

EFEK ANTIBAKTERI EKSTRAK BUAH MAHKOTA DEWA TERHADAP *Enterococcus faecalis* SEBAGAI MEDIKAMEN SALURAN AKAR

(ANTIBACTERIAL EFFECT OF EXTRACT MAHKOTA DEWA'S FRUIT TO *Enterococcus faecalis* AS ROOT CANAL MEDICAMENT)

Darwis Aswal, Lusiana Beatrice

Departemen Konservasi
Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Sumatera Utara
Jl. Alumni no. 2 Kampus USU Medan
Telp. 061 8216131, Fax. 061 8213421

Abstract

Mahkota dewa's fruit or *Phaleria macrocarpa*.Scheff (Boerl) had been chosen as an alternative root canal medicament solution because the low saponin that obtained on fruit and other compound such as alcaloid and tannin which act as an antibacteria. *Enterococcus faecalis* is one of the resistance bacteri and found in endodontic infections. The existence of this bacteria is able to make colonization or a good adherence on the protein surface and to form biofilm in dentinal walls. This study was aimed to know the antibacterial effect of extract mahkota dewa's fruit by knowing the low concentration to inhibit and kill *E. faecalis*. It was begun with extraction 800 grams mahkota dewa's fruit, then had been macerated with 5 liters of etanol 96% became 2.5 liters of macerat liquid. The macerat had been evaporated with *Vaccum Rotary Evaporator* and resulted extract viscous consistency mahkota dewa's fruit. To find the antibacterial effort of this fruit was determined by *minimum inhibitory concentration* and *minimum bactericidal concentration* with the concentration of 100%, 50%, 25%, 12,5% and 6,25%. The conclusion of this study was 12,5% extract mahkota dewa's fruit with the score 0 CFU/ml can be developed as an alternative root canal medicament solution.

Key words: mahkota dewa's fruit, *Enterococcus faecalis*, medicament

PENDAHULUAN

Hal yang terpenting pada perawatan endodonti adalah aktivitas reduksi atau eliminasi bakteri yang menginfeksi. Klinisi harus memperhatikan instrumen mekanis, dan pengangkatan *smear layer* untuk mengeliminasi bakteri saluran akar.¹ Kompleksitas saluran akar, keberadaan sejumlah tubulus-tubulus dentin pada akar, adanya mikroorganisme yang menginvasi ke dalam tubulus, pembentukan *smear layer* yang melindungi bakteri dari efek antibakteri saat medikasi saluran akar merupakan beberapa faktor yang mengganggu keberhasilan perawatan saluran akar.² *Enterococcus faecalis* adalah salah satu jenis bakteri yang sering ditemukan pada saluran akar, diisolasi dari berbagai infeksi rongga mulut serta berhubungan erat respons inflamasi periradikular. Gambaran klinis akibat virulensi bakteri ini adalah periodontitis apikal akut, periodontitis kronis, periodontitis apikal eksaserbasi, termasuk pada kasus periodontitis marginal, dan abses periradikular.³

Kemampuannya untuk beradaptasi pada kondisi yang kurang baik serta memiliki pertahanan yang kuat pada infeksi saluran akar ketika nutrisi sangat terbatas dapat menjadi keuntungan lebih dari spesies lainnya.³ Pada penelitian *in vitro*, *E. faecalis* terlihat memasuki tubulus dentin, di mana tidak semua bakteri memiliki kemampuan seperti ini. Pada penelitian lain, dilakukan kultur berbagai variasi bakteri yang diinokulasi ke dalam saluran akar. Terlihat *E. faecalis* dapat mengadakan kolonisasi yang baik dan dapat bertahan dalam saluran akar tanpa dukungan dari bakteri lainnya. Virulensi *E. faecalis* berhubungan dengan kolonisasi terhadap host, kemampuan berkompetisi dengan bakteri lainnya, resistensi dalam melawan mekanisme host serta produksi toksin secara langsung maupun melalui induksi inflamasi. Faktor-faktor virulensi tersebut adalah substansi agregasi, permukaan adhesi (*adhesion surface*), *sex pheromones*, *lipoteichoic acid*, produksi *superoxide ekstraseluler*, *gelatinase*, *hyaluronidase*, *cytolysin (hemolysin)* dan *protease*.^{3,4}

Penggunaan bahan medikamen saluran akar selama perawatan endodonti harus dapat mensterilisasi dan mengurangi jumlah mikroorganisme patogen dalam saluran akar. Berbagai bahan medikamen yang sering digunakan antara lain *calcium hydroxide* ($\text{Ca}(\text{OH})_2$), antibiotik, *non-phenolic biocides*, *phenolic biocides*, dan bahan iodin. $\text{Ca}(\text{OH})_2$ telah digunakan sejak tahun 1920 dan saat ini merupakan bahan medikamen saluran akar yang paling sering digunakan. $\text{Ca}(\text{OH})_2$ terbukti sebagai bahan biokompatibel dan efektif pada gigi dengan periodontitis apikal. Medikamen saluran akar digunakan dengan tujuan mengeliminasi bakteri yang tidak dapat dihancurkan dengan proses *chemomechanical* seperti instrumentasi dan irigasi.^{5,6}

Smear layer yang terdiri atas debris organik, debris anorganik jaringan yang mengalami kalsifikasi, jaringan nekrosis, proses odontoblas serta adanya mikroorganisme dapat menghambat penetrasi dari larutan irigasi antimikrobal dan medikamen intrakanal ke dalam tubulus dentin, yang seharusnya dapat membunuh mikroorganisme.^{1,7-9} Bahan alami yang mungkin dapat dikembangkan sebagai alternatif larutan medikamen saluran akar adalah tanaman mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* Scheff (Boerl)). Saat ini, buah dan daun mahkota dewa oleh masyarakat Indonesia telah digunakan untuk mengatasi berbagai keluhan/penyakit, serta semakin dirasakan khasiatnya oleh masyarakat umum dengan petunjuk beberapa pengobatan herbal.¹⁰ Secara empiris buah dan daun mahkota dewa telah digunakan untuk pengobatan terhadap penyakit kanker rahim ataupun kanker lainnya, dan hasilnya dapat menyembuhkan dengan memuaskan.¹¹ Umumnya tanaman marga *Phaleria* memiliki aktivitas antibakteri. Penelitian mengenai uji zona hambat infusum daun mahkota dewa pada pertumbuhan *Streptococcus mutans* menunjukkan bahwa infusum daun mahkota dewa memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* dengan daya hambat terbesar pada konsentrasi 50%.

Telah diketahui bahwa biji mahkota dewa bersifat toksik sedangkan buahnya tidak, dengan kemampuan menghambat yang lebih besar dibandingkan daunnya. Pada umumnya, senyawa aktif tanaman mahkota dewa, baik dalam biji, buah maupun daun, yang berkhasiat sebagai antibakteri adalah saponin, alkaloid, dan tanin. Buah mahkota dewa mengandung beberapa zat aktif seperti: (1) alkaloid, bersifat detoksifikasi yang dapat menetralkan racun di dalam tubuh; (2) saponin merupakan fitonutrien, sering disebut "deterjen alam" bermanfaat sebagai sumber antibakteri dan antivirus, meningkatkan sistem kekebalan tubuh, meningkatkan vitalitas, mengurangi kadar gula dalam darah, mengurangi penggumpalan

darah; pendarahan atau pembengkakan; (3) tanin sebagai polifenol dan bagian dari senyawa fenolik kompleks tanaman berfungsi mengikat dan mengendapkan protein, bekerja sebagai antibakteri.^{12,13}

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui daya antibakteri ekstrak buah mahkota dewa dengan mengetahui konsentrasi minimum yang dapat menghambat dan membunuh bakteri *E. Faecalis* dengan tujuan ekstrak buah mahkota dewa sebagai alternatif bahan medikamen saluran akar.

BAHAN DAN METODE

Hasil determinasi tanaman di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Pusat Penelitian Biologi, Bogor menunjukkan bahwa tanaman yang akan digunakan adalah benar dan telah sesuai dengan tanaman uji yang diperlukan, yaitu buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* Boerl). Dalam pembuatan ekstrak buah mahkota dewa, digunakan 800 gram buah mahkota dewa (Medan Polonia, Indonesia), kemudian diiris halus dan dikeringkan di lemari pengering selama 10 hari. Lalu di haluskan blender (*Panasonic, Japan*) sampai menjadi serbuk simplisia sebanyak 80 gram. Serbuk simplisia dimasukkan ke dalam wadah dan dimaserasi dengan 5 liter pelarut etanol 96%, sehingga diperoleh maserat cair sebanyak 2,5 liter. Seluruh maserat digabung dan disaring, lalu diuapkan dengan menggunakan *Vaccum Rotary Evaporator* (*Heidolph VV 2000, Germany*) pada tekanan <1 ATM dengan temperatur $\leq 60^\circ\text{C}$.

Penelitian eksperimental laboratoris dengan pengujian daya antibakteri ekstrak buah mahkota dewa terhadap bakteri *Enterococcus faecalis* pernah dilakukan di *Tropical Diseases Laboratory*, Universitas Airlangga, Surabaya. Dalam penelitian ini, digunakan bahan suspensi *E. faecalis* ATCC 29212 yang telah diisolasi dan dibiakkan dengan media *Mueller Hinton Agar*. Pengujian efektifitas antibakteri bahan coba dilakukan dengan mengamati perubahan kekeruhan pada tiap konsentrasi bahan coba (100, 50, 25, 12,5 dan 6,25%). Penetapan konsentrasi berdasarkan standard *Laboratorium Tropical disease*, UNAIR, dengan metode dilusi (pengenceran ganda). Perubahan yang terjadi ditandai dengan hasil biakan mulai tampak jernih bila dibandingkan dengan kontrol (*Mc Farland* yang diinkubasi 24 jam). Selanjutnya, dilakukan penghitungan jumlah bakteri menggunakan metode *Drop Plate Mills Mesra* yang bertujuan membuktikan bahwa perubahan tingkat kekeruhan pada setiap konsentrasi menunjukkan kemampuan bahan coba membunuh bakteri sebesar 99%-100%, yang disebut dengan MBC (*Minimum Bactericidal Concen-*

tration).

Dilakukan penentuan nilai *MIC* dengan kelompok I (ekstrak dengan konsentrasi 100% = 6 sampel), kelompok II (ekstrak dengan konsentrasi 50% = 6 sampel), kelompok III (ekstrak dengan konsentrasi 25% = 6 sampel), kelompok IV (ekstrak dengan konsentrasi 12,5% = 6 sampel), kelompok V (ekstrak dengan konsentrasi 6,25% = 6 sampel), kelompok VI (kontrol *Mc Farland* = 1 sampel), kelompok VII (kontrol negatif ekstrak buah mahkota dewa tanpa suspensi *E.faecalis* = 1 sampel).

Selanjutnya diambil 1 ml suspensi bakteri yang telah dipersiapkan sebelumnya dengan menggunakan mikropipet lalu dimasukkan ke dalam masing-masing tabung bahan coba yang telah diberi label kemudian divorteks. Lalu tabung-tabung tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam pada inkubator CO₂ dan diamati kekeruhan yang terjadi dengan membandingkan tabung-tabung tersebut dengan kontrol *Mc Farland* untuk menentukan nilai *MIC* dari masing-masing bahan coba. Tabung dengan kekeruhan mulai tampak jernih untuk setiap kelompok perlakuan yang merupakan *MIC* yaitu konsentrasi minimal ekstrak atau bahan uji apapun yang mampu menghambat pertumbuhan *E.faecalis* dalam media perbenihan setelah dinkubasi 24 jam dan tidak tumbuh koloni kuman dalam media perbenihan tersebut.

Pada prosedur penentuan nilai *MIC* tidak terlihat larutan yang mulai tampak jernih karena kesamaan warna kekeruhan dengan kontrol, sehingga semua kelompok larutan dilanjutkan dengan penghitungan jumlah koloni bakteri, yaitu pada konsentrasi 100, 50, 25, 12,5, dan 6,25% untuk menentukan nilai *MBC*. Setelah itu, bahan coba dengan konsentrasi di atas divorteks dan diambil 50 µl untuk tiap konsentrasi lalu ditetaskan ke dalam media padat (*Mueller Hinton Agar*), direplikasi 6 petri, diamkan selama 15-20 menit sampai mengering dan diinkubasi dalam inkubator CO₂ dengan suhu 37° C selama 24 jam.

HASIL

Hasil pengujian antibakteri menunjukkan bahwa pada konsentrasi 100, 50, 25 dan 12,5 diperoleh nilai jumlah koloni 0 CFU/ml, sedangkan pada konsentrasi 6,25% terlihat adanya pertumbuhan koloni senilai 56x2x10⁹CFU/ml pada replikasi 1 (Tabel 1).

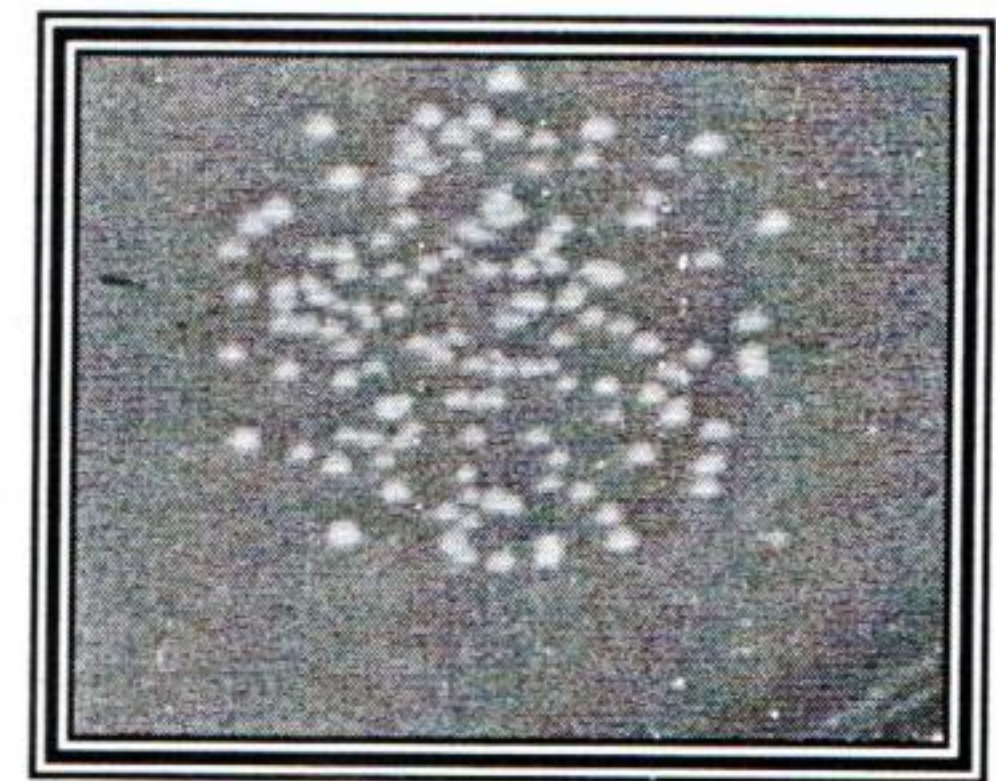
Jumlah koloni pada konsentrasi 12,5% 0 CFU/ml berarti tidak terlihat adanya pertumbuhan bakteri dalam media perbenihan yang ditandai dengan tidak terbentuknya lagi koloni

bakteri pada media pembenihan, berarti semua bakteri *Enterococcus faecalis* mati (Gambar 2).

Tabel 1. Rerata jumlah koloni bakteri berdasarkan bahan coba ekstrak etanol buah mahkota dewa

	Rerata jumlah koloni bakteri bahan coba ekstrak etanol buah mahkota dewa				
	100 %	50%	25%	12,5%	6,25%
Rerata	0	0	0	0 CFU/	52x2x10 ⁹
	CFU/	CFU/	CFU/	ml	CFU/ ml
	ml	ml	ml		

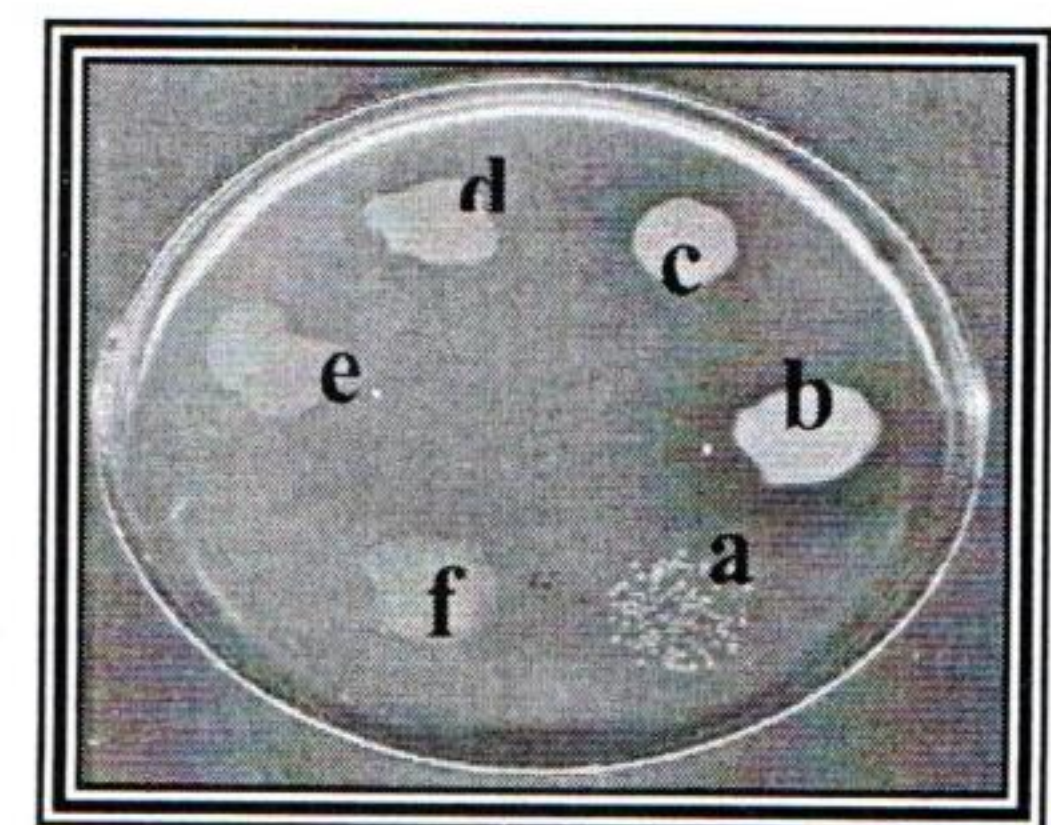
Keterangan: 0 CFU/ml = steril, tidak dijumpai pertumbuhan bakteri. Setiap CFU/ml telah dikali 20 (faktor pengali)



Gambar 1. Kontrol Mc Farland 0.5



Gambar 2. Hasil peletakan tetesan konsentrasi 12,5% ekstrak etanol buah mahkota dewa setelah diinkubasi 24jam



Gambar 3. Perbandingan koloni (a) kontrol Mc Farland (b) konsentrasi 100%, (c) 50%,(d)25%,(e)12,5% ,(f) 6,25%.

Jumlah koloni yang terbentuk pada konsentrasi 6,25% terlihat jauh lebih sedikit jika dibandingkan

- on adhesion to dentin. *Oral Microbiol Immunol* 2003; 18(2): 121-6.
10. Ajitha P. Time dependent inhibitory effect of dentin on various calcium hydroxide medicaments- An in vitro study. *J Endod* 2003; 15: 7-11.
 11. Soeksmanto A. Pengaruh ekstrak butanol buah tua mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap jaringan ginjal mencit (*Mus musculus*). *Biodiversitas* 2006; 7(3): 278-81.
 12. Djunarko I. Teratogenesis perasan dan infusa daging buah segar makuto dewo (*Phaleria Macrocarpa* (Scheff.)Boerl) pada tikus putih. *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas* 2003; 1(2): 79-88.
 13. Syukri Y, Saepudin. Aktivitas penghambatan kejadian kanker ekstrak etanol buah mahkota dewa (*Phaleria Macrocarpa* Boerl) pada mencit yang diinduksi 7,12-Dimetilbenz(a)Antrasen. *Jurnal Penelitian & Pengabdian* 2008; 5(1): 1-9.

dengan jumlah koloni pada kontrol *Mc Farland* (Gambar 1) yang diinkubasi 24 jam yaitu 132×10^{15} CFU/ml (Gambar 3).

PEMBAHASAN

Penelitian yang telah ada sebelumnya mempelajari efek antibakteri infusum daun mahkota dewa. Dalam penelitian ini dipakai buah mahkota dewa karena adanya kandungan senyawa yang sama yang bekerja pada daun dan buah sebagai antibakteri. Acuan pustaka yang ada telah menyebutkan bahwa tanaman marga *Phaleria* umumnya memiliki aktifitas antibakteri dan telah diketahui bahwa biji mahkota dewa bersifat toksik sedangkan buahnya tidak, dengan potensi penghambatan yang lebih besar dibandingkan daunnya. Dalam hal ini, senyawa aktif mahkota dewa yang berkhasiat sebagai antibakteri adalah saponin, alkaloid, dan tanin, saponin mempunyai efek antibakteri dan berfungsi sebagai deterjen yang memiliki molekul amfipatik (mengandung bagian hidrofilik dan hidrofobik) yang dapat melarutkan protein membran. Ujung hidrofobik saponin berikatan pada regio hidrofobik protein membran sel dengan menggeser sebagian besar unsur lipid yang terikat. Ujung hidrofilik saponin merupakan ujung yang bebas akan membawa protein ke dalam larutan sebagai kompleks deterjen-protein sehingga sel bakteri menjadi lisis.

Sifat saponin adalah membentuk busa yang stabil dalam larutan air, serta mengandung makna kadar racun yang tinggi. Akan tetapi, pada saat sampel buah mahkota dicuci hanya membentuk busa yang relatif sangat sedikit. Hal ini membuktikan kemungkinan adanya kandungan saponin dengan konsentrasi yang rendah pada buah mahkota dewa, dan bermakna toksisitas rendah. Jika dikaitkan dengan hasil pengujian antibakteri *E. faecalis*, kemungkinan adanya senyawa lainnya dari ekstrak etanol buah mahkota dewa yang bekerja sebagai antibakteri, seperti tanin dan alkaloid. Adanya tanin adalah sebagai polifenol dan bagian dari senyawa fenolik kompleks tanaman yang berfungsi mengikat dan mengendapkan protein, sehingga diduga senyawa aktif tanin juga bekerja sebagai antibakteri.

Efek antibakteri dari ekstrak etanol buah mahkota dewa dengan konsentrasi 100% (sangat kental) terhadap *E. faecalis* akan secara langsung membunuh bakteri karena tingginya konsentrasi antibakteri yang terkandung di dalamnya. Demikian juga yang terjadi pada konsentrasi 50, 25, dan 12,5 yaitu senilai 0 CFU/ml. Sedangkan pada konsentrasi 6,25% yang telah diencerkan semakin mengurangi daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri dilihat dari terbentuknya koloni bakteri 56×10^9 CFU/ml

pada replikasi 1. Hasil penelitian menunjukkan, bahwa bahan coba yaitu ekstrak buah mahkota dewa memiliki efek antibakteri terhadap *E. faecalis* dengan pengukuran nilai MIC dan MBC bahan coba. Efek antibakteri bahan coba dilihat dari besar nilai MIC dan MBC bahan coba terhadap pertumbuhan bakteri, dengan jumlah bakteri yang sama untuk setiap perlakuan yaitu 10^9 CFU/ml. Nilai minimum ditunjukkan pada bahan coba dengan konsentrasi 12,5% yaitu 0 CFU/ml. Pada ekstrak etanol mahkota dewa dengan konsentrasi 12,5% adalah konsentrasi minimal yang dibuktikan dengan diperolehnya nilai MBC 0 CFU/ml pada media pembenihan. Hal ini mungkin terjadi karena ekstrak saat berkontak dengan pelarut dapat terurai dan berdifusi pada membran sel *E. faecalis* dan menghasilkan efek antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. faecalis*.

Sebagai kesimpulan, ekstrak etanol buah mahkota dewa memiliki daya antibakteri dan mampu menghambat pertumbuhan *Enterococcus faecalis* dan dapat dikembangkan menjadi bahan medikamen saluran akar. Efek antibakteri dinilai dari nilai MBC yang terdapat pada ekstrak etanol buah mahkota dewa pada konsentrasi 12,5% dengan jumlah koloni 0 CFU/ml.

Daftar Pustaka

1. Stephen H. A new solution (MTAD) to remove the smear layer and disinfect root canals. *Endod* 2005; 28-31.
2. Cogulu D, Uzel A. Detection of *Enterococcus faecalis* in necrotic teeth root canals by culture and polymerase chain reaction methods. *Eur J Dent* 2007; 1(4): 216-21.
3. Kayaoglu G, Orstavik D. Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: Relationship to endodontic diseases. *Crit Rev Oral Biol Med* 2004; 15(5): 308-20.
4. Furumura MT, Patricia MS. Virulence-associated characteristics of *Enterococcus faecalis* strains isolated from clinical sources. *Braz J Microbiol* 2006; 37: 230-6.
5. Estrela C. Efficacy of calcium hydroxide dressing in endodontic infection treatment: A systemic review. *J Dent Sci* 2008; 23(1): 82-6.
6. Athanassiadis B. The use of calcium hydroxide, antibiotics, biocides, as antimicrobial medicament in endodontics. *Aust Dent J* 2007; 52(1 Suppl): S64-82.
7. Halackova Z, Kukletova M. Rinsing of the root canal. *Biomed J* 2003; 76(1): 49-54.
8. Wang Y, Spencer P. Analysis of acid-treated dentin smear debris and smear layers using confocal raman microspectroscopy. *J Biomed Mater Res* 2002; 60(2): 300-8.
9. Hubble TS, Hatton JF. Influence of *enterococcus faecalis* proteases and the collagen-binding protein, Ace,