

PENGARUH EKSTRAK DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica* (L.) Less) 25% TERHADAP BIOFILM *STREPTOCOCCUS MUTANS* - *in vitro*

Clarissa Bonita Syaravina*, Rizki Amalina**, Eko Hadianto***

Keywords:

Biofilm Streptococcus mutans, beluntas leaf extract 25%.

ABSTRACT

Background: Biofilm begins with formation of pellicle and within a minutes the colonization of bacteria attached to surface of the teeth. One of early bacteria attached was *Streptococcus mutans*. This study used 25% beluntas leaf extract in influencing the growth of *Streptococcus mutans* biofilm. The purpose of study was to investigated effect of 25% beluntas leaf extract on *Streptococcus mutans* biofilm.

Methods: This research was experimental laboratory with post test only control design, consist of four treatment groups, 25% beluntas leaf extract and 0.12% chlorhexidine incubated 24 hours and 48 hours. Biofilm formation was measured by calculating Optical Density using a spectrophotometer. Data analysis was performed using One Way Anova test followed by Post Hoc LSD test.

Result: The results showed that beluntas leaf extract could influence the formation of *S.mutans* biofilm but the effect in inhibiting biofilm formation is still not as good as chlorhexidine. It is known from the results of One Way Anova 25% beluntas leaf extract and 0.12% chlorhexidine incubated for 24 hours and 48 hours showed significant difference ($p < 0.05$).

Conclusion: The conclusion of this research is the effect of beluntas leaf extract (*Pluchea indica* (L.) Less) 25% to *Streptococcus mutans* biofilm *in vitro*.

PENDAHULUAN

Menurut data WHO *global oral health*, masalah tertinggi yang dialami oleh masyarakat pada rongga mulut adalah karies dan periodontitis¹. Karies adalah kerusakan jaringan keras gigi disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya *host*, mikroorganisme dan diet karbohidrat. Awal terjadinya karies secara visual ditandai adanya *white spot* pada permukaan gigi². Mikroorganisme yang berperan besar terhadap karies yaitu *Streptococcus mutans*³. *S.mutans* dapat mensintesis glikogen intraseluler polisakarida (IPs) dari glukosa dan sukrosa ekstraseluler serta menghasilkan *mutacins* atau bakteriosin sebagai faktor penting dalam pembentukan kolonisasi bakteri *S.mutans* di dalam lapisan

biofilm⁴.

Tahap pertama dalam pembentukan *biofilm* (plak) diawali dengan terbentuknya pelikel yang muncul dalam beberapa menit setelah gigi dibersihkan. Dalam beberapa menit kolonisasi bakteri terbentuk pada permukaan pelikel dan salah satu bakteri awal yang menempel yaitu *S.mutans*⁵. Bakteri yang menempel pada permukaan gigi akan berproliferasi dan menghasilkan matriks *Extracellular Polymeric Substances* (EPS) sehingga terjadi pembentukan lapisan *biofilm*⁶. Lapisan *Extracellular Polymeric Substances* (EPS) dapat meningkatkan kelangsungan hidup koloni dengan cara membungkus seluruh koloni mikroorganisme supaya sulit ditembus oleh agen dari luar seperti antibiotik. Jika tidak dihilangkan *biofilm* mengalami pematangan

*Program Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Islam Sultan Agung, **Departemen Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Islam Sultan Agung, ***Departemen Dental Material Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Islam Sultan Agung

Korespondensi: clarissa.bonsya@gmail.com

dan menyebabkan karies gigi, gingivitis, dan periodontitis⁷.

Dewasa ini, di dalam bidang kedokteran gigi telah memanfaatkan bahan alam sebagai alternatif pengobatan. Bahan alami yang dimanfaatkan adalah daun beluntas (*Pluchea indica* (L.) Less). Tanaman beluntas (*Pluchea indica* (L.) Less) merupakan tumbuhan semak yang bercabang banyak biasanya digunakan sebagai tanaman pagar. Bagian dari tanaman beluntas yang dipakai adalah daunnya karena memiliki banyak senyawa aktif yang mampu digunakan untuk mengatasi masalah kesehatan pada rongga mulut terutama gigi⁸. Senyawa aktif yang terkandung dalam daun beluntas diantaranya flavonoid, alkaloid, saponin, polifenol, tannin, sterol, natrium, minyak asitri, asam amino, lemak, kalsium, magnesium, fosfor, vitamin A, vitamin C⁹.

Dalam penelitian terdahulu menunjukkan bahwa konsentrasi 25% ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica* (L.) Less) memiliki daya hambat sebanding dengan *chlorhexidine* 0,12% dalam menghambat diameter bakteri *S.mutans*⁸. *Chlorhexidine* memiliki kekurangan yaitu dapat menyebabkan rasa tidak enak pada mulut dan mengakibatkan *stain* pada gigi. Sehingga dapat digunakan alternatif pengobatan herbal yaitu ekstrak daun beluntas¹⁰.

Penulis ingin melakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica* (L.) Less) 25% dan *chlorhexidine* 0,12% terhadap biofilm *Streptococcus mutans*. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica* (L.) Less) 25% terhadap pertumbuhan biofilm *Streptococcus mutans* yang diinkubasi selama 24 jam dan 48 jam serta mengetahui perbedaan antara ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica* (L.) Less) 25% dan *chlorhexidine* 0,12% terhadap pertumbuhan biofilm *Streptococcus mutans*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian analitik eksperimental laboratorium dengan *post test only control design*. Terdiri dari empat kelompok perlakuan yaitu biofilm *S.mutans* + ekstrak daun beluntas 25% diinkubasi selama 24 jam, biofilm *S.mutans* + ekstrak daun beluntas 25% diinkubasi selama 48 jam, biofilm *S.mutans* + *chlorhexidine* 0,12% diinkubasi selama 24 jam, biofilm *S.mutans* + *chlorhexidine* 0,12% diinkubasi selama 48 jam. Pembentukan biofilm diukur dengan menghitung *Optical Density* menggunakan spektrofotometer. Ekstrak daun beluntas yang digunakan adalah konsentrasi 25%.

Daun beluntas yang digunakan adalah daun yang masih muda berumur 3-4 bulan, daun yang diambil dengan panjang 2-5cm, memiliki 2-3 ruas, memiliki tekstur tidak begitu keras serta daunnya berwarna hijau muda. Daun beluntas dicuci di air mengalir, kemudian dikeringkan di oven¹¹. Daun beluntas kering diblender untuk mendapatkan bubuk daun beluntas serta dilakukan penyaringan untuk mendapatkan filtrat. Cara mendapatkan konsentrasi tersebut dilakukan dengan cara 25 gram ekstrak kasar ditambahkan pelarut aquades steril sampai didapatkan volume 100 ml dan didapatkan konsentrasi ekstrak 25%¹².

Pembentukan lapisan pelikel dengan cara memasukan 0,25 mL saliva dalam masing-masing *well-plate* dan berikan suspensi bakteri uji (*Streptococcus mutans*) dengan konsentrasi 108 CFU/mL, BHI-broth, dan ekstrak etanol daun beluntas 25% (*Pluchea indica* (L.) Less.) serta *chlorhexidine* 0,12% pada masing-masing *well-plate*. *Well-plate* di inkubasi selama 24 jam dan 48 jam, kemudian bilas masing-masing *well-plate* dengan PBS steril. Masukkan larutan kristal violet 0,1% dan diamkan selama 15 menit dalam suhu kamar.

Buang larutan kristal violet yang diambil dengan pipet lalu bilas kembali dengan PBS steril pada masing-masing *well-plate*. Beri larutan etanol dan pindahkan larutan ke *well-plate* baru, kemudian dilakukan pembaca dengan *Optical Density* (OD) biofilm *Streptococcus mutans* menggunakan alat spektrofotometer.

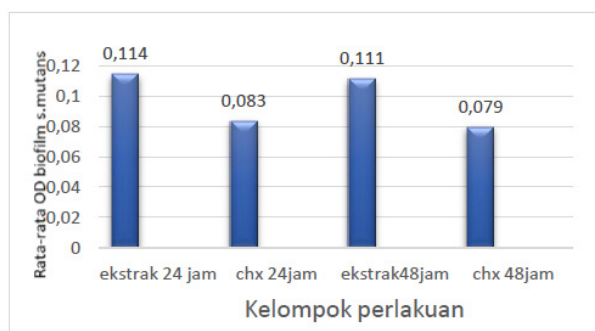
HASIL PENELITIAN

Hasil pengukuran dari *Optical Density biofilm Streptococcus mutans* yang diinkubasi selama 24 jam dan 48 jam sebagai berikut :

Tabel 1. Nilai rata-rata *Optical Density biofilm Streptococcus mutans*

Kelompok sampel	Ekstrak 24jam	Ekstrak 48jam	Chlorhexidine 0,12% 24jam	Chlorhexidine 0,12% 48jam
Mean	0,11417	0,11167	0,08367	0,07950
Std. Deviation	0,028764	0,022897	0,010558	0,014153

Berdasarkan tabel 1 rata-rata ekstrak daun beluntas 25% yang diinkubasi selama 24 jam dan 48 jam yaitu 0,11417 dan 0,11167. Sedangkan untuk chlorhexidine 0,12% yang diinkubasi selama 24 jam dan 48 jam yaitu 0,08367 dan 0,07950. Rata-rata *Optical Density biofilm Streptococcus mutans* dapat dibandingkan dalam bentuk diagram batang sebagai berikut :



Gambar 1 Diagram batang rata-rata *Optical Density Biofilm S.mutans*

Dari diagram batang pada Gambar 1 terlihat bahwa kelompok kontrol *chlorhexidine*

memiliki kecenderungan nilai *Optical Density* lebih rendah daripada ekstrak daun beluntas, serta antara ekstrak daun beluntas dan *chlorhexidine* inkubasi 24 jam dan 48 jam terlihat ada kecenderungan pada hasil penelitian yang dilakukan.

Berdasarkan data hasil yang diperoleh kemudian dilakukan uji normalitas dan homogenitas untuk menentukan metode analisis yang sesuai. Uji normalitas menggunakan metode *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas menggunakan *Levene Test* dengan hasil yang diperoleh sebagai berikut :

Tabel 2. Uji normalitas dengan *Shapiro-Wilk*

Kelompok	Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.
ekstrak24jam	.951	6	.746
ekstrak48jam	.901	6	.378
chx24jam	.964	6	.854
chx48jam	.973	6	.909

Tabel 3. Uji Homogenitas dengan *Levene Test*

Levene	Statistic	df1	df2	Sig.

Hasil data uji normalitas *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas menggunakan *Levene Test* menunjukkan bahwa semua kelompok diperoleh nilai ($p > 0,05$), hal ini menunjukkan bahwa data pada kelompok sampel berdistribusi normal dan homogen.

Hasil data Tabel 4 antara ekstrak daun beluntas (*Pluchea Indica* (L.)Less.) 25% dan *chlorhexidine* 0,12% yang diinkubasi selama 24 jam dan 48 jam menunjukkan bahwa data terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$). Selanjutnya dilakukan uji *Post Hoc LSD* untuk mengetahui kelompok mana saja yang terdapat perbedaan signifikan, data sebagai berikut :

Tabel 4 Uji parametrik *One Way Anova*

Kelompok sampel	Ekstrak 24jam	Ekstrak 48jam	<i>Chlorhexidine</i> 0,12% 24jam	<i>Chlorhexidine</i> 0,12% 48jam	Sig.
Mean	0,11417	0,11167	0,08367	0,07950	.0,11
Std.Deviation	0,028764	0,022897	0,010558	0,014153	

(*) signifikan = $p < 0,05$

Tabel 5 Uji *Post Hoc LSD*

Kelompok	Sig.
ekstrak24jam	ekstrak48jam .834*
	chx24jam .017*
	chx48jam .008*
ekstrak48jam	chx24jam .027*
	chx48jam .013*
chx24jam	chx48jam .727*

(*) signifikan = $p < 0,05$

Hasil data Tabel 5 ekstrak daun beluntas 25% yang diinkubasi antara 24 jam dan 48 jam serta *chlorhexidine* 0,12% inkubasi antara 24 jam dan 48 jam menunjukkan data tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Hasil antara ekstrak daun beluntas 25% inkubasi 24 jam dan *chlorhexidine* 0,12% inkubasi 24 jam menyimpulkan bahwa data terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$). Hasil data antara ekstrak daun beluntas 25% inkubasi 48 jam dan *chlorhexidine* 0,12% inkubasi 48 jam menunjukkan bahwa data terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$).

DISKUSI

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, inkubasi antara 24 jam dan 48 jam pada ekstrak

daun beluntas (*Pluchea Indica (L.)Less.*) 25% mempunyai pengaruh terhadap pembentukan *biofilm Streptococcus mutans* namun waktu inkubasi tidak berpengaruh terhadap *biofilm Streptococcus mutans*. Pada penelitian terdahulu menunjukkan bahwa berkumur dengan ekstrak etanol daun beluntas (*Pluchea Indica (L.)Less.*) memiliki khasiat untuk menurunkan jumlah koloni *Streptococcus sp* pada plak gigi dan menurunkan jumlah bakteri dalam saliva¹².

Hasil identifikasi senyawa metabolit sekunder antibakteri dalam daun beluntas (*Pluchea Indica (L.)Less.*) yaitu terdapat golongan fenol, flavonoid, alkaloid dan tannin. Kandungan dalam senyawa alkaloid dapat menghambat aktivitas bakteri dengan cara mengganggu komponen penyusun

peptidoglikan pada sel bakteri, mengandung nitrogen yang akan bereaksi dan mempengaruhi DNA bakteri sehingga menyebabkan lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh serta menyebabkan kematian sel¹³. Flavonoid bersifat lipofilik yang dapat merusak membran mikroba sehingga mampu mengganggu pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* sebagai komponen utama penyusun plak. Tanin berperan sebagai antibakteri dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein dan interaksi hidrofobik sehingga dapat merusak protoplasma membran sel bakteri. Senyawa bioaktif dari ekstrak daun beluntas bersifat bakteriostatik yaitu menghambat pertumbuhan mikroba serta bersifat bakterisida yaitu mematikan dan menghentikan pertumbuhan mikroba¹⁴.

Hasil uji antara ekstrak daun beluntas (*Pluchea Indica* (L.) Less.) 25% dan *chlorhexidine* 0,12% terhadap *biofilm Streptococcus mutans* paparan 24 jam menunjukkan bahwa data terdapat perbedaan yang signifikan. Hasil uji antara ekstrak daun beluntas (*Pluchea Indica* (L.) Less.) 25% dan *chlorhexidine* 0,12% terhadap *biofilm Streptococcus mutans* paparan 48 jam menunjukkan data terdapat perbedaan signifikan.

Penelitian ini menunjukkan antara ekstrak daun beluntas 25% dan *chlorhexidine* 0,12% sama-sama mempunyai pengaruh terhadap *biofilm Streptococcus mutans*, tetapi *chlorhexidine* 0,12% memiliki tingkat efektivitas lebih tinggi dibandingkan ekstrak daun beluntas 25%. Hal ini disebabkan karena *chlorhexidine* 0,12% mempunyai ikatan yang kuat dengan sel bakteri¹⁵.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa

terdapat pengaruh ekstrak daun beluntas (*Pluchea Indica* (L.) Less.) 25% terhadap *biofilm Streptococcus mutans* secara *in vitro*. Terdapat perbedaan signifikan antara ekstrak daun beluntas (*Pluchea Indica* (L.) Less.) 25% dan *chlorhexidine* 0,12% terhadap pertumbuhan *biofilm Streptococcus mutans* serta adanya pengaruh ekstrak daun beluntas (*Pluchea Indica* (L.) Less.) 25% terhadap pertumbuhan *biofilm Streptococcus mutans* yang diinkubasi selama 24 jam dan 48 jam.

DAFTAR PUSTAKA

1. WHO [internet]. Switzerland: The world oral health report 2003 WHO global oral health programme. 2003. [diakses 11 April 2017]. terdapat di: www.who.int/oral_health/media/en/orh_report03_en.pdf
2. Ozdemir D. Dental caries : The most common disease worldwide and preventive strategies. *Int J Biol.* 2013;5(4):55.
3. Metwalli KH, Khan SA, Krom BP, Jabra-Rizk MA. *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, and the Human Mouth: A Sticky Situation. *PLoS Pathog.* 2013;9(10):1–5.
4. Karpinski TM, Szkaradkiewicz AK. Microbiology of dental caries. *Med Rev J Biol Earth Sci J Biol Earth Sci.* 2013;201(31):21–4.
5. Chetrus V, Ion IR. Dental plaque - classification, formation and identification. *Int J Med Dentistry.* 2013;3(2 April):139–43.
6. Morita A, Yulianto HDK, Kusdina SD, Purwanti N. Differences of *Streptococcus mutans* adhesion between artificial mouth systems : a dynamic and static methods. *Dent J.* 2016;67(56):67–70.
7. Gurenlian JR. The role of dental plaque biofilm in oral health. *J Dent Hyg.* 2007;81(5):3–11.
8. Nahak MM, Tedjasulaksana R, Sumerti NN. Efektivitas kumur ekstrak etanol daun beluntas (*pluchea indica*. l.) untuk menurunkan jumlah koloni *streptococcus* sp. pada plak gigi. *J Skala Husada.* 2015;12(April):56–64.
9. Rahmi A, Cahyanto T, Sujarwo T, Lestari R indri. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica* (L.) Less.) terhadap *propionibacterium acnes* penyebab jerawat. *Fak Sains dan Teknol UIN Sunan Gunung Djati Bandung.* 2015;IX(1):141–61.
10. Andriani JN. Reduction of Salivary *Streptococcus mutans* Colonies in Children After Rinsing with 2 . 5 % Green Tea Solution. *J Dent Indones.* 2014;21(3):81–6.
11. Putri RK, Habib I. Daya antifungi ekstrak etanol daun beluntas against *Malassezia* Sp . *in vitro*. *Mutiara Med.* 2007;7(1):7–17.

12. Nahak MM. Ekstrak etanol daun beluntas (*Pluchea indica*. L.) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* (Thesis). Udayana University; 2012.
13. Gunawan IWG, Bawa IGAG, Sutrisnayanti NL. Isolasi dan identifikasi senyawa terpenoid yang aktif antibakteri pada herba meniran (*Phyllanthus niruri* Linn). *J Kim*. 2008;2(1):31–9.
14. Sakinah N, Dwyana Z, Tambaru E, Rante H. Uji Aktivitas Sediaan Obat Kumur Ekstrak Daun Miana *Coleus scutellarioides* (L.) Benth Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans*. 2015;1–7.
15. Sinaredi BR, Pradopo S, Wibowo B. Daya antibakteri obat kumur chlorhexidine , povidone iodine , fluoride suplementasi zinc terhadap , *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis* (Antibacterial effect of mouth washes containing chlorhexidine , povidone iodine , fluoride plus zinc on. *Dent J*. 2014;47(4):212–4.