

## THE EFFECTIVENESS OF *PHALERIA MACROCARPA'S* LEAF NANOEMULSION GEL ON *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* BIOFILM THICKNESS (IN VITRO)

Rosa Pratiwi\*, Irma Dewi Ratnawati<sup>†</sup>, Feny Nursyaputri<sup>\*\*</sup>, Recita Indraswary<sup>\*\*\*</sup>

\* Department of Periodontology Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Islam Sultan Agung

\*\* Undergraduate student. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Islam Sultan Agung

\*\*\* Department of Oral Biology Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Islam Sultan Agung

Correspondence: [rosapратиwi@unissula.ac.id](mailto:rosapратиwi@unissula.ac.id)

### Keywords:

Biofilm; *Phaleria macrocarpa's* leaf; Nanoemulsion gel; Optical density; *Staphylococcus aureus*.

### ABSTRACT

**Background:** Periodontal disease often occurs in the oral cavity with 75.6-78.3% at the age of 35-44 years. One of the causes of periodontal disease is the accumulation of *Staphylococcus aureus* biofilm in the early colonization of the formation of the dental pellicle. *Phaleria macrocarpa*, also known as Gods Crown, is a traditional plant with antibacterial properties that can be used in the health sector. Nanoemulsion gel technology has the advantage of increasing the stability of the material. Aim the study to determine the ratio of the effectiveness of *Phaleria macrocarpa's* leaf nanoemulsion gel 10%, 20%, 30% to decrease *Staphylococcus aureus* biofilm thickness.

**Method:** This research method was in vitro experimental laboratory research using a post-test control design. Thirty samples were divided into five groups: *Phaleria macrocarpa's* leaf nanoemulsion gel 10%, 20%, 30%, positive control using chlorhexidine gluconate 0.2% and negative control using aqua dest. Samples were incubated for 4 and 8 hours. Optical density readings were carried out to see the biofilm thickness after being given a Gods Crown leaves nanoemulsion gel

**Results:** The mean of *Phaleria macrocarpa's* leaf nanoemulsion gel, 30%, produced the lowest average optical density value. The incubation time of 4 hours resulted in a lower optical density value than 8 hours. The Kruskal-Wallis was  $p > 0.05$  showed there was no difference in biofilm thickness in each group.

**Conclusion:** the effectiveness of the nanoemulsion group of Dewa crown leaf gel with a concentration of 30% was better than the 0.2% chlorhexidine gluconate gel and sterile distilled water group.

### PENDAHULUAN

Penyakit periodontal banyak terjadi pada rentang usia 35-44 tahun sebesar 75,6-78,3% menurut data Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) tahun 2018<sup>1</sup>. Penyakit periodontal yang sering dijumpai adalah gingivitis dan periodontitis<sup>2</sup>. Gingivitis digambarkan dengan gingiva berwarna merah kebiruan yang mengalami pembesaran karena edema, serta sering ditandai dengan mudah berdarah jika terdapat stimulasi seperti

menyikat gigi<sup>3,4</sup>. Gingivitis yang tidak segera ditangani akan berlanjut menjadi periodontitis<sup>5</sup>. Periodontitis merupakan peradangan pada jaringan pendukung gigi yang disebabkan mikroorganisme yang akan menyebabkan destruksi tulang alveolar dan ligamen periodontal. Penyakit periodontal dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti faktor lokal, sistemik, dan lingkungan<sup>3</sup>.

Salah satu faktor lokal terjadinya penyakit periodontal yaitu akumulasi plak<sup>6</sup>. Terdapat interaksi akumulasi bakteri plak pada permukaan gigi dengan sel imun tubuh yang sering ditemukan pada keadaan kebersihan rongga mulut yang buruk<sup>7,8</sup>. Plak merupakan kesatuan lapisan tipis protein biofilm dari saliva yang bersifat lunak dan transparan dengan hasil agregasi mikroorganisme yang saling melekat pada permukaan gigi<sup>9,10</sup>.

Tahapan pembentukan plak terdapat tiga tahapan, yaitu kolonisasi awal dengan pembentukan dental pelikel, kolonisasi sekunder, dan maturasi plak. Kolonisasi awal plak diawali dengan terbentuknya lapisan tipis yang merupakan kontaminasi selapis biofilm dari saliva (glikoprotein) pada permukaan jaringan dengan flora normal rongga mulut, serta debris makanan yang melekat pada permukaan gigi yang disebut pelikel<sup>7</sup>. Kolonisasi sekunder ditandai dengan terjadinya penurunan jumlah bakteri gram positif aerob dan meningkatnya jumlah bakteri gram negatif anaerob<sup>8</sup>. Tahap maturasi plak yaitu proses metabolisme bakteri secara terus menerus dengan bertambah banyaknya jumlah koloni bakteri dari sesil menjadi bentuk motil<sup>5,10</sup>. Apabila proses ini terjadi secara terus menerus pada kurun waktu yang cukup lama dengan kebersihan rongga mulut yang buruk disertai respon imun yang tidak adekuat menyebabkan terjadinya proses inflamasi pada jaringan pendukung gigi dan mengalami kerusakan<sup>11</sup>.

Salah satu bakteri penyebab plak yaitu *Staphylococcus aureus*<sup>10</sup>. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri flora normal di dalam rongga mulut gram positif yang berbentuk bulat membentuk koloni secara tidak teratur seperti buah anggur<sup>12</sup>. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri fakultatif anaerob yang tidak bergerak dan tidak membentuk

spora, serta dapat tumbuh dan berkembang secara optimum pada suhu 37°C<sup>13</sup>. *Staphylococcus aureus* mempunyai selaput polisakarida yang berperan sebagai virulensi bakteri yang menimbulkan penyakit berspektum luas. *Staphylococcus aureus* dapat melakukan pembelahan sel secara cepat dan menyebar luas ke jaringan serta memproduksi bahan ekstraseluler yang mengakibatkan infeksi pada manusia. Infeksi lokal ditandai dengan nyeri, reaksi inflamasi kuat dan terlokalisir<sup>14</sup>.

Pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* penyebab plak perlu dilakukan pengendalian dengan memanfaatkan tanaman herbal yang memiliki kandungan senyawa antibakteri dalam bentuk sediaan nanoemulsi gel daun mahkota dewa<sup>15,16</sup>. Kandungan senyawa antibakteri pada daun mahkota dewa yaitu flavonoid, tanin, alkaloid, triterpenoid, saponin, dan polifenol<sup>17</sup>. Kandungan tersebut terbukti dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan bakteri *Staphylococcus aureus* dalam proses pembentukan plak<sup>18</sup>. Kandungan dalam daun mahkota dewa seperti flavonoid akan mengganggu aktivitas permeabilitas dinding bakteri yang akan menyebabkan bakteri lisis, tanin berperan mengikat protein dalam pembentukan dinding sel bakteri, alkaloid berperan mengganggu penyusunan peptidoglikan sel bakteri yang mengakibatkan dinding sel bakteri tidak terbentuk sempurna, dan saponin berperan dalam mengganggu permeabilitas dinding sel bakteri dengan cara merusak membrane sitoplasma<sup>17,19</sup>.

Penelitian-penelitian yang sudah ada didapatkan bukti bahwa daun mahkota dewa lebih efektif dalam menghambat bakteri gram positif, seperti *Staphylococcus aureus* dibandingkan dengan bakteri gram negatif. Hal ini disebabkan dari komponen penyusun

membran sel bakteri gram positif dan bakteri gram negatif yang berbeda. Membran sel bakteri gram positif terdiri atas peptidoglikan sebanyak 50% dan tidak mengandung *lipopolysaccharides*, sedangkan bakteri gram negatif terdiri dari peptidoglikan sebanyak 2-10% dan *lipopolysaccharides*<sup>20</sup>.

Kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi seiring berkembangnya zaman memperkenalkan tentang stabilisasi sistem terdispersi dan produksi dalam bentuk nanoemulsi gel. Nanoemulsi gel secara efektif digunakan untuk meningkatkan stabilitas bahan aktif dan ketersediaan hayati<sup>21</sup>. Nanoemulsi gel merupakan penghantar bersifat hidrofobik yang berukuran droplet 1-100 nm yang terdiri dari sistem dispersi koloid yang dicampurkan dengan basis gel<sup>22,23</sup>.

Selain bahan herbal masih banyak dokter gigi menggunakan bahan kimia untuk upaya pengendalian plak yaitu *chlorhexidine gluconate 0,2% gel*<sup>24</sup>. Penggunaan *chlorhexidine* dalam jangka panjang akan menimbulkan efek samping yaitu perubahan rasa kecap, iritasi mukosa, *staining*, keseimbangan flora normal rongga mulut terganggu, dan *xerostomia*<sup>25</sup>. *Chlorhexidine* merupakan bahan yang sering digunakan sebagai antibakteri kelompok kontrol positif dalam penelitian. *Chlorhexidine* yaitu zat antimikroba berspektrum luas yang merupakan salah satu *gold standard* untuk mencegah terbentuknya plak dengan cara menghambat proses pertumbuhan dan perkembangan plak sehingga mencegah terjadinya penyakit periodontal<sup>26</sup>.

Berdasarkan penjelasan tersebut penulis ingin melakukan penelitian untuk mengetahui efektivitas nanoemulsi gel daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap

ketebalan biofilm bakteri *Staphylococcus aureus (In Vitro)*.

## METODE

Penelitian ini telah mendapat ijin dari Komite Tim Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Islam Sultan Agung dengan nomor 236/B.1-KEPK/SA-FKG/2020. Jenis penelitian adalah penelitian eksperimental laboratorium secara *in vitro* dengan desain *true experimental post test only control group*.

Sampel berjumlah 30 buah yang terbagi dalam 10 kelompok. Kelompok nanoemulsi gel daun mahkota dewa dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, *chlorhexidine gluconate 0,2% gel*, dan *aquades steril* yang tiap kelompok dibagi menjadi waktu inkubasi biofilm 4 jam dan 8 jam dengan masing-masing dilakukan 3 kali pengulangan.

Penelitian dilakukan dengan pengumpulan saliva oleh satu orang responden agar saliva yang digunakan sebagai sampel homogen. Pengumpulan saliva dengan metode *spitting out*. Metode *spitting out* adalah pengambilan saliva yang dilakukan dengan cara mengumpulkan saliva di dasar mulut selama 5 menit, kemudian dimasukkan ke dalam gelas ukur. Responden mengunyah permen karet xylitol selama 5 menit untuk menstimulus saliva agar laju saliva yang didapatkan banyak.

Kriteria responden yaitu kesehatan umum baik, tidak memiliki riwayat penyakit sistemik, penyakit tiroid, dan tidak sedang mengonsumsi antibiotik dan memiliki surat keterangan uji tes PCR dengan **hasil negatif**.

Ekstrak daun mahkota dewa dibuat menggunakan metode maserasi. Sebanyak 250 gram daun mahkota dewa yang telah

dibersihkan menggunakan air mengalir dipotong kecil-kecil kemudian dikeringkan. Daun mahkota dewa yang telah kering dihaluskan menggunakan *blender*. Selanjutnya merendam 250 gram serbuk daun mahkota dewa dalam 1000 ml pada larutan etanol 96% sampai seluruhnya terendam selama 24 jam dengan bantuan *shanker*. Ekstrak disaring untuk memisahkan ampas dan filtratnya. Selanjutnya filtrat dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C untuk menguapkan semua etanol sehingga didapatkan ekstrak kental daun mahkota dewa.

Ekstrak yang sudah siap selanjutnya dilakukan pembuatan nanoemulsi ekstrak daun mahkota dewa dengan cara menyampurkan ekstrak daun mahkota dewa dengan 3,6 gram Tween 80 dengan 100 gram *aquades* sampai homogen menggunakan alat *homogenizer* dengan kecepatan 1000 rpm selama 30 menit. Larutkan 0,1 gram metil paraben dan 0,02 gram propil paraben ke dalam 10 gram propilen glikol beserta *palm oil* kemudian ditambahkan ke dalam campuran bahan sebelumnya dan dihomogenkan kembali menggunakan *over stirrer*. Kemudian satukan fase minyak dan air hingga homogen menggunakan *over stirrer* dengan kecepatan 1000 rpm selama 1 jam.

Pembuatan basis gel diawali dengan mencampurkan HMPC 4000 dengan *aquades* hingga terdispersi seluruhnya dan homogen di dalam mortir. Diamkan campuran tersebut selama 1 jam sampai terbentuk massa gel. Setelah terbentuk massa gel dilakukan penambahan 0,1 gram metil paraben, 2 gram

## HASIL

Berdasarkan hasil pembacaan nilai *optical density* biofilm *Staphylococcus aureus* (Tabel 1) didapatkan nilai rerata paling rendah yaitu kelompok nanoemulsi gel daun mahkota

propil paraben dan 2 gram gliserin kemudian diaduk hingga homogen. Kemudian campurkan basis gel dengan seluruh formulasi nanoemulsi gel daun mahkota dewa dalam suhu ruangan menggunakan alat *homogenizer* dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit.

Dilakukan pembiakan murni bakteri *Staphylococcus aureus* yang akan digunakan dalam penelitian tersebut. Bakteri *Staphylococcus aureus* diinokulasi terlebih dahulu dalam media nutrien agar. Bakteri yang sudah diinokulasi kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah itu, dilakukan uji ketebalan biofilm dengan metode *microtiter plate biofilm assay* menggunakan media *well-plate* steril yang sudah dilapisi saliva kemudian diinkubasi pada suhu ruangan dengan waktu 4 jam dan 8 jam. Selanjutnya dibilas dengan *Phosphate Buffer Saline* (PBS) kemudian diberi bakteri *Staphylococcus aureus* dan pengaplikasian nanoemulsi gel daun mahkota dewa dengan berbagai konsentrasi (10%, 20%, 30%), diberikan *chlorhexidine gluconate* 0,2% gel sebagai kontrol positif dan *aquades steril* sebagai kontrol negatif yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Setelah diinkubasi dilakukan pencucian dengan PBS dan *aquades steril* serta pewarnaan menggunakan *crystal violet* 1% kemudian dilakukan pencucian kembali menggunakan *aquades steril* dibiarkan sampai kering dan ditambahkan etanol 96% diinkubasi selama 15 menit dalam suhu ruangan. Kemudian dilakukan analisa hasil sampel dengan metode *ELISA-reader*.

dewa konsentrasi 30% dalam waktu inkubasi saliva 4 jam yang artinya memiliki kemampuan keefektifan paling tinggi dalam menghambat ketebalan biofilm bakteri *Staphylococcus aureus*.

Berdasarkan data hasil yang didapatkan kemudian dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas (Tabel 2). Uji normalitas dilakukan dengan menggunakan metode *Saphiro-Wilk* dengan hasil nilai beberapa kelompok seperti kelompok konsentrasi 10% dalam 8 jam, kelompok konsentrasi 20% dalam 4 jam, dan kelompok konsentrasi 30% dalam 4 jam merupakan data terdistribusi tidak normal ( $p < 0,05$ ). Uji homogenitas dengan Uji *Levene*

didapatkan semua nilai yaitu  $p < 0,05$  yang berarti semua data tidak homogen.

Berdasarkan hasil data yang didapatkan menunjukkan data terdistribusi tidak normal dan tidak homogen, sehingga dilakukan uji nonparametrik yaitu *Kruskal-Wallis* didapatkan nilai  $p = 0,088$  sehingga nilai  $p > 0,05$  yang berarti tidak terdapat perbedaan signifikan pada ketebalan biofilm masing-masing kelompok (Tabel 3).

**Tabel 1.** Nilai rerata *optical density*

Kelompok	Sampel			Rerata
	1	2	3	
Nanoemulsi gel konsentrasi 10% 4 jam	3,132	2,068	1,619	2,273
Nanoemulsi gel konsentrasi 10% 8 jam	3,269	3,264	2,355	2,963
Nanoemulsi gel konsentrasi 20% 4 jam	2,610	1,785	1,767	2,054
Nanoemulsi gel konsentrasi 20% 8 jam	3,161	3,100	2,402	2,888
Nanoemulsi gel konsentrasi 30% 4 jam	2,256	2,243	1,372	1,957
Nanoemulsi gel konsentrasi 30% 8 jam	2,990	2,758	2,028	2,592
Kontrol + 4 jam	2,518	2,437	2,288	2,414
Kontrol + 8 jam	3,356	3,346	3,296	3,333
Kontrol – 4 jam	3,073	2,966	2,857	2,965
Kontrol – 8 jam	3,284	3,221	3,173	3,226

**Tabel 2.** Uji Normalitas dan Uji Homogenitas

Kelompok	N	Saphiro-Wilk	Levene
		Sig.	Sig.
Konsentrasi 10% (dalam 4 jam)	3	,560	
Konsentrasi 10% (dalam 8 jam)	3	,009	
Konsentrasi 20% (dalam 4 jam)	3	,036	
Konsentrasi 20% (dalam 8 jam)	3	,138	
Konsentrasi 30% (dalam 4 jam)	3	,025	
Konsentrasi 30% (dalam 8 jam)	3	,445	
Kontrol Positif (dalam 4 jam)	3	,677	,030
Kontrol Positif (dalam 8 jam)	3	,298	

Kontrol Negatif (dalam 4 jam)	3	,990
Kontrol Negatif (dalam 8 jam)	3	,851

**Tabel 3.** Nilai rerata standar deviasi dan uji Kruskal-Wallis

Kelompok	N	Mean	Std. Dev	Kruskal-Wallis (Sig.)
Konsentrasi 10% (dalam 4 jam)	3	2,273	,777	,088
Konsentrasi 10% (dalam 8 jam)	3	2,963	,526	
Konsentrasi 20% (dalam 4 jam)	3	2,054	,482	
Konsentrasi 20% (dalam 8 jam)	3	2,888	,422	
Konsentrasi 30% (dalam 4 jam)	3	1,957	,507	
Konsentrasi 30% (dalam 8 jam)	3	2,592	,502	
Kontrol Positif (dalam 4 jam)	3	2,414	,117	
Kontrol Positif (dalam 8 jam)	3	3,333	,032	
Kontrol Negatif (dalam 4 jam)	3	2,965	,108	
Kontrol Negatif (dalam 8 jam)	3	3,226	,056	

## DISKUSI

Penggunaan herbal sebagai agen terapeutik meningkat pesat beberapa tahun terakhir ini. Salah satu herbal yang sering digunakan adalah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*). Tanaman ini dapat dimanfaatkan baik buah maupun daunnya. Penelitian-penelitian yang dilakukan sebelumnya menunjukkan bahwa tanaman ini dapat bermanfaat sebagai anti bakteri, anti inflamasi, antioksidan dan bahan sebagai anti kanker. Hasil uji toksisitas menunjukkan bahwa ekstrak daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) relatif aman. Efek samping penggunaan mahkota dewa sebagai agen terapeutik lokal hampir tidak ditemukan. Penelitian lain ada yang menyebut bawa ekstrak mahkota dewa dapat menyebabkan peningkatan hormon testosterone, karena kandungan saponinnya.

Hasil nilai *optical density* pada penelitian mengenai efektivitas nanoemulsi gel daun mahkota dewa terhadap ketebalan biofilm *Staphylococcus aureus* yang terbentuk pada kelompok nanoemulsi gel daun mahkota dewa dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, kelompok kontrol positif (*chlorhexidin gluconate* 0,2% gel), dan kelompok kontrol negatif (*aquades steril*) menunjukkan bahwa nanoemulsi gel daun mahkota dewa konsentrasi 30% dalam waktu inkubasi 4 jam memiliki efek antibakteri terbesar dalam menghambat ketebalan biofilm bakteri *Staphylococcus aureus*.

Nilai rerata *optical density* menunjukkan ketebalan biofilm bakteri *Staphylococcus aureus*. Semakin rendah nilai rerata *optical density* yang diperoleh mengartikan bahwa pada kelompok perlakuan tersebut paling optimal dalam menurunkan ketebalan biofilm bakteri *Staphylococcus aureus*. Sedangkan semakin tinggi nilai rerata *optical density* yang diperoleh pada kelompok perlakuan mengartikan bahwa biofilm bakteri *Staphylococcus aureus* yang terbentuk semakin tebal.

Hasil rerata nilai *optical density* penelitian didapatkan pengurangan warna biru pada media *well-plate* setiap kenaikan konsentrasi formulasi nanoemulsi gel daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*). Penelitian mengenai nanoemulsi gel daun mahkota dewa konsentrasi 30% memiliki insensitas warna yang lebih terang dibandingkan kelompok penelitian konsentrasi 10% dan 20%. Disimpulkan bahwa kelompok penelitian nanoemulsi gel daun mahkota dewa konsentrasi 30% mempunyai daya antibakteri yang terbesar dari kelompok penelitian konsentrasi yang lain<sup>14</sup>.

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa ekstrak daun mahkota dewa konsentrasi 10% sudah efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Pada penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi yang diberikan maka akan semakin besar zona hambat yang terbentuk pada bakteri *Staphylococcus aureus*<sup>17</sup>.

Penelitian sebelumnya mengenai ekstrak daun mahkota dewa efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Eschericia coli*, *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans*, dan *Treponema denticola*, serta *multispecies* biofilm. Disimpulkan bahwa daun mahkota dewa mempunyai komponen antimikroba yang mempunyai kemampuan berupa zona hambat yang luas<sup>20</sup>.

Ekstrak daun mahkota dewa dengan konsentrasi yang tinggi mempunyai efisiensi yang besar dalam menghambat pertumbuhan bakteri pembentukan biofilm. Penelitian sebelumnya diketahui menggunakan bentuk formulasi ekstrak, tetapi pada penelitian ini menggunakan bentuk formulasi nanoemulsi gel. Formulasi nanoemulsi gel berupa partikel kecil yang berukuran 1-100 nm yang efektif untuk meningkatkan stabilitas bahan aktif dan mudah dalam pengaplikasian<sup>22</sup>.

Hasil penelitian pada perbedaan fase inkubasi saliva selama 4 jam dan 8 jam didapatkan hasil nilai *optical density* pada waktu inkubasi 4 jam lebih rendah dibandingkan waktu inkubasi 8 jam pada semua kelompok percobaan. Hal ini disebabkan karena pada inkubasi saliva 4 jam biofilm bakteri *Staphylococcus aureus* masih tahap kolonisasi awal yang mudah dihambat dengan senyawa bioaktif antibakteri dari formulasi nanoemulsi gel daun mahkota dewa. Sedangkan inkubasi saliva selama 8 jam didapatkan hasil nilai OD lebih tinggi daripada inkubasi selama 4 jam karena pembentukan biofilm bakteri *Staphylococcus aureus* sudah melewati tahap maturasi plak sehingga daya hambat senyawa antibakteri kurang berpenetrasi ke dalam matriks biofilm. Bentuk pertahanan diri bakteri pada biofilm fase inkubasi 8 jam dengan membentuk *extracellular polymeric substances* (EPS)<sup>14,27,28</sup>.

Penelitian ini membandingkan efek antibakteri nanoemulsi gel daun mahkota dewa dengan *chlorhexidine gluconate* 0,2% gel dan *aquades* pada biofilm bakteri *Staphylococcus aureus* yang dilihat dari hasil nilai rata-rata *optical density*. *Chlorhexidine gluconate* 0,2% gel yaitu zat antimikroba berspektum luas yang merupakan salah satu *gold standard* untuk pencegahan plak dalam bidang kedokteran gigi.

Pada perlakuan kelompok nanoemulsi gel daun mahkota dewa konsentrasi 10%, 20%, dan 30% dengan masing-masing inkubasi 4 jam dan 8 jam mempunyai nilai rerata *optical density* lebih rendah yaitu 2,273; 2,963; 2,054; 2,888; 1,957 dan 2,592 dibandingkan perlakuan kelompok kontrol positif dengan *chlorhexidine gluconate* 0,2% gel dan *aquades* dengan masing-masing inkubasi 4 jam dan 8 jam yaitu 2,414; 3,333; 2,965 dan 3,226. Berdasarkan hasil yang didapatkan disimpulkan bahwa nanoemulsi gel daun mahkota dewa lebih

efektif daripada *chlorhexidine gluconate* 0,2% gel dan *aquades*

Pada daun mahkota dewa memiliki kandungan senyawa antibakteri yaitu flavonoid, tanin, alkaloid, triterpenoid, saponin, dan polifenol<sup>17,29</sup>. Flavonoid, tanin, alkaloid, dan saponin merupakan zat antibakteri dalam daun mahkota dewa yang dapat mengikat protein dalam pembentukan dinding sel bakteri, mengganggu penyusunan peptidoglikan sel bakteri, merusak membran sitoplasma yang menyebabkan permeabilitas dinding bakteri terganggu sehingga dinding sel bakteri tidak terbentuk sempurna dan bakteri lisis<sup>12,19,20</sup>.

*Chlorhexidine* memiliki efek bakteriostatik dan efek bakterisidal terhadap semua jenis mikroba baik bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. *Chlorhexidine* mempunyai efek aktivitas yang tinggi pada bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus*)<sup>24</sup>. Mekanisme kerja *chlorhexidine* efektif dalam menghambat maupun membunuh pertumbuhan bakteri gram positif dan bakteri gram negatif karena *chlorhexidine* mempunyai molekul muatan positif (kation) dan bakteri sebagian besar bermolekul muatan negatif (anion)<sup>25</sup>. Hal ini menyebabkan terjadinya perlekatan yang kuat antara *chlorhexidine* dengan membran sel bakteri, sehingga terjadi perubahan permeabilitas lingkungan membran sitoplasma pada bakteri menyebabkan keluarnya senyawa intraseluler. Sel bakteri akan mengalami kerusakan sehingga *chlorhexidine* dapat dengan mudah berpenetrasi pada seluruh permukaan plak dan menghasilkan proliferasi organisme baru, serta menyebabkan terjadinya ostolisis<sup>26</sup>. *Chlorhexidine* adalah obat yang memiliki toksisitas rendah dan indeks terapeutik tinggi<sup>25</sup>.

Penggunaan *chlorhexidine* dalam kurun waktu yang lama akan menimbulkan efek samping, seperti perubahan rasa kecap, iritasi mukosa, mulut



kering, keseimbangan flora normal rongga mulut terganggu, dan perubahan warna pada gigi, lidah serta bahan tambal resin komposit<sup>30,31</sup>. Efek samping penggunaan *chlorhexidine* dapat diminimalis dengan tanaman tradisional seperti daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) yang efek sampingnya lebih minimal<sup>16</sup>.

Berdasarkan hasil uji nonparametrik *Kruskal-Wallis* didapatkan nilai  $p=0,088$  sehingga nilai  $p>0.05$  yang berarti tidak terdapat perbedaan yang signifikan ketebalan biofilm pada masing-masing kelompok nanoemulsi gel daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*). Hal ini mungkin terjadi akibat kondisi lingkungan yang tidak mendukung seperti kondisi iklim, suhu, hama, dan penyakit tanaman. Kondisi lingkungan ini mempengaruhi nutrisi tanaman untuk tumbuh kembang sehingga kualitas kandungan antibakteri tanaman kurang mampu signifikan khasiatnya<sup>32</sup>.

Faktor lain yang mempengaruhi juga berdasarkan kualitas dari nanoemulsi gel daun mahkota dewa. Kualitas dari nanoemulsi dipengaruhi berdasarkan perbandingan ekstrak dan emulsi gel yang berpengaruh pada viskositas nanoemulsi gel, tempat penyimpanan dan lama penyimpanan. Beberapa hal yang mempengaruhi zona hambat yaitu metode uji, media kultur, dan kecepatan difusi zat bakteri<sup>33</sup>.

Keterbatasan penelitian yang telah dilaksanakan ini yaitu tidak munculnya nilai *optical density* hasil pembacaan karena terlalu pekatnya warna sampel penelitian akibat *crystal violet*. Cara mengatasi supaya hasil nilai *optical density* dapat muncul dengan cara melakukan pembilasan ulang. Penelitian yang dilakukan pada masa pandemi ini kurang intens karena protokol kesehatan yang mengharuskan menjaga jarak tetapi hal ini dapat kita atasi sehingga komunikasi masih berjalan dengan baik. Waktu penelitian yang lebih lama

dikarenakan jumlah antrian penelitian banyak yang menyita waktu.

## KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian mengenai efektivitas nanoemulsi gel daun mahkota dewa terhadap ketebalan biofilm bakteri *Staphylococcus aureus* (*in vitro*) dapat disimpulkan bahwa efektivitas pada kelompok nanoemulsi gel daun mahkota dewa dengan konsentrasi 30% lebih baik apabila dibandingkan kelompok *chlorhexidine gluconate* 0,2% gel dan *aquades* steril.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih kami sampaikan Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA) Semarang atas dukungan yang telah diberikan.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2018. Laporan Nasional Riset Kesehatan Dasar 2018. 1–582.
2. Tyas, W. E., Susanto, H. S., Adi, M. S., Udiyono, A. 2016. Gambaran Kejadian Penyakit Periodontal pada Usia Dewasa Muda (15-30 Tahun) Di Puskesmas Srandol Kota Semarang. 4(4). 510–513.
3. Kinane, D. F. 2019. Causation and Pathogenesis of Periodontal Disease. 25(February 2001). 8–20. doi: 10.1034/j.1600-0757.2001.22250102.x.
4. Tonetti, M. S., Jepsen, S., Jin L., Corgel, J.O. 2017. Impact of The Global Burden of Periodontal Diseases On Health, Nutrition and Wellbeing of Mankind: A Call for Global Action. *Journal of Clinical Periodontology*. 44(5). 1–7. doi: 10.1111/jcpe.12732.
5. Lamster, I. B. and Pagan, M. 2017. Periodontal Disease and The Metabolic Syndrome. *International Dental Journal*. 67(2). 67–77. doi: 10.1111/idj.12264.
6. Newman, M. Takei, H., Klokkevold, P. Carranza, F. 2019. *Clinical Periodontology Thirteen Edition*. 13th edn. Philadelphia: Elsevier.
7. Homenta, H. 2016. Infeksi Biofilm Bakterial. *Jurnal e-Biomedik*. 4(1). 1–11. doi: 10.35790/ebm.4.1.2016.11736.
8. Lesouhaitier, O. et al. 2019. Host Peptidic Hormones Affecting Bacterial Biofilm Formation and Virulence. *Journal of Innate Immunity*. 11. 227–241. doi:

- 10.1159/000493926.
9. Lindhe, J. and Lang, N. P. 2015. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry Sixth Edition. Journal of Chemical Information and Modeling*. doi: 10.1017/CBO9781107415324.004.
  10. Jamal, M., Tasneem, U. Hussain, T., Andleeb, S. 2015. Bacterial Biofilm: Its Composition, Formation and Role in Human Infections. *Research & Reviews: Journal of Microbiology and Biotechnology*. 4(3). 1–14.
  11. Papapanou, P. N. *et al.* 2018. Periodontitis: Consensus Report of Workgroup 2 of The 2017 World Workshop on The Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of periodontology*. 89(Suppl 1). S173–S182. doi: 10.1002/JPER.17-0721.
  12. Astriyani, W., Surjowardojo, P., Susilorini, T. E. 2017. Daya Hambat Ekstrak Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* L.) dengan Pelarut Ethanol dan Aquades terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Penyebab Mastitis pada Sapi Perah. *Journal of Tropical Animal Production*. 18(2). 8–13. doi: 10.21776/ub.jtapro.2017.018.02.2.
  13. Ma'ruf, M. T., Setiawan, S., Putra, B. P. D. 2017. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) Terhadap *Staphylococcus aureus*. 13(2).16–23. doi.org/10.46862/interdental.v13i2.360
  14. Otto, M. 2018. Staphylococcal Biofilms. *Journal Microbiology Spectrum*. 6(4). 3–23. doi: 10.1128/microbiolspec.gpp3-0023-2018.
  15. Chellapa, P. *et al.* 2015. Nanoemulsion and Nanoemulgel As A Topical Formulation. *IOSR Journal of Pharmacy*. 5(10). 43–47.
  16. Fajri, N., Ayuzar, E. and Ezraneti, R. 2016. Efektivitas Serbuk Daun Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap Bakteri *Edwardsiella tarda*. *Acta Aquatica Aquatic Sciences Journal*. 3(1). 23–25. doi: 10.29103/aa.v1i1.299.
  17. Hestiyani, R. A. N. and Handini, T. O. 2019. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Mahkota Dewa Terhadap Bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Prosiding Seminar Nasional dan Call for Papers*. 3(November). 184–190.
  18. Novaryatiin, S., Chusna, N. and Amelia, D. 2018. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* Boerl.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Surya Medika*. 4(1). 28–35. doi: 10.33084/jsm.v4i1.153.
  19. Afnizar, M., Mahdi, N. and Zuraidah. 2016. Uji Aktivitas Anti Bakteri Ekstrak Daun Mahkota Dewa *Phaleria macrocarpa* Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Prosiding Seminar Nasional Biotik 2016*. 293–300.
  20. Radita, D. C. and Widyarman, A. S. 2019. Mahkota Dewa (God's Crown) Fruit Extract Inhibits The Formation of Periodontal Pathogen Biofilms In Vitro. *Journal of Indonesian Dental Association*. 2(2). 57–62. doi: 10.32793/jida.v2i2.404.
  21. Eid, A. M., El-Enshasy, H. A., Aziz, R., Elmarzugi, N. A. 2014. Preparation, Characterization and Anti-Inflammatory Activity of *Swietenia macrophylla* Nanoemulgel. *Journal of Nanomedicine and Nanotechnology*. 5(2). 1–10. doi: 10.4172/2157-7439.1000190.
  22. Sharma, A. *et al.* 2016. Nanogel - An Advanced Drug Delivery Tool: Current and Future. *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology*. 44(1). 165–177. doi: 10.3109/21691401.2014.930745.
  23. Imanto, T., Prasetiawan, R., Wikantyasning, E. R. 2019. Formulasi dan Karakterisasi Sediaan Nanoemulgel Serbuk Lidah Buaya (*Aloe Vera* L.)', *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*. 16(1). 28–37. doi: 10.23917/pharmacon.v16i1.8114.
  24. Kusuma Yosi, Komang J. Putra Pinatih, Hendrayana M. A. 2019. Efek Sinergis Kombinasi Chlorhexidine dan Alkohol terhadap Daya Hambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *E-Jurnal Medika Udayana*. 8(3). 139–146. Available at: <https://ojs.unud.ac.id/index.php/eum/article/view/48937>
  25. Rondhianto, Wantiyah, and Putra, F. M. 2016. Penggunaan Chlorhexidine 0,2% dengan Povidone Iodine 1% Dekontaminasi Mulut terhadap Dekontaminasi Mulut Terhadap Kolonisasi *Staphylococcus aureus* pada Pasien Pasca Operasi Anastesi Umum. *NurseLine*. 1(1). 176–183. Available at: <http://publications.lib.chalmers.se/records/fulltext/245180/245180.pdf%0Ahttps://hdl.handle.net/20.500.12380/245180%0Ahttp://dx.doi.org/10.1016/j.jsames.2011.03.003%0Ahttps://doi.org/10.1016/j.gr.2017.08.001%0Ahttp://dx.doi.org/10.1016/j.precamres.2014.12.0>.
  26. Panesa, M. R., Saputera, D. and Budiarti, L. Y. 2018. Efektivitas Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Kersen Dibandingkan Klorheksidin Glukonat 0,2% Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kedokteran Gigi DENTIN*. 2(1). 79–84.
  27. Maryati, M., Wijaya, C. H., Adawiyah, D. R.

- and Bachtiar, B. M. 2017. Potensi Hambat Permen Lunak Sirih dan Pinang terhadap Pembentukan Biofilm Streptococcus mutans. *Journal Teknologi dan Industri Pangan*. 28(2). 150–158. <https://doi.org/10.6066/jtip.2017.28.2.150>
28. Nugrahani, N., Kunarti, S. and Setyowati, L. 2016. Konsentrasi Efektif Daya Antibiofilm Kitosan Cangkang Udang Terhadap Streptococcus viridans. *Conservative Dentistry Jurnal*. 6(2). 47–51. <http://dx.doi.org/10.20473/cdj.v6i2.2016.105-109>
29. Faried, A. *et al.* 2016. Potential of Indonesian Herbal Medicine, Phaleria macrocarpa (Scheff.) Boerl, for Targeting Multiple Malignancy Signaling Pathways: An Introductory Overview. *European Journal of Medicinal Plants*. 11(2). 1–17. doi: 10.9734/ejmp/2016/20760.
30. Kholisa, Purwanto and Hernawati, S. 2018. Potensi Ekstrak Buah Delima Merah (Punica granatum Linn) terhadap Penurunan Jumlah Koloni Streptococcus mutans (The Potential of Red Pomegranate Fruit Extract (Punica granatum Linn) on The Reduction Number of Streptococcus mutans colony). *e-JPK*. 6(2). 351–357.
31. Wardani, R., Jekti, D. S. D., and Sedijani, P. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Jeruk Nipis (Citrus aurantifolia Swingle) terhadap Pertumbuhan Bakteri Isolat Klinis. *Journal Penelitian Pendidikan IPA*. 5(1). [10.29303/jppipa.v5i1.101](https://doi.org/10.29303/jppipa.v5i1.101)
32. Wahab *et al.* 2020. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa) dengan Metode Difusi Cakram. *Indonesian Journal Of Fundamental Sciences*. (1). 8-15. <https://doi.org/10.26858/ijfs.v6i1.13940>
33. Syauqi, A. 2018. Pengaruh Suhu Perebusan Daun Sirih Merah Terhadap Daya Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus* Penyebab Mastitis pada Sapi Perah. *MADURANCH: Jurnal Ilmu Peternakan*. 75–80.