

## EFEK ANTIBAKTERI SUPERNATAN JUS ANGGUR MERAH YANG DIISOLASI DENGAN KECEPATAN SENTRIFUGASI 12.000 rpm TERHADAP PERTUMBUHAN *S. MUTANS*

Dini Rachmawati\*, Sumarno\*\*, Anggi Wahyu Nur Cahyani\*

**Keywords:**  
Red grape juice,  
*Streptococcus mutans*,  
antibacterial

### ABSTRACT

**Background:** *Streptococcus mutans* (*S.mutans*) is a gram-positive bacteria in oral cavity which produced acid as the common cause of dental caries. In order to prevent the growth or kill *Streptococcus mutans*, antibacterial is required. Red grape (*Vitis vinifera*) is suspected to contain antibacterial.

**Method:** An experimental study using the post test only control group design is carried out to *Streptococcus mutans* with tube dilution method and streaking on the Brain Heart Infusion. A range of concentration from 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 98%. The control group are group of bacteria and red grape juice control.

**Result:** The analysis of Minimum Inhibitor Bactericidal (MIC) is show a difference absorbent value as the given concentration (Anova,  $p < 0,05$ ). The correlation test show is strong reciprocal association between concentration of red grape juice and absorbent value ( $r = -0,978$ ;  $p < 0,05$ ). The analysis of Minimum Bactericidal Concentration (MBC) is shows difference of the number of colonies as given concentration (Anova,  $p < 0,05$ ). The correlation reveals a very strong reciprocal association between concentration of red grape juice and the number of *Streptococcus mutans* colonies growth ( $r = -0,925$ ;  $p < 0,05$ ).

**Conclusion:** The conclusion is supernatant of red grape juice has effect the growth as antibacterial agent on *Streptococcus mutans* in vitro, with MIC at concentration 60% and MBC at concentration 80%

### PENDAHULUAN

Masalah kesehatan gigi yang paling utama adalah karies gigi dan penyakit periodontal<sup>1</sup>. Karies merupakan masalah kesehatan gigi dan mulut yang paling sering dijumpai di negara-negara industri dan mempengaruhi 60-90% anak-anak dan orang dewasa<sup>2</sup>. Menurut hasil laporan nasional Riskesdas 2007, prevalensi masalah gigi dan mulut di Indonesia mencapai 23,5%. Demikian pula dengan prevalensi karies yang cukup tinggi yaitu 67,2%. Sementara itu, besarnya kerusakan gigi yang belum ditangani dan memerlukan pencabutan maupun penumpatan adalah 25,2%<sup>3</sup>.

Karies gigi merupakan penyakit infeksi pada jaringan keras gigi dan bahan-bahan

organik pembentuk gigi yang disebabkan oleh interaksi mikroorganisme dengan karbohidrat yang dapat difermentasikan. Faktor yang berpengaruh dalam pembentukan karies adalah faktor host/inang, mikroorganisme, substrat (makanan) dan waktu. Pada faktor mikroorganisme, yang berpengaruh dalam pembentukan karies adalah bakteri *Streptococcus mutans*<sup>4</sup>.

Dewasa ini semakin banyak alternatif pengobatan menggunakan bahan alami sebagai antimikroba, karena bahan alami mempunyai efek samping yang rendah, kurang toksis dan mempunyai sifat biodegradabilitas lebih tinggi jika dibandingkan dengan obat konvensional<sup>5</sup>. Anggur merah merupakan buah yang digemari oleh masyarakat. Anggur

\*Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya, \*\*Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya  
Korespondensi: dinipdgub@yahoo.com

bisa dikonsumsi langsung sebagai buah segar atau jus berbagai olahan makanan atau minuman hingga kismis<sup>6</sup>. Anggur dapat mencegah kerusakan gigi karena memiliki kandungan antibakteri. Untuk mengoptimalkan senyawa antibakteri yang terkandung di dalam anggur dapat dilakukan pengolahan dengan menggunakan metode jus. Kelebihan metode jus ini yaitu dapat mengonsumsi buah-buahan yang praktis tanpa harus kehilangan kandungan nutrisi buah tersebut dan juga kandungan fenol yang lebih banyak pada jus anggur dibandingkan dengan memakan buahnya secara langsung. Hal ini dikarenakan biji anggur juga dihancurkan bersama kulit dan daging buah sehingga kandungan yang bermanfaat pada biji anggur tidak terbuang<sup>7</sup>.

Isolasi jus anggur merah (*Vitis vinifera*) merupakan langkah untuk mengetahui komponen jus anggur yang dapat berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Supernatan hasil isolasi sentrifugasi 12.000 rpm pada jus buah anggur merah terdapat beberapa zat antibakteri yaitu flavonoid, tannin, antosianin dan reveratrol. Penelitian tentang buah anggur sebagai antibakteri telah banyak dilakukan tetapi belum ada penelitian mengenai potensi supernatan jus anggur merah (*Vitis vinifera*) yang diisolasi dengan kecepatan sentrifugasi 12.000 rpm terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* secara *in vitro*.

## METODE PENELITIAN

Desain Penelitian. Rancangan penelitian adalah penelitian eksperimental dengan rancangan post test only control group design dengan menggunakan metode tube dilution untuk mengetahui pengaruh supernatan

jus buah anggur merah (*Vitis vinifera*) yang diisolasi dengan kecepatan sentrifugasi 12.000rpm digunakan sebagai antibakteri *Streptococcus mutans* secara *in vitro*. Metode ini meliputi dua tahap, yaitu tahap pengujian bahan pada medium BHIB (Brain Heart Infusion Broth) untuk mengetahui KHM, serta tahap penggoresan pada media BHIA (Brain Heart Infusion Agar) untuk mengetahui KBM.

Sampel Penelitian. Sampel penelitian berupa bakteri *Streptococcus mutans* yang diperoleh dari laboratorium mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

## HASIL PENELITIAN

Hasil Identifikasi *Streptococcus mutans*. Hasil streaking pada Brain Heart Infusion Agar (BHIA) isolat bakteri *Streptococcus mutans* menunjukkan koloni bakteri berbentuk bulat dengan permukaan sedikit cembung. Teksturnya halus, licin terkadang saling bertumpuk. Koloni berwarna kuning keputihan dan sedikit transparan. Koloni bakteri *Streptococcus mutans* sangat lengket dengan Brain Heart Infusion Agar (BHIA). Pada perwarnaan gram dan pengamatan di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x, didapatkan gambaran sel bakteri berbentuk bulat, lonjong atau bulat lonjong berantai. Hasil tes katalase tidak terdapat adanya gelembung udara pada isolat bakteri *Streptococcus mutans*. Hasil tes optochin bakteri *Streptococcus mutans* menunjukkan hasil reaksi negatif yaitu dengan tidak adanya zona hambatan di sekeliling disk optochin. Serangkaian tes identifikasi bakteri ini digunakan untuk memastikan bahwa isolat bakteri yang digunakan oleh peneliti adalah benar bakteri *Streptococcus mutans*.

Hasil Isolasi Jus Buah Anggur Merah (*Vitis vinifera*). Hasil isolasi jus buah anggur merah

(*Vitis vinifera*) yaitu berwarna bening merah muda, ekstraknya encer dan jernih. Jika dicampur dengan aquades larutan tersebut menjadi homogen dengan warna bening merah muda. Apabila larutan tersebut dicampur dengan Brain Heart Infusion Broth (BHIB) dan diinkubasi 18-24 jam pada suhu 37°C, akan didapatkan larutan berwarna bening warna merah muda dan terdapat sedikit debris di bagian bawah tabung.

Hasil Uji Dilusi Tabung. KHM (Kadar Hambat Minimal) ditentukan dari mengukur tingkat kejernihan dengan menggunakan spektrofotometer. Penentuan KHM dengan menggunakan spektrofotometer bertujuan untuk mengukur hasil tingkat kekeruhan secara obyektif dan mendapatkan angka yang valid. Pada penelitian sebelumnya pengukuran untuk mencari nilai KHM dengan menggunakan metode Mc Firland yaitu

dengan mengamati tingkat kekeruhan pada tabung berdasarkan 3 baris garis hitam yang tampak dibalik tabung tetapi dengan metode tersebut hasil pengukurannya subyektif karena pengukurannya dilakukan dengan cara visual saja. Tabel 1 menunjukkan hasil dari pengukuran tingkat kejernihan dengan menggunakan spektrofotometer. Satuan dari hasil spektrofotometer yaitu AU (Astronomi Unit). Nilai spektrofotometer diukur berdasarkan tingkat kejernihan. Semakin jernih suspensi maka nilai spektrofotometer semakin rendah dan sebaliknya semakin keruh suspensi maka semakin besar nilai spektrofotometer. Berdasarkan hasil spektrofotometer nilai KHM supernatan jus buah anggur merah terhadap *Streptococcus mutans* pada konsentrasi 60%. Pada konsentrasi 60% hasil rerata spektrofotometer sama dengan hasil rerata nilai kelompok kontrol bahan yaitu 0,656 AU.

**Tabel 1. Hasil Spektrofotometer**

<u>Konsentrasi</u>	<u>Pengulangan 1 (AU)</u>	<u>Pengulangan 2 (AU)</u>	<u>Pengulangan 3(AU)</u>	<u>Pengulangan 4AU)</u>	<u>Rerata</u>	<u>Standar Deviasi</u>
98%	0,382	0,247	0,313	0,364	0.84875	0.01738
90%	0,410	0,403	0,389	0,390	0.8375	0.01511
80%	0.580	0,405	0,487	0,480	0.65725	0.02124
70%	0,671	0,560	0,593	0,590	0.57625	0.0125
60%	0,852	0,580	0,607	0,637	0.44075	0.38759
50%	0,828	0,828	0,816	0,822	0.39075	0.008302
40%	1,109	0,852	0,827	0,870	0.20825	0.403354
<u>Kontrol Bahan</u>	0,656	0,656	0,656	0,656	0.656	0
<u>Kontrol Kuman</u>	1,455	1,455	1,455	1,455	1.455	0

**Tabel 2. Hasil perhitungan koloni Streptococcus mutans pada media BHIA**

Konsentrasi	Pengulangan 1 (CFU/Plate)	Pengulangan 2 (CFU/Plate)	Pengulangan 3 (CFU/Plate)	Pengulangan 4 (CFU/Plate)	Rerata	Simpang Baku
40%	330 x 10 <sup>6</sup>	322 x 10 <sup>6</sup>	335 x 10 <sup>6</sup>	329 x 10 <sup>6</sup>	3,29x10 <sup>6</sup>	5,35 x10 <sup>4</sup>
50%	215 x10 <sup>6</sup>	237 x 10 <sup>6</sup>	210 x 10 <sup>6</sup>	222 x 10 <sup>6</sup>	2,21 x10 <sup>6</sup>	1,18 x10 <sup>5</sup>
60%	116 x 10 <sup>6</sup>	121 x 10 <sup>6</sup>	119 x 10 <sup>6</sup>	117 x 10 <sup>6</sup>	1,18 x10 <sup>6</sup>	2,22 x10 <sup>4</sup>
70%	43 x 10 <sup>6</sup>	37 x 10 <sup>6</sup>	32 x 10 <sup>6</sup>	35 x 10 <sup>6</sup>	3,68 x10 <sup>5</sup>	4,65 x10 <sup>4</sup>
80%	0	0	0	0	0	0
90%	0	0	0	0	0	0
98%	0	0	0	0	0	0
Kontrol Bahan	0	0	0	0	0	0
Original Inokulum	4963 x 10 <sup>6</sup>	4963 x 10 <sup>6</sup>	0			

Hasil Pengukuran Pertumbuhan Streptococcus mutans pada media BHIA (Brain Heart Infusion Agar). Berdasarkan hasil pertumbuhan dan penghitungan koloni bakteri Streptococcus mutans tersebut dapat ditentukan KBM (Kadar Bunuh Minimal) dari jus buah anggur yaitu pada BHI yang tidak ditumbuhi koloni atau jumlah koloni kurang dari 0,1% dari Original inoculum. Masing-masing plate dihitung jumlah koloni bakterinya dengan menggunakan colony counter. Pertumbuhan koloni pada Original inoculum (OI) juga dihitung yaitu terdapat hasil sebesar 4960 CFU/Plate KBM pada konsentrasi jus 80% pada isolate Streptococcus mutans yang diteliti. Karena pada konsentrasi 80% jumlah koloni Streptococcus mutans < dari 0,1% dari Original inoculum.

Hasil pengamatan terhadap jumlah koloni

bakteri Streptococcus mutans yang dihasilkan pada media BHI dalam beberapa konsentrasi jus buah anggur (*Vitis vinifera*) dan kontrol positif. Jumlah koloni Streptococcus mutans yang dihasilkan pada media BHI cenderung semakin menurun ketika diberi konsentrasi lebih tinggi. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa pemberian perlakuan berupa supernatant jus buah anggur merah mempunyai pengaruh sebagai antibakteri yang berbeda jika dibandingkan dengan kontrol bakteri pada media BHI agar tersebut.

Data pada tabel 2 merupakan data hasil perhitungan jumlah koloni bakteri Streptococcus mutans yang dihitung dengan menggunakan colony counter. Dari data tersebut dibuat grafik rerata jumlah koloni yang menunjukkan hubungan antara pemberian berbagai konsentrasi jus buah anggur dengan

jumlah koloni *Streptococcus mutans* yang tumbuh pada medium BHI. Pada tabel terlihat bahwa pada konsentrasi 80%, 90%, 98% sudah tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri, tetapi pada konsentrasi 40%, 50%, 60%, 70% masih terdapat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dengan jumlah sesuai dengan tabel 2.

## DISKUSI

Pada penelitian ini, pemberian terapi supernatan jus anggur merah (*Vitis vinifera*) terbukti memiliki pengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Hal ini ditunjukkan dengan semakin jernih suspensi pada metode dilusi tabung dan terdapat penurunan jumlah koloninya pada media Brain Heart Infision Agar. Penurunan jumlah koloni pada setiap konsentrasi supernatan jus buah anggur merah disebabkan kemampuan supernatan jus anggur merah dalam membunuh bakteri, semakin tinggi konsentrasi supernatan jus buah anggur merah maka semakin besar kemampuan sebagai antibakteri. Kemampuan supernatan jus buah anggur dalam menghambat bakteri *Streptococcus mutans* disebabkan karena buah anggur merah mengandung zat antibakteri<sup>8</sup>.

Metode jus digunakan karena dapat mengambil zat antibakteri yang terdapat pada buah anggur merah dengan metode yang sederhana. Sehingga nantinya dapat digunakan sebagai sebuah cara yang mudah diaplikasikan kepada masyarakat sebagai antiseptik oral. Hal tersebut disebabkan karena metode jus tidak menghilangkan kandungan antibakteri yang terdapat pada buah anggur merah<sup>9</sup>.

Tahap pembuatan supernatan jus buah

anggur merah (*Vitis vinifera*) dengan cara melakukan sentrifugasi pada suspensi jus yang telah dibuat. Sentrifugasi digunakan dengan kecepatan 12.000 rpm. Kecepatan tersebut didapatkan dari hasil uji eksplorasi. Semakin besar kecepatan semakin jernih suatu suspensi dan semakin rendah nilai dari absorbansinya. Pada kecepatan 12.000 rpm didapatkan hasil supernatan yang lebih jernih, partikel yang didapatkan lebih kecil dan tingkat absorbansi yang rendah. Pada penelitian ini yang digunakan ialah bagian supernatan dikarenakan pada bagian supernatan didapatkan bahan atau material yang larut dalam air, karena pada saat pencampuran media bakteri dan suspensi, dibutuhkan zat antibakteri yang larut dalam air<sup>10</sup>.

Penelitian ini menggunakan dilusi tabung dengan cara menghitung koloni bakteri untuk mencari KBM (Kadar Bunuh Minimal) dan melihat hasil spektrofotometer untuk mencari KHM (Kadar Hambat Minimal). Efek antibakteri dapat dibedakan menjadi dua macam yaitu bakteriostatik dan bakterisidal. Bakteriostatik dapat dilihat dengan nilai dari KHM sedangkan bakterisidal dapat dilihat dengan menentukan KBM. Cara menentukan nilai KHM dan nilai KBM dengan cara metode dilusi tabung<sup>11</sup>.

Pada awalnya pengukuran untuk mengetahui nilai Kadar Hambat Minimal dengan menggunakan metode Mc Farland, tetapi karena metode ini bersifat sangat subjektif dan tidak terdapat indikator yang pasti. Maka peneliti menggunakan cara pengukuran dengan spektrofotometer. Spektrofotometer merupakan alat untuk mengukur nilai absorbansi. Nilai absorbansi dapat menunjukkan jumlah sel bakteri. Sehingga pengukuran KHM bersifat obyektif dan pengukurannya menggunakan alat. Tingkat kekeruhan menjadi indikator adanya

pertumbuhan bakteri karena jumlah sel bakteri dapat diukur dengan cara mengetahui kekeruhan (turbiditas) kultur. Banyaknya sel yang diabsorbansi oleh spektrofotometer sebanding dengan banyaknya sel bakteri pada batas-batas tertentu. Semakin keruh atau semakin besar nilai dari absorbansi semakin banyak sel bakterinya<sup>12</sup>. Hasil dari spektrofotometer tersebut dibandingkan dengan nilai absorbansi kelompok kontrol. Nilai absorbansi yang rata-ratanya sama dengan kontrol bahan yaitu terdapat pada konsentrasi 60%. Sehingga KHM didapatkan pada konsentrasi 60%.

Nilai KBM pada penelitian ini terdapat pada konsentrasi 80% karena nilai KBM ditentukan dengan melakukan penggoresan masing-masing konsentrasi pada media BHIA dan perhitungannya didapatkan <0,1% dari jumlah Original Iniculum<sup>6</sup>. Pada penelitian yang dilakukan oleh Yanita Rikasari pada tahun 2007 didapatkan Kadar Bunuh Minimal (KBM) jus buah anggur (*Vitis vinifera*) varietas Probolinggo Biru sebesar 50%. Penelitian yang berbeda untuk mengetahui perbandingan efek antibakteri jus buah anggur Merah (*Vitis vinifera*) terhadap *Streptococcus mutans* juga telah dilakukan oleh Febrina Whidya pada tahun 2007 didapatkan nilai KBM 100%. Penelitian lain yang dilakukan oleh Manggiasih Metalitri pada tahun 2007 menunjukkan bahwa ekstrak kulit jus buah anggur (*Vitis vinifera*) varietas Probolinggo biru memiliki efek antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans* didapatkan Kadar Bunuh Minimal pada konsentrasi 60%. Pada berbagai penelitian diatas didapatkan nilai KBM yang berbeda dengan penelitian ini, hal tersebut dikarenakan pada penelitian ini menggunakan metode yang berbeda dengan penelitian lain. Hal pembedanya yaitu pada penelitian ini

yang digunakan sebagai antibakteri adalah supernatan, kemudian prosedurnya setelah dilakukan penghancuran dengan metode jus dilakukan sentrifugasi kecepatan 12.000 rpm.

Kemampuan anggur dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* (bakteriostatik) sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Rikasari dan Whidia pada tahun 2007 yang menunjukkan bahwa kandungan terdapat pada anggur mampu menekan pertumbuhan bakteri mulut penyebab karies dan penyakit periodontal. Kandungan antibakteri yang terdapat dalam anggur antara lain golongan polifenol (Resveratrol dan tannin), golongan Flavonoid (quarcentin, catechin, pectin, oecyantin) dan asam lemak yaitu oleic acid, oleanolic acid, oleanolic aldehyde, botulin, betulinic acid<sup>13</sup>.

Mekanisme kerja antibakteri secara umum adalah merusak dinding sel, mengganggu permeabilitas sel dan menghambat sintesis protein dan asam nukleat, namun mekanisme kerja dari agen antimikroba juga dipengaruhi oleh tipe bakteri yang terpepar oleh antimikroba tersebut<sup>14</sup>. Kandungan antibakteri yang paling banyak pada anggur adalah fenol. Mekanisme antibakteri fenol berikatan dengan protein melalui ikatan hidrogen sehingga mengakibatkan struktur tiga dimensi protein terganggu dan terbuka sehingga struktur acak tanpa adanya kerusakan pada struktur senyawa kovalen. Hal ini menyebabkan fungsi permeabilitas selektif, fungsi pengangkutan aktif, serta pengendalian susunan protein dari sel bakteri menjadi terganggu, sehingga makromolekul dan ion dapat keluar dari sel. Kemudian sel bakteri akan kehilangan bentuknya dan terjadilah lisis sehingga dapat disimpulkan bahwa fenol memiliki kemampuan untuk mendenaturasi protein dan merusak

membran sel<sup>15</sup>.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan maka dapat diambil kesimpulan:

1. Jus buah anggur merah (*Vitis venifera*) yang diisolasi dengan kecepatan sentrifugasi 12.000 rpm mempunyai efek antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* secara in vitro
2. Kadar Hambat Minimum (KHM) jus buah anggur merah (*Vitis vinifera*) yang diisolasi dengan kecepatan sentrifugasi 12.000 rpm terhadap *Streptococcus mutans* adalah pada konsentrasi 60% sedangkan Kadar Bunuh Minimum (KBM) jus buah anggur merah (*Vitis venifera*) yang diisolasi dengan kecepatan sentrifugasi 12.000rpm terhadap *Streptococcus mutans* adalah pada konsentrasi 80%.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Loesche WJ. Chemotherapy of dental plaque infections. *Oral Sci Rev.* 2012; 9:65–107.
2. WHO. The World Oral Health Report 2003; Continous improvement or Oral Health 21th century – the approach of the WHO Global Oral Helath Programme. *Oral Health Programme & Departement for Noncommunicable Disease Prevention and Health Promotion.* Geneva.2003; P. 4
3. Depkes RI. Laporan Nasional 2007: Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) 2007. Badan Penelitian dan pengembangan Depkes RI. Jakarta. 2008. Hal. 142-144
4. Kidd and Smith. *Pickard's of manual operative Dentistry* 8ed. Oxford. Oxford University Press. 2003.
5. Kalembe, D. and Kunicka, A. Antibacterial an Antifungal Properties of Essential Oils. *Current Medicinal Chemistry* 10. 2003.
6. Rikasari. Antibakteri jus buah anggur varietas Probolinggo biru terhdap *S.mutans*. Jakarta. digilib ui. 2007.
7. Puspitasari. Uji Efektivitas Ekstrak Ethanol Biji Buah Anggur (*Vitis vinifera*) sebagai Antibakteri Terhadap *Streptococcus mutans*. Tugas Akhir. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. 2008.
8. Kim. T, Silva. J.L, Jung Y.S. Antibacterial activity of fresh and processed red muscadine juice and the role of their polar compounds o *escheria coli*. Mississippi. *Jounal Cmpilation.* 2008.
9. Sakagam, Hiroshi. Asano Kazuhito. Satoh, kazue. Anti-stress, Anti HIV and Viamin C-synergized Radical Scavenging Activity of Mulberry Juice Fraction. Tokyo. *In vivo.* 2007.
10. Dzen, SM., Roekistningsih, Sanarto, S., Winarsih, S. *Bakteriologi Medik.* Malang: Bayumedia Publishing. 2003.
11. Purwoko, Tjahjadi. 2007. *Fisiologi Mikroba.* Bumi Aksara. Jakarta.
12. Rikasari. 2007. Antibakteri jus buah anggur varietas Probolinggo biru terhdap *S.mutans*. Jakarta. digilib ui.
13. Rhodes, P.L. antimicrobial factor from Grapes. University of Auckland. <http://researchspace.auckland.ac.nz/bitstream/2292/335/8/01front.pdf> Action. 2004.