

ANTIBACTERIAL POTENCY OF ETHANOL EXTRACT SIAM WEED (*Eupatorium Odoratum L.*) AGAINST OF *Porphyromonas gingivalis* (in vitro)

Naoful Puyu¹, Dyah Triswari²

¹Dentistry Student, Faculty of Medicine and Health Science UMY

²Oral Biology and Biomedical Sciences Department, Faculty of Medicine and Health Science UMY

nao.alamin@gmail.com

ABSTRACT

Background: Bacteria *Porphyromonas gingivalis* is the most common gram negative bacteria in people with periodontitis. *Porphyromonas gingivalis* growth of nearly 85% meets inflammatory gums and is rarely found in healthy gums. Beside those synthetic medicaments, as an alternative non-synthetic medicament that can be applied is natural biological compound-related medicament harboring antibacterial potency. One of the candidate is ethanol extract of Siam weed. **Purpose:** This study aims to assess the inhibitory of the *Porphyromonas gingivalis* due to the addition siam weed. **Methods:** This research was conducted by experimental laboratory in vitro. Liquid dilution method was used using Tryptose Phosphate Broth media while the measurement of turbidity was performed by using Spectrophotometer UV-vis. Extracts ethanol of siam weed were tested on the bacteria *Porphyromonas gingivalis* into some concentrations: 1.55%; 0,78%; 0.39 and 0.19% based on the weight/volume (w/v). **Results:** All tested concentrations can inhibit the inhibitory rate of *Porphyromonas gingivalis* bacteria. The most effective concentration against bacterial growth rate was 0.78% and 1.55% ($p < 0.05$). **Conclusion:** The etanol extract of Siam weed effectively inhibit the growth of *Porphyromonas gingivalis* bacteria.

Keywords: Inhibitory of bacterial growth, *Porphyromonas gingivalis*, ethanol extract of siam weed(*Eupatorium odoratum L.*)

INTISARI

Latar belakang: *Porphyromonas gingivalis* adalah bakteri patogen yang sering dijumpai pada jaringan periodontal yang mengalami peradangan. Untuk mengobati penyakit periodontal, beberapa obat kimia dapat diberikan. Selain obat kimia, alternatif pengobatan adalah menggunakan obat herbal yang mengandung efek antibakteri. Salah satunya adalah Gulma siam. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat ekstrak etanol Gulma siam terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis*. **Metode:** Jenis penelitian yang dilakukan adalah eksperimental laboratorium secara *in vitro*. Metode yang digunakan adalah dilusi cair pada media Tryptose Phosphate Broth yang dilanjutkan dengan pengukuran kekeruhan dengan *Spectrophotometer UV-vis*. Ekstrak etanol Gulma siam yang diujikan pada bakteri *P.gingivalis* terdiri dari berbagai konsentrasi : 1.55%; 0.78%; 0,39%; dan 0,19% berdasarkan berat/volume (w/v). **Hasil:** konsentrasi yang diujikan dapat menghambat pertumbuhan serta membunuh bakteri *Porphyromonas gingivalis* adalah 0.78% dan 1.55%. Konsentrasi yang paling efektif dalam menghambat laju pertumbuhan bakteri adalah 1.55% ($p < 0,05$). **Kesimpulan:** Ekstrak etanol Gulma Siam (*Eupatorium Odoratum L.*) secara efektif dapat membunuh bakteri *Porphyromonas gingivalis*.

Kata kunci : Menghambat pertumbuhan bakteri, *Porphyromonas gingivalis*, ekstrak etanol Gulma siam (*Eupatorium odoratum L.*)

Pendahuluan

Bakteri *Porphyromonas gingivalis* adalah bakteri gram negatif yang paling banyak ditemui pada penderita periodontitis. Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* hampir 85% bertemu pada gusi yang mengalami inflamasi dan jarang ditemui pada gusi yang sehat. Bakteri *Porphyromona* bertumbuh dengan cara anaerob⁶.

Bakteri *Porphyromonas gingivalis* merupakan bakteri Gram negatif obligat anaerob, umumnya terdapat pada daerah *sulcus gingiva* dalam rongga mulut dan merupakan mikroflora normal yang dapat menjadi patogen sehingga dapat menimbulkan reaksi peradangan pada jaringan periodontal¹.

Ekstrak Etanol Gulma siam dapat digunakan sebagai agen antibakteri karena memiliki senyawa yang bersifat sebagai antibakteri yaitu flavonoid, Tanin, kumarin. Senyawa-senyawa turunan/ derivat flavonoid yang paling sering ditemukan dalam Gulma siam adalah 5,7-dihydroxy -6, 4 dimethoxyflavonone, trimethoxyflvonone, trihydroxyflavonone dan senyawa gel⁷.

Penelitian ini mengujikan Gulma siam (*Eupatorium Odoratum L.*) yang di ambil dari di daerah Kasihan, Bantul, Yogyakarta. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui daya antibakteri ekstrak etanol Gulma siam (*Eupatorium Odoratum L.*) terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Manfaat hasil penelitian ini dapat menjadi acuan sebagai upaya penggunaan Gulma siam (*Eupatorium Odoratum L.*) sebagai medikamen antibakteri alternatif.

Metode

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimen laboratorium secara *in vitro* tentang daya antibakteri ekstrak Gulma siam (*Eupatorium Odoratum L.*) terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis* secara *in vitro*. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Teknologi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus-September 2017.

Bakteri *Porphyromonas gingivalis* diperoleh dari Balai Laboratorium Kesehatan (BLK) Kota Yogyakarta. Pembuatan suspensi bakteri dilakukan dengan cara pengambilan beberapa koloni bakteri dengan menggunakan ose lalu dimasukkan dalam media Tryptose Phosphate Broth sebanyak 20 ml, lalu diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37⁰ C.

Dalam penelitian ini, percobaan dilakukan dengan *triplicate* sehingga terdapat 21 tabung reaksi yang digunakan dalam percobaan ini. Setiap tabung reaksi diisi dengan media Tryptose Phosphate Broth sebanyak 4,8 ml. Selanjutnya menambahkan tiap-tiap konsentrasi pada masing-masing 3 tabung. Konsentrasi diperoleh berdasarkan perbandingan berat dan volume (w/v). Ke dalam 15 tabung pertama dimasukkan konsentrasi 1.55%; 0.78%; 0.39%; dan 0.19% dengan prinsip *triplicate*. Pada 6 tabung berikutnya dimasukkan kontrol positif berupa antibiotik *Clindamycin* dan kontrol negatif berupa aquades steril. Pada 3 tabung terakhir tidak diberikan perlakuan (*untreated*). Setelah ke-24 tabung siap, ditambahkan 200 µl bakteri yang diambil dari suspensi sebelumnya lalu mulai diukur dengan Spektrofotometer untuk mendapatkan Optical Density (OD) yang dalam hal ini menggambarkan kekeruhan. Sebelum dilakukan pengukuran, tabung diaduk dengan vortex agar larutan homogen. Setelah semua tabung reaksi diukur, data yang diperoleh dicatat sebagai t₀. Selanjutnya tabung tersebut kembali dimasukkan ke dalam inkubator selama 6 jam dan dilakukan pengukuran kedua yang dicatat sebagai t₂, pengambilan data dilakukan sampai interval waktu ke-5 (t₄).

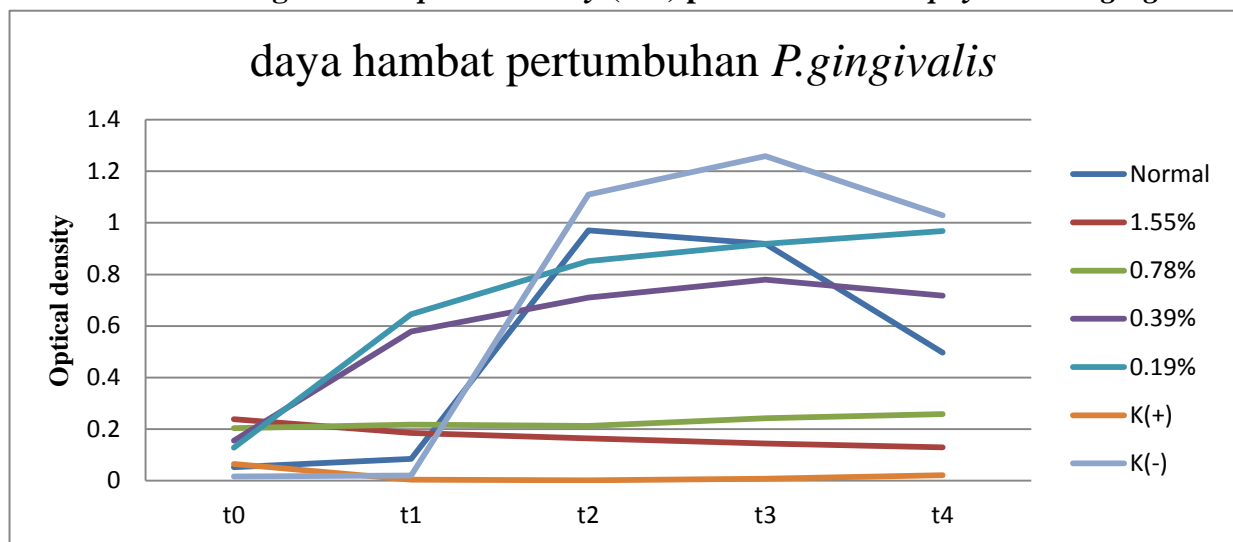
Data yang diperoleh selanjutnya akan dibandingkan dalam bentuk tabel dan kurva. Analisis data menggunakan program SPSS (*Statistical Package for the Social Science*) kemudian dilakukan uji normalitas dengan *Shapiro-wilk* dikarenakan jumlah sample kurang dari 50 sample, uji hipotesis dengan data berdistribusi tidak normal maka uji hipotesis menggunakan *one way ANOVA* dan uji *post hoc*

Hasil

Penelitian ini menggunakan metode dilusi cair dan pengukuran dengan spektrofotometer uv-vis. Metode tersebut digunakan untuk mengetahui konsentrasi yang dapat menghambat laju pertumbuhan bakteri dilusi. Hasil penelitian dapat dilihat pada tabel dan kurva berikut.

Interval waktu	OD Kelompok Perlakuan						
	Normal	1.55%	0.78%	0.39%	0.19%	K(+)	K(-)
t0	0.052	0.238	0.204	0.155	0.128	0.065	0.016
t1	0.085	0.185	0.217	0.578	0.646	0.004	0.02
t2	0.971	0.164	0.212	0.71	0.852	0.002	1.11
t3	0.919	0.144	0.2426	0.78	0.918	0.008	1.259
t4	0.497	0.129	0.259	0.718	0.968	0.022	1.029

Tabel 1. Hasil Pengukuran *Optical Density* (OD) pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*.



Gambar 1. Kurva laju pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* selama 48 jam

Berdasarkan tabel dan gambar 1 di atas dapat disimpulkan bahwa konsentrasi ekstrak etanol Gulma siam (*Eupatorium odoratum* L.) yang paling menghambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* adalah konsentrasi 0.15%.

Pembahasan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, semua konsentrasi ekstrak etanol propolis (EEP) yang diujikan yaitu 1.55%; 0.78%; 0.39%; dan 0.19% dapat membunuh bakteri *Porphyromonas gingivalis* jika dibandingkan dengan kelompok tanpa perlakuan (*untreated*). Hasil pengukuran pada kelompok kontrol negatif dengan menggunakan aquades, menunjukkan adanya peningkatan nilai *Optical Density* (OD) yang hampir sama dengan kelompok *untreated*. Hal ini disebabkan oleh aquades yang memiliki sifat netral dan tidak memiliki sifat antibakteri.

Hasil pengukuran pada kelompok kontrol positif dengan menggunakan antibiotik *Doxycycline* sangat efektif dalam menghambat laju pertumbuhan bakteri.

Gambar 1 di atas menunjukkan grafik pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Gambar 1 menjelaskan bahwa konsentrasi 1.55% merupakan konsentrasi yang paling efektif menghambat laju pertumbuhan bakteri dibandingkan dengan konsentrasi lainnya. Konsentrasi 0.39% dan 0.19% memiliki efek penghambatan laju pertumbuhan yang kurang efektif dibandingkan dengan konsentrasi lainnya.

Bakteri *Porphyromonas gingivalis* merupakan bakteri gram negatif obligat anaerob. *Porphyromonas gingivalis* memiliki lapisan pada bagian membran luar yang berfungsi sebagai pertahanan diri yang disebut kapsul. Lapisan ini melindungi bakteri khususnya bakteri gram negatif dari efek bakteriosidal dari antibiotik⁵

Kemampuan ekstrak etanol Gulma siam dalam membunuh bakteri *Porphyromonas gingivalis* disebabkan adanya efek antibakteri dari Gulma siam yang diduga bersumber dari keberadaan senyawa *flavonoid*² tanin dan arsen. Antibakteri dari propolis disebabkan oleh *flavonoid* yang membentuk ikatan hidrogen dan terikat pada asam nukleat yang mengakibatkan penghambatan sintesis DNA dan RNA bakteri⁴.

Berdasarkan Gambar 1 di atas menunjukkan konsentrasi 0.78% dan 1.55% yang diujikan pada penelitian ini mampu menghambat bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Hasil yang diperoleh mendukung diterimanya hipotesis yang diajukan pada penelitian ini, yang menyatakan bahwa ekstrak etanol Gulma siam (*Eupatorium odoratum L.*) dapat menghambat laju pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*.

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak etanol Gulma siam (*Eupatorium Odoratum L.*) mempunyai daya antibakteri terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis*.
2. Daya antibakteri ekstrak Gulma siam (*Eupatorium Odoratum L.*) terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis* bersangkutan dengan besarnya konsentrasi yang diberikan.

Saran

1. Perlu uji dengan ekstrak etanol Gulma siam dengan konsentrasi etanol yang berbeda.
2. Perlu uji ekstrak Gulma siam dengan bahan penyaring yang berbeda dan membandingkan hasil yang didapat.
3. Perlu uji keawetan ekstrak Gulma siam sehingga dapat waktu yang paling efektif untuk melakukan penelitian
4. Perlu kalibrasi alat mengukur

Daftar Pustaka

1. Bostanci, N., Belibasakis, G.N., 2012. *Porphyromonas gingivalis*: an invasive and evasive opportunistic oral pathogen. *FEMS Microbiol Lett*, 333: 1–9.
2. Gebara, E.C.E., Lima, L.A., Mayer, M.P.A., 2002. Propolis Antimicrobial Activity Against Periodontopathic Bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology*, 33: 365-369.
3. Hemaiswarya, S., Doble, M., 2010. Synergistic interaction of phenylpropanoids with antibiotics against bacteria. *Journal of medical microbiology*, 59: 1469-1476.
4. Kumar, S. Pandey, A.K., 2013. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal*, 13: 1-16.
5. Singh, A., Wyant, T., Anaya-Bergman, C., Aduse-Opoku, J., Brunner, J., Laine, M.L., Curtis, M.A., Lewis, J.P., 2011. The Capsule of *Porphyromonas gingivalis* Leads to a Reduction in the Host Inflammatory Response, Evasion of Phagocytosis, and Increase in Virulence. *Infection and Immunity*, 79 (11): 4533-4542.
6. Enerson, M., Nakano, K., Amano, A., 2013. *Porphyromonas gingivalis* Fimbriae. *Journal of oral microbiology*, 2013 (5): 1-10.
7. Pisutthanan, N., Liawrungrath, S., Bremmer, B and Liawrungrath, B., 2005. Chemical Constituents and Biological of *Chromolaena odorata*. Chiangmai University, Chiangmai.
8. Wade, W.G., 2009. The Normal Oral Microbiota. Dalam Henderson, B., Curtis, M.A., Seymour, R.M., Donos, N: *Periodontal Medicine and System Biology*, Iowa : Blackwell.