

AKTIVITAS DAYA HAMBAT EKSTRAK ETANOL DAUN BELIMBING WULUH DAN SODIUM HIPOKLORIT TERHADAP *Enterococcus faecalis* (In Vitro)

Rohmatun Nisa, Isyana Erlita, Lia Yulia Budiarti

Program Studi Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin

ABSTRACT

Background: *Enterococcus faecalis* is gram-positive bacteria that cause the failure of root canal treatment. Effective method to eliminate *Enterococcus faecalis* in root canal by using sodium hypochlorite (NaOCl) 5.25%. Natural materials can be inhibiting the growth of gram-positive bacteria including *Enterococcus sp.* is a compound of tannins, saponins and flavonoids. **Purpose:** This study aims to know the differences of inhibition of the activity in ethanol extract of wuluh starfruit leaves (*Averrhoa bilimbi* L.) and sodium hypochlorite (NaOCl) 5.25% against *Enterococcus faecalis*. **Methods:** This study was using true experimental research design, post test-only with control group design that the treatments which being tested were ethanol extract of starfruit leaf 40%, 50%, 60% and NaOCl 5.25%. Antibacterial effect tested with diffusion method and the parameters measured by the amount of inhibition zone formed in the media of the test. The data analysis using Kruskal-Wallis test and next testing of Mann Whitney. **Results:** The results showed that ethanol extract of wuluh starfruit leaf with concentration 40%, 50%, 60% and NaOCl 5.25% against *Enterococcus faecalis* as measured from inhibition zone are 13.37 mm, 16.50 mm, 18.39 mm and 21.30 mm. The data analysis using Kruskal-Wallis test, the results this research is $p=0.000$ ($p<0.05$) then there are a differences in the inhibitory activity between each group, and next testing of Mann Whitney that results is $p=0.002$ ($p<0.05$) show meaningful differences between each group. **Conclusion:** The conclusion is the differences in the inhibitory activity of ethanol extract of starfruit leaf extract and sodium hypochlorite 5,25% against *Enterococcus faecalis*.

Keywords: Inhibition activity, ethanol extract of starfruit leaf, NaOCl 5.25%, *Enterococcus faecalis*

ABSTRAK

Latar Belakang: *Enterococcus faecalis* merupakan bakteri gram positif yang menyebabkan kegagalan perawatan saluran akar. Metode yang efektif untuk menghilangkan *Enterococcus faecalis* dari saluran akar adalah penggunaan sodium hipoklorit (NaOCl) 5,25%. Bahan alami yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif termasuk *Enterococcus sp* adalah senyawa tanin, saponin dan flavonoid. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan aktivitas daya hambat ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dan larutan sodium hipoklorit (NaOCl) 5,25% terhadap *Enterococcus faecalis*. **Metode:** Penelitian eksperimental ini menggunakan rancangan post test-only with control group design dengan perlakuan yang diuji yaitu ekstrak etanol daun belimbing wuluh 40%, 50%, 60% dan NaOCl 5,25%. Metode pengujian antibakteri menggunakan metode difusi dengan parameter yang diukur adalah besaran zona hambat yang terbentuk pada media uji. Analisis data menggunakan uji Kruskal-Wallis dan uji lanjut Mann Whitney. **Hasil:** Penelitian didapatkan bahwa dari perlakuan ekstrak etanol daun belimbing wuluh konsentrasi 40%, 50%, 60% dan NaOCl 5,25% terhadap *Enterococcus faecalis* diukur dari zona hambat berturut-turut adalah sebesar 13,37 mm, 16,50 mm, 18,39 mm dan 21,30 mm. Analisis data menggunakan uji Kruskal-Wallis didapatkan $p=0,000$ ($p<0,05$) maka terdapat perbedaan bermakna aktivitas daya hambat antar kelompok perlakuan dan uji lanjut Mann Whitney $p=0,002$ ($p<0,05$) menunjukkan adanya perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan. **Kesimpulan:** Terdapat perbedaan aktivitas daya hambat ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dan sodium hipoklorit (NaOCl) 5,25% terhadap *Enterococcus faecalis*.

Kata-kata kunci: Aktivitas daya hambat, ekstrak etanol daun belimbing wuluh, NaOCl 5,25%, *Enterococcus faecalis*

Korespondensi: Rohmatun Nisa, Program Studi Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Lambung Mangkurat, Jalan Veteran 128B, Banjarmasin, Kalimantan Selatan, email: rhmtnnisa@gmail.com

PENDAHULUAN

Bakteri *Enterococcus faecalis* merupakan bakteri gram positif di dalam rongga mulut dengan jumlah kecil. Bakteri *Enterococcus faecalis* dapat masuk ke dalam saluran akar melalui kerusakan gigi yang mencapai pulpa. *Enterococcus faecalis* bertanggung jawab terhadap 80-90% infeksi saluran akar oleh Enterococci dan merupakan satu-satunya spesies enterokokus yang diisolasi dari saluran akar yang telah dilakukan perawatan saluran akar. *Enterococcus faecalis* dapat bertahan dalam saluran akar tanpa dukungan dari bakteri lain. *Enterococcus faecalis* ini dapat menghasilkan perubahan patologis yang secara tidak langsung melalui proses inflamasi dan menyebabkan infeksi pada saluran akar.¹

Prevalensi keberadaan bakteri *Enterococcus faecalis* pada perawatan saluran akar yang gagal semakin meningkat dari tahun 1964-2004 sebesar 24% hingga 77%. *Enterococcus faecalis* memiliki faktor-faktor virulen. Hal ini meliputi *aggregation substance (AS)*, *surface adhesion*, *sex pheromones*, *lipoteichoic acid (LTA)*, *extracellular superoxide production (ESP)*, *gelatinase*, *hyalurodinase*, *AS-48* dan *cytolysin* yang menyebabkan *Enterococcus faecalis* dapat bertahan hidup di dalam saluran akar sebagai organisme tunggal dan resisten terhadap obat-obat antimikroba sehingga sulit dieliminasi dari saluran akar secara menyeluruh.^{2,3}

Perawatan saluran akar dengan irigasi berfungsi untuk menghilangkan debris atau *smear layer* yang mengandung bakteri. Salah satu bahan irigasi adalah sodium hipoklorit (NaOCl).^{4,5} Konsentrasi NaOCl yang bisa digunakan berkisar antara 0,5-5,25%.⁶ NaOCl sebagai larutan irigasi, harganya relatif murah, mudah didapatkan, tahan lama, berspektrum luas dan dapat membunuh semua mikroba nonspesifik, bakteri dan virus.⁷ NaOCl memiliki efek toksisitas bila mengenai jaringan periapikal yang dapat menimbulkan rasa sakit yang cepat (2-6 menit), pembengkakan jaringan lunak, pembengkakan menjalar ke daerah yang lebih luas diwajah (pada pipi, daerah periorbital maupun bibir) dan dapat menyebabkan ekimosis pada kulit atau mukosa akibat dari perdarahan interstitial.⁸ Efek perlakuan NaOCl 5,25% terhadap bakteri gram positif *Enterococcus faecalis* menghasilkan rata-rata zona hambat sebesar 21 mm.⁹

Irigasi saluran akar gigi dapat menggunakan bahan herbal. Bahan herbal mudah diperoleh, harga relatif murah dan dinilai lebih aman daripada penggunaan obat berbahan kimia. Salah satu bahan herbal di Indonesia yang dapat digunakan sebagai bahan irigasi saluran akar dalam kedokteran gigi adalah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.).¹⁰ Bagian daun belimbing wuluh memiliki kandungan zat aktif seperti flavonoid, saponin, tanin, sulfur, asam format, peroksidase, kalsium oksalat dan kalium sitrat. Tanin, flavonoid dan saponin yang memiliki aktivitas antibakteri.¹¹ Daun belimbing

wuluh pada konsentrasi 10,5%, 11%, dan 12% mempunyai daya anti bakteri terhadap bakteri mix saluran akar gigi, menggunakan konsentrasi yang dimulai dari konsentrasi 10,5%, karena pada konsentrasi minimal yang efektif dapat membunuh bakteri *Staphylococcus aureus*.¹²

Efek antibakteri ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) pada konsentrasi 10%, 20%, 30% dapat menghambat bakteri gram positif *Enterococcus faecalis*. Uji efektivitas ekstrak daun belimbing wuluh terhadap *Enterococcus faecalis* didapatkan zona hambat paling rendah pada konsentrasi 10% yaitu 7,5 mm dan zona hambat paling tinggi pada konsentrasi 30% yaitu 11,3mm.¹³ Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis perbedaan aktivitas daya hambat ekstrak etanol daun belimbing wuluh terhadap pertumbuhan *Enterococcus faecalis* jika digunakan sebagai alternatif bahan irigasi saluran akar dibanding dengan sodium hipoklorit (NaOCl) 5,25%.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorium murni (*true experimental*) dengan *post-test only with control group design* dengan 4 perlakuan. Perlakuan masing-masing diberikan ekstrak etanol daun belimbing wuluh 40%, 50%, 60% dan NaOCl 5,25% sebagai kontrol positif. Jumlah pengulangan untuk setiap perlakuan adalah 7 kali berdasarkan rumus *federer*. Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Agustus - November 2016 di Laboratorium FMIPA Universitas Lambung Mangkurat Banjarbaru dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas kedokteran Universitas Lambung Mangkurat Banjarmasin.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) 40%, 50%, 60% sodium hipoklorit (NaOCl) 5,25%, etanol 70%, isolat *Enterococcus faecalis*, media agar darah, media agar Muller Hinton (MH), aquades steril, media *Brain Heart Infusion (BHI)*, *paper disk* kosong, dan larutan standart Mc Farland I (3×10^8). Alat yang digunakan adalah pisau (*stainless steel*), neraca analitik, mortar dan stamper, *autoclave*, inkubator, tabung reaksi, cawan petri, ose bulat, lampu bunsen, kapas lidi steril, pipet tetes, *calliper* (skala millimeter), gelas beker, labu Erlenmeyer, alat pengaduk, kertas saring, *aluminum foil*, *laminatory flow*, *rotary evaporator*, dan *waterbath*.

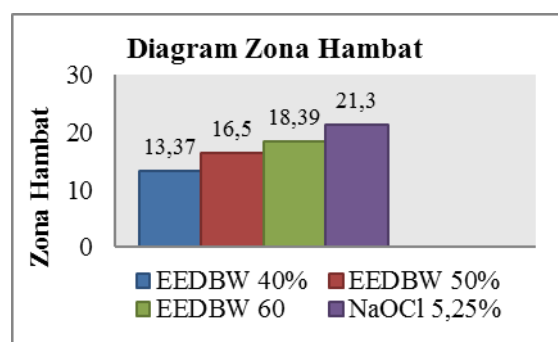
Pembuatan ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dilakukan dengan cara maserasi. Daun belimbing wuluh dicuci dengan air kemudian dikeringkan dengan cara dijemur di bawah sinar matahari secara tidak langsung. Menimbang daun yang sudah kering sebanyak 500 gram dan dihaluskan dengan blender, setelah itu masukkan ke dalam gelas maserasi dan tambahkan

etanol hingga simplisia terendam. Aduk rendaman setiap 4-6 jam sekali, setelah 24 jam di saring menggunakan kertas saring dan menampung cairan yang telah disaring pada gelas lainnya, lakukan sebanyak 3-4 kali perendaman per 24 jam untuk memisahkan dan mendapatkan ekstrak cair dari serbuk simplisia daun belimbing wuluh yang sudah dilarutkan dengan etanol. Ekstrak cair yang didapatkan kemudian dimasukkan kedalam *rotary evaporator* untuk menguapkan pelarut dari campuran yang terdiri dari zat terlarut dan pelarut sehingga diperoleh ekstrak cair pekat dan diuapkan di *waterbath* selama 6 jam sehingga diperoleh ekstrak kental daun belimbing wuluh, kemudian dilakukan pengenceran bertingkat sampai didapatkan larutan konsentrasi 40%, 50% dan 60%.

Pengujian aktivitas daya hambat terhadap bakteri *Enterococcus faecalis* dilakukan secara difusi. Isolat *Enterococcus faecalis* diperoleh dari pembiakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat Banjarmasin. Isolat *Enterococcus faecalis* diambil menggunakan ose steril dan dimasukkan kedalam larutan 10 ml media BHI cair. Diinkubasi selama 8 jam pada suhu 37°C, sehingga diperoleh suspensi *Enterococcus faecalis*. Suspensi *Enterococcus faecalis* diencerkan dengan menambahkan *aquadest* steril sehingga mencapai kekeruhan tertentu sesuai dengan standar *Mc Farland* atau setara jumlah bakteri 3×10^8 CFU/ml. Penelitian ini menggunakan metode difusi dilakukan dengan cara menyiapkan 28 *paper disk* di bagi dalam empat kelompok perlakuan yaitu ekstrak etanol daun belimbing wuluh 40%, 50%, 60% dan NaOCl 5,25% kemudian masukan *paper disk* kedalam empat kelompok perlakuan dan direndam selama 3 jam. Usapkan isolat *Enterococcus faecalis* pada setiap media MHA (*Mueller Hinton Agar*) diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, setelah itu ukur zona hambat yang terbentuk menggunakan *caliper* dalam satuan millimeter.

HASIL PENELITIAN

Data yang diperoleh dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat dilihat pada diagram batang berikut.



Gambar1 Rata-rata Zona Hambat Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh dan Sodium Hipoklorit 5,25% terhadap *Enterococcus faecalis*

Data menunjukkan adanya perbedaan variasi zona hambat yang terbentuk dari setiap perlakuan. Efek perlakuan ekstrak etanol daun belimbing wuluh konsentrasi 40%, 50%, 60% berturut-turut menghasilkan rata-rata zona hambat terhadap *Enterococcus faecalis* sebesar 13,37 mm, 16,50 mm, 18,39 mm dan perlakuan sodium hipoklorit (NaOCl) 5,25% menghasilkan rata-rata zona hambat sebesar 21,30 mm.

Uji statistik yang dilakukan adalah uji normalitas data dengan *Saphiro-wilk* dan uji homogenitas data dengan *Levene's test*. Hasil uji normalitas data ($p > 0,05$) adalah data perlakuan ekstrak etanol daun belimbing wuluh 40% dengan nilai $p = 0,268$, 50% dengan nilai $p = 0,034$, 60% dengan nilai $p = 0,100$ dan NaOCl 5,25% dengan nilai $p = 0,674$, hasil uji normalitas data menunjukkan bahwa satu data yang tidak terdistribusi normal sedangkan tiga buah data lainnya terdistribusi normal. Hasil uji homogenitas memiliki nilai $p = 0,716$ ($p > 0,05$) yang artinya data penelitian ini terdistribusi homogen. Uji non parametrik yaitu *Kruskal-wallis*, didapatkan nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$). Analisis data selanjutnya dengan menggunakan uji *Mann-Whitney* didapatkan nilai $p = 0,009$ ($p < 0,05$), sehingga terdapat perbedaan bermakna pada setiap kelompok perlakuan.

PEMBAHASAN

Ekstrak etanol daun belimbing wuluh konsentrasi 40%, 50% dan 60% memiliki aktivitas daya hambat terhadap *Enterococcus faecalis*. Daun belimbing wuluh memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri gram positif *Enterococcus faecalis* karena mengandung tanin, saponin dan flavonoid.¹¹ Senyawa tanin memberikan sifat antibakteri dengan cara merusak membran sel sehingga bakteri akan rusak dan mati. Saponin bekerja sebagai antibakteri dengan mengganggu stabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan sel bakteri lisis. Flavonoid bekerja sebagai antibakteri dengan mengganggu fungsi membran sel yang menyebabkan bocornya metabolit penting yang menginaktifkan sistem enzim bakteri.^{14,15}

Perlakuan ekstrak etanol daun belimbing wuluh konsentrasi 60% memiliki efek aktivitas daya hambat lebih besar dibandingkan perlakuan dibawahnya yaitu konsentrasi 40% dan 50% yang menunjukkan bahwa semakin meningkatnya konsentrasi ekstrak etanol daun belimbing wuluh maka akan meningkatkan zona hambat terhadap *Enterococcus faecalis*. Semakin tinggi konsentrasi perasan daun belimbing wuluh maka semakin besar zona hambat yang terbentuk sehingga koloni yang

terbentuk disekitar perlakuan sedikit.¹⁶ Ekstrak etanol daun belimbing wuluh konsentrasi 60% aktivitas daya hambatnya masih dibawah NaOCl 5,25%.

Pada penelitian ini konsentrasi sodium hipoklorit yang digunakan adalah 5,25%, penggunaan konsentrasi sodium hipoklorit mencapai 5,25% merupakan konsentrasi yang sangat toksik terhadap jaringan vital terutama jaringan periapikal gigi. Sodium hipoklorit mempunyai pH 12-13, yang menyebabkan larutan sodium hipoklorit menjadi toksik serta lebih kaustik.⁸ Asam hipoklorit yang terdapat dalam larutan sodium hipoklorit bertindak sebagai pelarut apabila berkontak dengan jaringan organik, dan akan membebaskan klorin. Klorin yang bergabung dengan protein amino akan membentuk kloramin. Reaksi kloramin terjadi antara klorin dan gugus amino (NH) membentuk kloramin yang akan mengganggu metabolisme sel. Klorin mempunyai aksi antimikroba dan menghambat enzim bakteri, merusak sintesis DNA dan menghidrolisis asam amino.^{17,18} Penelitian sebelumnya tentang efektivitas sodium hipoklorit (NaOCl) 5,25% dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif *Enterococcus faecalis* dengan zona hambat sebesar 21 mm.⁹

Dapat disimpulkan yaitu terdapat perbedaan aktivitas daya hambat ekstrak etanol daun belimbing wuluh dan sodium hipoklorit terhadap *Enterococcus faecalis*. Ekstrak etanol daun belimbing wuluh konsentrasi 60% memiliki aktivitas daya hambat lebih besar dibanding konsentrasi dibawahnya, tetapi aktivitas daya hambatnya masih dibawah sodium hipoklorit 5,25%. Peneliti menyarankan sebaiknya dilakukan penelitian lebih lanjut dengan konsentrasi diatas 60% agar efek aktivitas daya hambat terhadap bakteri *Enterococcus faecalis* dapat setara dengan NaOCl 5,25%.

DAFTAR PUSTAKA

- Howarto MS, Wowor PM, Mintjelungan CN. Uji Efektivitas Antibakteri Minyak Atsiri Sereh Dapur Sebagai Bahan Medikamen Saluran Akar Terhadap Bakteri *Enterococcus Faecalis*. Jurnal PDGI. 2015; 3 (2): 433.
- Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB. *Enterococcus faecalis*: Its Role in Root Canal Treatment Failure and Current Concepts in Treatment. J Endod. 2006; 32(2): 94.
- Charyadie FL, Adi S, Sari RP. Daya Hambat Ekstrak Daun Alpukat (*Persea americana*, Mill.) Terhadap Pertumbuhan *Enterococcus faecalis*. Jurnal Kedokteran Gigi Denta. 2014; 8 (1): 2-3.
- Gulabivala K, NG Yuan-Ling. Endodontics 4th Edition. Mosby: Elsevier. 2014. p.1.
- Grossman LI. Ilmu Endodontik Dalam Praktek. Edisi Kesebelas. Jakarta: EGC. 2013. Hal: 205.
- Wintarsih O, Partosoedarmo M, Santoso P. Kebocoran Apikal Pada Irigasi Dengan EDTA Lebih Kecil Dibandingkan yang Tanpa EDTA. Jurnal PDGI. 2009; 58 (2): 14-19.
- Rahimi S, Janani M, Lotfi M, Shahi S, Aghbali A, Pakdel MV, et al. A Review of Antibacterial Agents in Endodontic Treatment. Iranian Endodontic Journal. 2014; 9 (3): 161-168.
- Mehdipour O, Kleir DJ, Averbach RE. Anatomy of Sodium Hypochlorite Accidents. Compend Cont Educ Dent. 2007; 28 (10): 5.
- Hardianti DP. Perbandingan Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kunyit dan Natrium Hipoklorit (NaOCl) 5,25% Terhadap *Enterococcus faecalis* [skripsi] Banjarmasin: Universitas lambung Mangkurat. 2016. Hal:33.
- Darjono UNA. Analisis Minyak Atsiri Serai (*Cymbopogon citratus*) Sebagai Alternatif Bahan Irigasi Saluran Akar Gigi Dengan Menghambat Pertumbuhan *Enterococcus faecalis*. Majalah Ilmiah Sultan Agung. 2011; 49 (124): 1-10.
- Pendit PA, Zubaidah E, Sriherfyna FH. Karakteristik Fisik-Kimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) Jurnal Pangan dan Agroindustri. 2016; 4 (1): 400-409.
- Savitri NP. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) Terhadap Bakteri Mix Saluran Akar Gigi. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Mahasarwati Denpasar. 2014. Hal:45.
- Amalia RI. Perbandingan Efek Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle L.*) dalam Menghambat Bakteri *Enterococcus fecalis*. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Syiah Kuala Darussalam Banda Aceh. 2015. Hal:35.
- Ardananurdin A, Winarsih S, Widayat M. Uji Efektivitas Dekok Bunga Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) Sebagai Antimikroba Terhadap Bakteri *Salmonella Typhi* Secara In Vitro. Jurnal Kedokteran Brawijaya. 2014; 20 (1): 30-34.
- Riwayati D. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) Terhadap *Eschericia coli* dan *Bacillus sp.* Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. 2012. Hal:6-12.
- Sari M, Suryani C. The Effect of Leaf Extract Starfruits (*Averrhoa Bilimbi L.*) in Inhibition The Growth of Fungus *Candida Albicans* with In Vitro. Prosiding Seminar Nasional Biologi dan Pembelajarannya. Medan. 2014. Hal: 329.

17. Kunjai S, Shah S. Review on Common Root Canal Irrigants. *Journal of Dental Science*. 2007; 2 (2): 27-31.
18. Alfina R. Perubahan Kekerasan Dentin pada Saluran Akar Setelah Aplikasi NaOCl 3%, Kombinasi NaOCl 3% - EDTA 17% dan NaOCl 3% - Klorheksidin 2%. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin. Makasar. 2014. Hal:11.