasi 2000 ppm dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Etanol 96% pada seluruh konsentrasi tidak dapat menghambat bakteri, hal ini berbeda dengan khlorhexidine 2% pada dapat menghambat bakteri pada seluruh konsentrasi.

#### Kadar Bunuh Minimum (KBM) Hasil Pengamatan Pertubuhan koloni pada Plat MHA

**Tabel 4** Hasil Pengamatan Plat MHA (KBM)

No. Well	Konsentrasi ( ppm )	Ekstrak Daun Serai			Ekstrak Daun Sirih Hijau			Khlorhexidine 2%			Etanol 96%		
plate		R.1	R.2	R.3	R.1	R.2	R.3	R.1	R.2	R.3	R.1	R.2	R.3
1	MHB	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	Kontrol M	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	3,90625	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
4	7.8125	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
5	15.625	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
6	31.25	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
7	62.5	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
8	125	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+

9	250	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
10	500	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+
11	1000	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+
12	2000	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+

Keterangan:

MHB : Media MHB Kontrol M : Media

Tanda Negatif (-) : Tidak ada pertumbuhan Bakteri Uji Tanda Positif (+) : Ada Pertumbuhan Bakteri Uji

R1, R2, R3 : Repetisi

Hasil pengamatan pertumbuhan koloni pada plat MHA yang di lakukan menunjukan ekstrak daun sereh pada berbagai konsentrasi penelitian tidak dapat membunuh bakteri sehingga tidak dapat di tentukan nilai KBMnya, sedangkan pada ekstrak daun sirih hijau konsentrasi 500 ppm sampai konsentrasi 2000ppm dapat membunuh bakteri. Nilai KBM daun sirih hijau yaitu pada konsentrasi 500 ppm. Etanol 96% dari seluruh konsentrasi yang digunakan tidak dapat membunuh bakteri uji, berbeda dengan khlorhexidine 2% pada seluruh konsentrasi yang digunakan dapat membunuh bakteri uji.

#### DISKUSI

Hasil uji fitokimia yang dihasilkan dalam penelitian ini dapat berbeda-beda, hal ini dapat dipengaruhi karena pengolahan simplisia, teknik penyarigan dan pengeringan, pemotongan, penggilingan, pemanasan, dimana tersebut dapat mengakibatkan kandungan metabolit sekunder mengalami kerusakan. 16 Faktor lain yang juga berpengaruh vaitu lokasi atau faktor eksternal seperti iklim dan lingkungan dimana tanaman itu tumbuh dapat mempengaruhi kandungan metabolit sekunder.17

Hasil penelitian yang di lakukan dengan tiga kali pengulangan memperlihatkan bahwa berbagai konsentrasi ekstrak daun sereh tidak menghambat ataupun membunuh dapat pertumbuhan bakteri Streptococcus mutans jika dibandingkan dengan perlakuan menggunakan ekstrak daun sirih hijau. Begitu juga penelitian yang di lakukan oleh Prananda Adiguna dan Oedijani Santoso, menyatakan bahwa ekstrak daun sereh pada konsentrasi yang beragam tidak memiliki daya hambat terhadap viabilitas bakteri Steptococcus mutans. 18,19 Berdasarkan penelitian lain yang telah dilakukan oleh Susanna A. F. Kawengian, dinyatakan bahwa kemampuan ekstrak daun sereh dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* termasuk golongan lemah. <sup>11</sup>

Kandungan senyawa aktif dari ekstrak daun sirih hijau dan daun sereh diantaranya yaitu: flavonoid, tannin, saponin, dan steroid/triterpenoid. Kandungan ini dapat menyebabkan terganggunya permeabilitas membran sel (triterpenoid, steroid, tanin, flavonoid, dan saponin), sedangkan fenol dan flavonoid dapat menyebabkan terdenaturasinya protein sel.<sup>20,21</sup>

Selain itu, kuinon yang terkandung dalam daun sirih hijau dapat membentuk senyawa kompleks yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri sehingga kuinon dapat berperan sebagai antibakteri.<sup>22</sup> Selanjutnya kehidupan sel bakteri juga akan terganggu karena asam amino nukleofilik membentuk residu pada membrane plasma dan protein transmembran.<sup>23</sup>

Senyawa fenol dalam daun sirih hijau terdiri dari Chevica dan Chavicol paraallyphenol memiliki efek yang berdasarkan konsentrasinya. Fenol dengan konsentrasi 0.1-1% memiliki sifat bakteriostatik dan konsentrasi 1-2% memiliki sifat bakterisidal melalui proses denaturasi protein sel.<sup>24,25</sup>

memiliki efek dalam Saponin menghambat bakteri karena dapat menyebabkan kebocoran sitoplasma akibat terganggunya kestabilan sitoplasma. Saponin dapat menyebabkan rusaknya membran sel karena terganggunya permeabilitas membran sel bakteri. Hal ini juga menyebabkan asam nukleat, protein, dan nukleotida sebagai komponen penting dalam sel akan keluar dari dalam sel yang selanjautnya mengakibatkan kematian sel. 13,22

Flavonoid sebagai antibakteri dapat menghambat sintesis asam nukleat,

metabolisme energy, dan fungsi dari membran sel.<sup>26</sup> Senyawa lainnya yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri vaitu alkaloid. Mekanisme kerjanya yaitu dengan menvebabkan kematian akibat tidak terbentuknya lapisan dinding sel secara utuh yang menyebabkan integritas komponen penyusun peptidoglikan akan terganggu.<sup>27</sup>

Terpenoid dapat berperan sebagai antibakteri melalui terjadinya kerusakan membran sel bakteri yang terjadi ketika adanya peningkatan permeabilitas membrane dan pelarutan konstituen lipid pada sisi aktif.<sup>28</sup> Steroid dapat menghambat pertumbuhan bakteri karena dapat menyebabkan kebocoran pada liposom bakteri. Komponen ini dapat menyebabkan sel manjadi rapuh dan lisis akibat terjadinya perubahan morfologi membran sel.<sup>23</sup>

Kemampuan tannin dalam menghambat pertumbuhan bakteri dapat terjadi dengan mengubah adhesin bakteri menjadi tidak aktif dan pada selubung sel menghambat transport protein. Tanin menyababkan tidak sempurnanya pembentukan dinding sel bakteri karena target kerusakan terjadi pada polipeptida dinding sel. Hal ini menyebabkan kematian sel bakteri.<sup>23</sup>

Chlorhexidine pada penelitian ini sebagai kontrol positif, dimana chlorhexidine dapat menyebabkan rupturnya membran sel, karena terjadinya peningkatan permeabilitas membrane sel akibat ikatannya dengan dinding sel. Kondisi ini menyebabkan terjadinya kematian sel akibat ketidakseimbangan osmotik dan penetrasi ke dalam sitoplasma.<sup>29</sup>

#### KESIMPULAN

Daun sirih hijau (*Piper betle L*) memiliki aktivitas antibakteri yang lebih baik dari pada daun sereh (*Cymbopogon citratus*) dalam menghambat dan membunuh pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Nindya Cahyaningrum A. Relationship of Mother Behavior Against Dental Caries Incidence in Toddler at Putra Sentosa Early Childhood. Jurnal Dental. 2017; 2(5): 142-151.
- 31. Hasil Utama Riskesdas. Kementerian Kesehatan. Riset Kesehat Dasar. 2018.
- 32. Listrianah. Indek Karies Gigi Ditinjau Dari Penyakit umum dan Sekresi Saliva Pada Anak di Sekolah Dasar Negeri 30 Palembang. Jurnal Kesehatan Palembang

- 2017; 2(12).
- 33. Rosdiana N, Nasution AI. Gambaran Daya Hambat Minyak Kelapa Murni Dan Minyak Kayu Putih Dalam Menghambat Pertumbuhan Streptokokus Mutans. Syiah Kuala Dental Soc Jurnal. 2016; 1(1): 43-50.
- 34. Novita W. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Sirih (Piper Betle L) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Streptokokus Mutan Secara in Vitro. 2016; 2(4): 140-155.
- 35. Ortega Cuadros M, Tofiño Rivera AP, Merini LJ, Martinez Pabon MC. Antimicrobial activity of Cymbopogon citratus (Poaceae) essential oil on Streptococcus mutans biofilm and cytotoxic effect on keratinocytes and fibroblasts. Rev.Biol. Trop. 2018; 4(66): 1519-1529.
- 36. Mangesa R, Aloatuan F. Efektifitas dan Kandungan Fraksi Aktif Metanol Daun Sirih Hijau (Piper Betle L) sebagai Antibakteri Salmonellatyphi. Biosf Jurnal Tadris Biol. 2019; 10(1): 57-65.
- 37. Vifta RL, Wansyah MA, Hati AK. Aktivitas antibakteri salep ekstrak etanol daun sirih hijau (Piper betleL.) Terhadap infeksi bakteri Staphylococcus aureus. Kartika Jurnal Ilmu Farmasi. 2017; 5(2): 56.
- 38. Diana F, Andila I, Safutra E. Pengaruh Ekstrak Sereh (Cymbopogon citratus DC) terhadap Prevalensi dan Survival Benih Ikan Mas (Cyprinus carpio L) yang diinfeksi Bakteri Edwardsiella tarda. Jurnal Akuakultura. 2017; 1(1): 1-8.
- 39. Erlyn P. Efektivitas Antibakteri Fraksi Aktif Serai (Cymbopogon citratus) terhadap Bakteri Streptokokus mutans. Syifa' Medika Jurnal Kedokteran dan Kesehat. 2016; 6(2): 111.
- 40. SAF, Wuisan J, Leman MA. Uji daya hambat ekstrak daun serai (Cymbopogon citratus L) terhadap pertumbuhan Streptokokus mutans. Jurnal e-GiGi. 2017:5(1):7-11.
- 41. Riset A, Indonesia JK, Sundari D. Uji Aktivitas Antiseptik Ekstrak Etanol Daun Sirih (Piper betle Linn.) dalam Obat Kumur terhadap Staphylococcus aureus secara in Vitro. Jurnal Kefarmasian Indonesia. 2019; 1(5):10-18.
- 42. Vifta Rissa laila. Perbandingan Total Rendemen dan Skrining Antibakteri

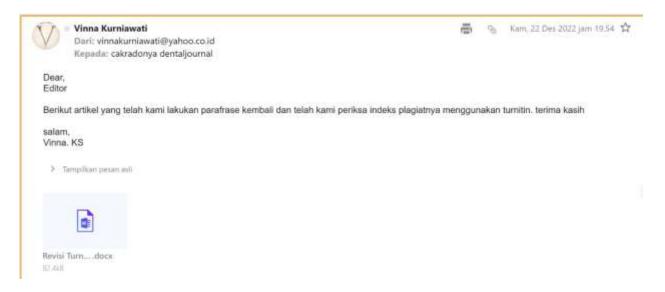
- Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (Piper Betle L.) secara Mikrodilusi. Jurnal Sci Appl Technology. 2017;2(1):87-93.
- 43. Bustanussalam, Devi Apriasi, Eka Suhardi DJ. Efektivitas Antibakteri ekstrak Daun Sirih (Pipper Betle Linn.) Terhadap. Fitofarmaka: Jurnal Ilmiah Farmasi. 2015; 5(2): 58-64.
- 44. Utara US. The Effectivity of Lemongrass (Cymbopogon Citratus) Extract Against Porphyromonas Gingivalis ATCC® 33277<sup>TM</sup> (In-Vlitro). Int Dent. Conf. Sumatera Utara. 2017;8:169-172.
- 45. Nurul Hasanah E. Harso Kardhinata dan Jamilah Nasution. Antibacterial Test of Sapilla Manila (Manilkara zapota) Leaf Extract Against Escherichia Coli. Jurnal Ilmiah Biologi UM. 2019; 2(2): 64-71.
- 46. N.E. Tajidin, S.H Ahmad, A.B. Rosenani, H. Azimah, M. Munirah, "Chemical composition and citral content in lemongrass (Cymbopogon citratus) essential oil at three maturity stages," Afr. J Biotechnol. 2012; 11(11): 2689.
- 47. Adiguna P, Santoso O. Pengaruh Ekstrak Daun Serai (Cymbopogon Citratus) pada Berbagai Konsentrasi terhadap Viabilitas Bakteri Streptokokus Mutans. Jurnal Kedokteran Diponegoro. 2017;4(6):1543-1550.
- 48. Sugiaman V, Rosnaeni R. Pengaruh Berkumur Seduhan Daun Sirih Hijau (Pipper Bettle L.) terhadap Pembentukan Plak Gigi dan Perkembangan Colony Forming Unit (CFU) Streptokokus mutans di Rongga Mulut. Jurnal Tumbuh obat Indonesia. 2013;6(1):45-53.
- Brooks, Geo F; Janet S. Butel, Stephen A. Morse. Mikrobiologi Kedokteran Jawets, Melnick, & Adelberg Edisi 23. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. 2008.
- 50. Aden Dhana Rizkita Edy Cahyono, Sri Mursiti. Isolasi dan Uji Antibakteri Minyak Daun Sirih Hijau dan Merah terhadap Streptococcus mutans Indonesian Journal of Chemical Science. 2017: 3(6).
- 51. Devy Kartika Hadi , Erina, Rinidar, Fakhrurrazi, Rosmaidar, Arman Sayuthi Daya Hambat Ekstrak Metanol Daun Mengkudu (Morinda citrifolia L.) Terhadap Pertumbuhan Salmonella sp. dan Escherichia coli. Jimvet e. 2019; 3(2): 87-97.

- 52. Olivia Waworuntu, Michael A. Leman Potensi Antibakteri Air Perasan Bawang Putih Terhadap pertumbuhan (Allium sativum L) Staphylococcus aureus. Jurnal Ilmiah Farmasi. 2016; 4(5): 2302 - 2493.
- 53. Baviskar HP, Dhake GT, Kasai MA, Chaudhari NB, Deshmukh TA. Review of Piper Betle. Res Jurnal Pharmacogn Phytochem. 2017; 9(2):128-134.
- 54. Novita Carolia, Wulan Noventi. Potensi Ekstrak Daun Sirih Hijau (Piper betle L.) sebagai Alternatif Terapi Acne vulgaris. Majority. 2016; 1(5):140.
- 55. Gagan Shah, Richa Shri, Vivek Pancha, Narender Sharma, Bharpur Singh, A. S. Mann Scientifific basis for the therapeutic use of Cymbopogoncitratus, Stapf (Lemon grass). Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research. 2011;1(2)
- 56. Rachmawaty FJ, Mahardina DAC, Nirwani D, Titis N, & Bowo ET. Manfaat Sirih Merah (Piper crocatum) Sebagai Agen Anti Bakterial Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia 2017; 1(3).
- 57. Friska Ani Rahman, Tetiana Haniastuti, Trianna Wahyu Utam. Skrining Fitokimia dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirsak (Annona muricata L.) pada Streptococcus mutans ATCC 35668. Majalah Kedokteran Gigi Indonesia. 2017; 1(3).
- 58. Fajriani, Jenifer N. Andriani. Reduction of Salivary Streptococcus mutans Colonies in Children After Rinsing with 2.5% Green Tea Solution. Journal of Dentistry Indonesia. 2014; 3(21): 79-84.

#### Bukti melakukan review yang kedua (22 Desember 2022)



#### Bukti konfirmasi submit artikel yang telah revisi kedua



### Bukti konfirmasi artikel diterima (18 September 2023)



### **Bukti Galery Proof Manuscript**

## Bukti Publiksi Online Artikel (September 2022)

