

**EFEK EKSTRAK DAUN MAHKOTA DEWA (*Phaleria macrocarpa*)
SEBAGAI PENGHAMBAT PEMBENTUKAN BIOFILM PADA *Streptococcus mutans*
SECARA *IN VITRO***

Roekistiningsih*, Diwya Nugrahini Hapsari, Hanadia Almira*****

*Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

**Departemen Prostodonsia PSPDG Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

***Mahasiswa PSPDG Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

Email: tining_har@ub.ac.id

ABSTRAK

Streptococcus mutans adalah bakteri yang berperan dalam terjadinya karies yang merupakan salah satu penyakit yang paling umum terjadi pada sebagian besar individu. Karies diawali oleh biofilm. Terbentuknya biofilm menyebabkan penurunan sensitivitas antibiotik dan antimikroba. Daun mahkota dewa diketahui memiliki efek antibakteri. Oleh karena itu, diperlukan penelitian untuk mengetahui efek ekstrak daun mahkota dewa sebagai penghambat pembentukan biofilm pada *Streptococcus mutans*. Rancangan penelitian ini adalah *true experimental post test only group design* menggunakan *Microtiter Plate Assay* dengan cara menganalisis *Optical Density* (OD) biofilm bakteri dari *ELISA reader*. Konsentrasi ekstrak daun mahkota dewa yang digunakan yaitu 0% sebagai kelompok kontrol, 0,015%, 0,0075%, 0,00375%, 0,0018% dan 0,0009%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun mahkota dewa pada konsentrasi 0,0009%, yang merupakan konsentrasi ekstrak terendah pada penelitian ini, sudah dapat menghambat pembentukan biofilm *Streptococcus mutans*. Hasil uji statistik *Kruskal-Wallis* (nilai signifikansi = 0,010) menunjukkan bahwa ekstrak daun mahkota dewa memiliki efek penghambat pembentukan biofilm pada *Streptococcus mutans*. Hasil uji statistik korelasi *Pearson* (nilai korelasi (r) = -0,541) menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak daun mahkota dewa berbanding terbalik dengan *Optical Density* (OD) biofilm *Streptococcus mutans* dengan pengaruh sedang kuat.

Kata kunci: Daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*), biofilm, *Streptococcus mutans*.

ABSTRACT

Streptococcus mutans is the bacterial that play a role in the occurrence of caries which is a disease most commonly occurs in major individual. Caries is started by biofilms. Biofilm formation causes a decrease in antibiotic and antimicrobial sensitivity. Mahkota dewa leaves known to have antibacterial effects. Therefore, research is needed to know the effect of mahkota dewa leaves extract as *Streptococcus mutans* biofilm formation inhibitor. This research design was *true experimental post test only group design* using *Microtiter Plate Assay* by measuring the bacterial biofilms *Optical Density* (OD) of *ELISA reader* results. The mahkota dewa leaves extract concentrations used were 0% as the control group, 0,015%, 0,0075%, 0,00375%, 0,0018% and 0,0009%. The results showed that mahkota dewa leaves extract at a concentration 0,0009%, which is the lowest concentration of the extract in this research, was able to inhibit *Streptococcus mutans* biofilm formation. The results of *Kruskal-Wallis* statistical test (significant value = 0,010) showed that mahkota dewa leaves extract has effect as *Streptococcus mutans* biofilm formation inhibitor. The results of *Pearson* correlation statistical test (correlation value (r) = -0,541) showed that mahkota dewa leaves extract concentrations is inversely propotional to *Streptococcus mutans* biofilm *Optical Density* (OD) with strong moderate effect.

Keyword: Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) leaves, biofilm, *Streptococcus mutans*.

LATAR BELAKANG

Streptococcus mutans sering ditemukan pada rongga mulut, faring dan usus¹. Bakteri tersebut merupakan flora normal rongga mulut dan berperan dalam terjadinya karies². Bakteri ini berbentuk kokus yang tersusun dalam bentuk rantai dan termasuk kelompok bakteri gram positif³.

Karies merupakan salah satu penyakit yang paling umum terjadi pada sebagian besar individu². Karies lebih banyak terjadi pada negara berkembang daripada negara maju karena pada negara maju terjadi peningkatan kesadaran terhadap kesehatan dan kebersihan rongga mulut. Karies permukaan enamel umum terjadi hingga usia 20 tahun, setelah itu cenderung stabil. Setelah usia 20 tahun, terjadi peningkatan prevalensi karies permukaan akar karena resesi gingiva mengekspos sementum yang rentan terhadap bakteri².

Terjadinya karies diawali oleh lapisan tipis biofilm yang terdiri dari sel-sel bakteri, saliva dan debris makanan, yang melekat pada permukaan gigi. Biofilm yang tidak terkontrol dapat dengan mudah mencapai ketebalan hingga ratusan sel pada permukaan gigi. Biofilm yang terbentuk, disebut juga plak, menyediakan daerah perlekatan yang baik untuk kolonisasi dan pertumbuhan berbagai macam bakteri, khususnya *Streptococcus mutans*⁴. *Streptococcus mutans* dapat memfermentasikan karbohidrat menjadi asam sehingga terjadi penurunan pH rongga mulut⁴. Hal tersebut mengakibatkan terjadinya demineralisasi permukaan gigi yang merupakan proses awal terjadinya karies.

Pencegahan karies dilakukan dengan cara mengurangi konsumsi karbohidrat atau mengganti dengan pemanis yang non-kariogenik, flouridasi, aplikasi *fissure sealants* dan mengurangi flora kariogenik².

Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) merupakan tanaman asli Indonesia. Mahkota dewa populer karena kemampuannya dalam mengobati berbagai macam penyakit⁵. Hampir semua bagian dari tanaman mahkota dewa, meliputi buah, biji, batang dan daun, dapat digunakan sebagai obat⁶. Tanaman ini telah digunakan untuk mengobati berbagai macam penyakit, yaitu kanker, tumor, diabetes melitus, hipertensi, hepatitis, rematik, asam urat, penyakit kulit, gangguan ginjal, alergi, asma, ambeien, stroke, dan migrain⁵. Kandungan daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) memiliki efek antibakteri. Senyawa yang terkandung dalam daun ini meliputi saponin, alkaloid, flavonoid, tanin, lignan, resin, dan benzophenones. Flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin dilaporkan memiliki efek antibakteri sehingga dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*^{5,7}.

Pemanfaatan efek antibakteri daun mahkota dewa dalam bidang kedokteran gigi masih kurang. Oleh karena itu, diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai efektivitas antibakteri pada ekstrak daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) sebagai penghambat pembentukan biofilm pada *Streptococcus mutans* untuk mencegah karies.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek dan hubungan ekstrak daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) sebagai

penghambat pembentukan biofilm pada *Streptococcus mutans* secara *in vitro*. Hasil dari penelitian ini dapat memberi informasi mengenai potensi ekstrak daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) sebagai penghambat pembentukan biofilm pada *Streptococcus mutans* secara *in vitro* dan menjadi langkah awal untuk penelitian lebih lanjut mengenai biofilm sehingga dapat membantu terapi preventif kedokteran gigi dalam mencegah terjadinya karies.

METODOLOGI PENELITIAN

Desain Penelitian

Desain penelitian ini merupakan *true experimental post test only group design* dengan menggunakan metode *Congo Red Agar* untuk mengidentifikasi bakteri *Streptococcus mutans* pembentuk biofilm dan menggunakan *Microtiter Plate Assay* untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap hambatan pembentukan biofilm pada *Streptococcus mutans*. Kelompok kontrol adalah kelompok yang tidak mendapat perlakuan berupa pemberian ekstrak. Kelompok perlakuan adalah kelompok yang mendapat perlakuan berupa pemberian ekstrak dengan konsentrasi 0,015%, 0,0075%, 0,00375%, 0,0018% dan 0,0009%. Pada penelitian ini masing-masing perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali. Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Brawijaya Malang pada bulan November 2012 hingga Januari 2013.

Prosedur Penelitian

Streptococcus mutans pada penelitian ini diisolasi dari karies gigi pasien dan diidentifikasi di Universitas Airlangga Surabaya yang kemudian dikultur ulang di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Brawijaya Malang.

Isolat bakteri *Streptococcus mutans* diidentifikasi dengan pewarnaan gram, tes katalase, dan tes optochin. Dilakukan metode *Congo Red Agar* untuk mengidentifikasi bakteri *Streptococcus mutans* pembentuk biofilm. Setelah itu, melakukan ekstraksi daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Dilanjutkan dengan pembuatan perbenihan cair bakteri *Streptococcus mutans* sehingga didapatkan konsentrasi suspensi bakteri $0,5 \times 10^6$ hingga $2,5 \times 10^6$ CFU/mL yang digunakan untuk uji hambat pembentukan biofilm.

Deteksi Pembentukan Biofilm dilakukan menggunakan *Congo Red Agar Method*^{4,6}. *Streptococcus mutans* diinokulasi pada *Congo Red Agar Plates* dan diinkubasi selama 24 – 48 jam pada suhu 37°C secara anaerobik.

Uji Hambat Pembentukan Biofilm dilakukan dengan mengkultur *Streptococcus mutans* selama 24 jam dan dilakukan dilusi hingga 1:100 pada *Brain Heart Infusion* (BHI) dengan sukrosa 1%. Kemudian 0,1 mL *Streptococcus mutans* konsentrasi 10^6 bakteri/mL diisikan pada *96-well flat-bottomed plastic tissue culture plate*. Ekstrak daun mahkota dewa diukur lalu dimasukkan ke dalam masing-masing *96-well flat-bottomed plastic tissue culture plate* yang steril dengan konsentrasi 0% sebagai

kelompok kontrol, 0,015%, 0,0075%, 0,00375%, 0,0018%, dan 0,0009%. Selanjutnya Mikrotiter diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Untuk menganalisis secara kuantitatif pembentukan biofilm, ditambahkan 0,2 mL isopropanol di setiap well. Hasil *Microtiter Plate Assay* akan didapatkan suatu nilai yaitu *Optical Density* (OD) dari biofilm yang terbentuk pada *microtiter plate*. *Optical Density* (OD) ini dihitung menggunakan *ELISA reader*. Hasil dari penghitungan tersebut kemudian dianalisis untuk menjawab pertanyaan dari tujuan penelitian ini.

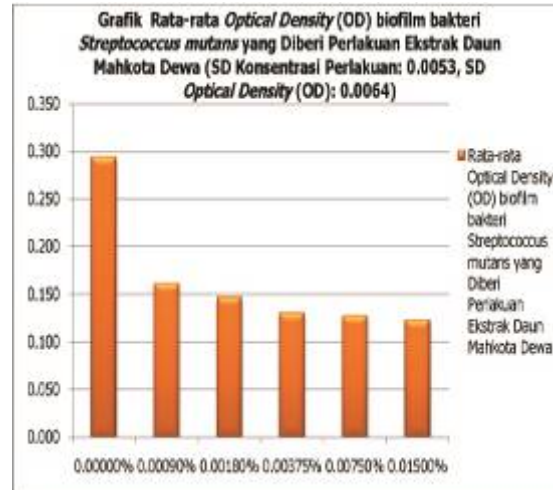
Analisis Data

Data terlebih dahulu dilakukan uji distribusi normalitas menggunakan tes *Shapiro – Wilk* dan uji homogenitas varian menggunakan tes *Levene* untuk mengetahui data terdistribusi normal dan homogen. Apabila data tidak terdistribusi normal, analisis data yang digunakan adalah *Kruskal – Wallis*. Hubungan antara variabel diuji menggunakan uji korelasi Pearson. Uji statistik dilakukan dengan derajat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$).

HASIL PENELITIAN

	0%	0,0009%	0,0018%	0,00375%	0,0075%	0,015%
Pengulangan 1	0,275	0,134	0,123	0,117	0,109	0,104
Pengulangan 2	0,279	0,154	0,146	0,120	0,112	0,113
Pengulangan 3	0,296	0,158	0,157	0,140	0,132	0,121
Pengulangan 4	0,326	0,197	0,161	0,142	0,157	0,152
Rata-rata	0,294	0,161	0,147	0,130	0,127	0,123

Tabel 1. Hasil *Optical Density* (OD) biofilm bakteri *Streptococcus mutans* yang diberi perlakuan ekstrak daun mahkota dewa



Gambar 1. Grafik rata-rata *Optical Density* (OD) biofilm bakteri *Streptococcus mutans* yang diberi perlakuan ekstrak daun mahkota dewa

Berdasarkan tabel hasil *Optical Density* (OD) biofilm bakteri *Streptococcus mutans* yang diberi perlakuan ekstrak daun mahkota dewa menunjukkan bahwa Ekstrak daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dengan konsentrasi terendah, yaitu 0,0009% sudah memiliki efek yang signifikan dalam menghambat pembentukan biofilm pada *Streptococcus mutans* secara *in vitro* dengan nilai rata-rata 0,161.

Sedangkan dari grafik grafik Rata-rata *Optical Density* (OD) biofilm bakteri *Streptococcus mutans* yang diberi perlakuan ekstrak daun mahkota dewa memiliki hubungan korelasi yang signifikan terhadap penghambatan pembentukan biofilm pada *Streptococcus mutans* secara *in vitro*. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun mahkota dewa yang diberikan, maka nilai *Optical Density* (OD) biofilm bakteri semakin rendah dengan pengaruh sedang kuat.

Data hasil penelitian terlebih dahulu dilakukan uji distribusi normalitas menggunakan tes

Shapiro-Wilk untuk mengetahui data terdistribusi normal atau tidak. Hasil uji distribusi normalitas pada penelitian ini menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,000 sehingga diketahui bahwa data tidak terdistribusi normal. Kemudian data diuji menggunakan uji statistik *Kruskal-Wallis*. Hasil uji statistik *Kruskal-Wallis* pada penelitian ini menunjukkan nilai signifikansi (p) sebesar 0,010. Karena $p < \alpha$ ($0,010 < 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa *Optical Density* (OD) biofilm *Streptococcus mutans* antar kelompok perlakuan terdapat perbedaan yang signifikan.

Karena dari hasil uji *Kruskal-Wallis* diketahui bahwa *Optical Density* (OD) biofilm *Streptococcus mutans* antar kelompok perlakuan terdapat perbedaan yang signifikan, maka dilakukan uji lanjutan *Mann-Whitney*. Berdasarkan hasil uji *Mann-Whitney* didapatkan nilai signifikansi kurang dari $\alpha = 0,05$ sehingga diketahui bahwa *Optical Density* (OD) biofilm *Streptococcus mutans* kelompok kontrol positif memiliki perbedaan yang signifikan dibanding kelompok perlakuan dengan konsentrasi ekstrak daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*). Selain itu, dari hasil uji *Mann-Whitney* diketahui pula apabila *Optical Density* (OD) biofilm *Streptococcus mutans* kelompok perlakuan dengan konsentrasi ekstrak daun mahkota dewa 0,0009% memiliki perbedaan yang signifikan dibanding kelompok perlakuan dengan konsentrasi ekstrak daun mahkota dewa 0,015%. Sedangkan, antar kelompok perlakuan dengan konsentrasi ekstrak daun mahkota lainnya tidak menunjukkan adanya

perbedaan *Optical Density* (OD) biofilm bakteri yang signifikan.

Uji korelasi *Pearson* dilakukan untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi ekstrak daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap *Optical Density* (OD) biofilm bakteri. Hasil uji korelasi *Pearson* juga menunjukkan bahwa nilai signifikansi = 0,006 yang berarti terdapat korelasi yang signifikan antara konsentrasi ekstrak daun mahkota dewa terhadap *Optical Density* (OD) biofilm *Streptococcus mutans*. Selain itu, hasil menunjukkan bahwa *Pearson Correlation* pada penelitian ini bernilai -0,541 sehingga dapat diketahui bahwa pemberian konsentrasi ekstrak berbanding terbalik dengan *Optical Density* (OD) biofilm bakteri sehingga semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun mahkota dewa yang diberikan, maka nilai *Optical Density* (OD) biofilm pada *Streptococcus mutans* semakin rendah.

PEMBAHASAN

Pada penelitian yang dilakukan Kristantina (2012), bahan alam yang digunakan adalah ekstrak kulit buah jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C). Kulit buah jeruk purut mengandung tanin, saponin, dan minyak atsiri yang memiliki kemampuan untuk menghambat pembentukan biofilm pada *Staphylococcus aureus*⁹. Pada penelitian yang dilakukan Lampita (2011), bahan alam yang digunakan yaitu ekstrak buah delima (*Punica granatum*). Buah delima memiliki kandungan flavonoid dan tanin yang mampu menghambat pembentukan biofilm pada *Staphylococcus aureus*¹⁰. Oleh karena itu, diketahui bahwa

tanin, saponin, minyak atsiri dan flavonoid mampu untuk menghambat pembentukan biofilm *Staphylococcus aureus*. Pada penelitian yang dilakukan Lasmayanty (2007), bahan yang digunakan yaitu Propolis Lebah Madu *Trigona* spp. Propolis Lebah Madu *Trigona* spp. mengandung flavonoid, tanin, alkaloid, saponin dan triterpenoid yang mampu menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*¹¹. Pada penelitian yang dilakukan Zubardiah (2008) digunakan daun *Lawsonia inermis* L. Daun *Lawsonia inermis* L. memiliki kandungan alkaloid, glikosida, flavonoid, fenol, saponin, tanin dan minyak atsiri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*¹². Oleh karena itu, diketahui bahwa flavonoid, tanin, alkaloid, saponin, tanin, triterpenoid, glikosida, fenol dan minyak atsiri mampu untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin^{5,7}. Dari penelitian-penelitian sebelumnya dimungkinkan bahwa daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dapat menghambat pembentukan biofilm *Streptococcus mutans*. Hasil penelitian ini, menunjukkan bahwa ekstrak daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) memiliki efek penghambat yang bermakna terhadap pembentukan biofilm pada *Streptococcus mutans*.

Terdapat beberapa metode yang digunakan untuk melakukan uji pembentukan biofilm diantaranya *Congo Red Agar Method*, *Tube Method*, *Microtiter Plate Assay*, *Scanning Electron Microscopy*, dan *Transmission Electron Microscopy*^{13,14,15,16,17}. Apabila

menggunakan *Scanning Electron Microscopy* diperlukan persiapan sampel yang rumit, penghitungan bakteri menggunakan teknik ini terbatas dan sulit untuk mengevaluasi spesies bakteri yang berbeda. Penggunaan *Transmission Electron Microscopy* membutuhkan persiapan sampel yang rumit, waktu yang lama, dan teknik yang kompleks¹⁷. Pada yang dilakukan Djordjevic (2002) diketahui bahwa *Microtiter Plate Assay* merupakan metode yang cepat dan sederhana yang digunakan untuk menguji pembentukan biofilm bakteri secara *in vitro* serta dapat dimodifikasi untuk berbagai uji pembentukan biofilm¹³. Pada penelitian yang dilakukan Dag (2010) mengenai evaluasi berbagai metode deteksi pembentukan biofilm diketahui bahwa *Tube Method* baik digunakan pada isolat bakteri yang memproduksi biofilm yang kuat, tetapi kurang baik untuk isolat bakteri yang memproduksi biofilm yang lemah, sedangkan pada *Congo Red Agar Method* ditemukan kesulitan dalam pengklasifikasian biofilm. Dag (2010) menyarankan penggunaan *Microtiter Plate Assay* sebagai metode yang paling sensitif dan mudah untuk dilakukan. Oleh karena itu, pada penelitian ini digunakan *Microtiter Plate Assay* sebagai uji pembentukan biofilm¹⁸.

Konsentrasi ekstrak daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) yang digunakan dalam penelitian ini ditentukan berdasarkan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa ekstrak kulit buah jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) dengan konsentrasi 0,03% sudah dapat menghambat pembentukan biofilm pada *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*

dan minyak atsiri kulit buah jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*) dengan konsentrasi 25% dapat menghambat kuman *Staphylococcus aureus*^{9,19}. Konsentrasi ekstrak daun mahkota dewa pada penelitian ini dianalogikan menurut kedua penelitian tersebut. Diketahui Kadar Hambat Minimal ekstrak buah mahkota dewa terhadap *Streptococcus mutans* pada konsentrasib 6,25%²⁰. Dengan menganalogikan, maka didapatkan konsentrasi ekstrak daun mahkota dewa untuk menghambat pembentukan biofilm pada *Streptococcus mutans* adalah sekitar 0,0075%. Konsentrasi yang digunakan pada penelitian ini sebagian besar kurang dari 0,0075% karena pada penelitian Kristantina (2012), ekstrak kulit buah jeruk purut pada konsentrasi 0,03% sudah dapat menghambat pembentukan biofilm pada *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*⁹. Oleh karena itu, agar dapat mengetahui *Minimum Biofilm Inhibitory Concentration* (MBIC) ekstrak daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) sebagai penghambat pembentukan biofilm pada *Streptococcus mutans* secara *in vitro*, maka pada penelitian ini digunakan konsentrasi 0% sebagai kontrol positif, 0,015%, 0,0075%, 0,00375%, 0,0018% dan 0,0009%. Konsentrasi ini kemudian dilakukan uji pendahuluan terlebih dahulu sebelum dilakukan penelitian.

Minimum Biofilm Inhibitory Concentration (MBIC) adalah konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan biofilm²¹. Pada penelitian ini, semua konsentrasi ekstrak daun mahkota dewa dapat menghambat pembentukan biofilm pada *Streptococcus*

mutans secara signifikan sehingga *Minimum Biofilm Inhibitory Concentration* (MBIC) ekstrak daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) sebagai penghambat pembentukan biofilm pada *Streptococcus mutans* belum dapat ditentukan. Selain itu, dari hasil penelitian ini juga diketahui *Optical Density* (OD) biofilm *Streptococcus mutans* kelompok perlakuan dengan konsentrasi ekstrak daun mahkota dewa terendah (0,0009%) memiliki perbedaan yang signifikan dibanding kelompok perlakuan dengan konsentrasi ekstrak daun mahkota dewa tertinggi (0,015%). Sedangkan, antar kelompok perlakuan dengan konsentrasi ekstrak daun mahkota lainnya tidak menunjukkan adanya perbedaan *Optical Density* (OD) biofilm bakteri yang signifikan. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh karena perbedaan konsentrasi antara satu kelompok perlakuan dengan kelompok perlakuan lainnya terlalu kecil, seperti pada penelitian yang dilakukan Nahak (2005) mengenai khasiat ekstrak daun beluntas untuk menurunkan jumlah bakteri pada saliva²².

Pada penelitian yang dilakukan Soeksmanto (2006) mengenai efek samping konsumsi mahkota dewa dalam jumlah besar diketahui bahwa ekstrak butanol buah tua mahkota dewa hingga dosis 170 mg/kg berat badan yang diberikan dalam dosis tunggal, didapatkan adanya nekrosis rigan pada tubulus proksimalis, namun relatif tidak mengganggu fungsi ginjal²³. Pada penelitian Sumastuti (2002) diketahui apabila ekstrak buah mahkota dewa memiliki efek sitotoksik empat kali lebih besar daripada ekstrak daun

mahkota dewa. Bahan yang mempunyai efek sitotoksik berpotensi menyebabkan kelainan atau cacat pada embrio yang dikandung²⁴. Pada penelitian yang dilakukan Widyastuti (2006) diketahui bahwa pemberian ekstrak buah mahkota dewa pada induk tikus putih selama periode organogenesis pada dosis 0,008g/200g berat badan atau lebih dapat menyebabkan abnormalitas eksterna dan interna pada fetus²⁵. Berdasarkan penelitian-penelitian sebelumnya diketahui adanya efek samping dari pemanfaatan tanaman mahkota dewa pada konsumsi dalam jumlah besar sehingga dapat disimpulkan bahwa semakin kecil konsentrasi ekstrak daun mahkota dewa, maka efek samping yang ditimbulkan dapat diminimalkan. Oleh karena itu, pada penelitian ini ekstrak daun mahkota dewa dengan konsentrasi tertinggi, yaitu 0,015% yang memiliki efek penghambatan pembentukan biofilm bakteri yang lebih kuat secara signifikan dibanding dengan ekstrak daun mahkota dewa dengan konsentrasi 0,0009%, disarankan untuk tidak digunakan. Pada penelitian ini, justru disarankan penggunaan ekstrak daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dengan konsentrasi terendah, yaitu 0,0009% sudah memiliki efek yang signifikan dalam menghambat pembentukan biofilm pada *Streptococcus mutans* secara *in vitro* dan memiliki efek samping yang terendah. Konsumsi daun mahkota dewa sebaiknya tidak dilakukan selama masa kehamilan dan aplikasi daun mahkota dewa dalam bidang kedokteran gigi sebaiknya dilakukan secara topikal, misalnya sebagai bahan campuran dalam pasta gigi atau obat

kumur, untuk mengurangi efek samping dari daun mahkota dewa.

Pada penelitian yang dilakukan Kristantina (2012) digunakan *Microtiter Plate Assay* dengan konsentrasi ekstrak kulit buah jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*) 0,03% hingga 0,125%. Dari hasil penelitian Kristantina (2012) diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi, maka nilai *Optical Density* (OD) bakteri akan semakin rendah. Pada penelitian ini juga digunakan *Microtiter Plate Assay*, walaupun dengan konsentrasi yang berbeda. Hasil dari penelitian ini berupa *Optical Density* (OD) yang kemudian dianalisis sehingga diketahui bahwa terdapat korelasi yang bermakna antara konsentrasi ekstrak daun mahkota dewa terhadap *Optical Density* (OD) biofilm *Streptococcus mutans*, yaitu semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) yang diberikan, maka nilai *Optical Density* (OD) biofilm pada *Streptococcus mutans* semakin rendah. Penelitian ini memiliki hasil yang sama dengan penelitian Kristantina (2012) yaitu konsentrasi ekstrak berbanding terbalik dengan *Optical Density* (OD) biofilm bakteri.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) memiliki efek penghambat pembentukan biofilm pada *Streptococcus mutans* secara *in vitro*. Ekstrak daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dengan konsentrasi terendah, yaitu 0,0009% sudah memiliki efek yang signifikan dalam

menghambat pembentukan biofilm pada *Streptococcus mutans* secara *in vitro*.

Ekstrak daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) memiliki hubungan korelasi yang signifikan terhadap penghambatan pembentukan biofilm pada *Streptococcus mutans* secara *in vitro*. Korelasi konsentrasi ekstrak daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) berbanding terbalik dengan *Optical Density* (OD) biofilm pada *Streptococcus mutans* sehingga semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun mahkota dewa yang diberikan, maka nilai *Optical Density* (OD) biofilm bakteri semakin rendah dengan pengaruh sedang kuat.

DAFTAR PUSTAKA

1. Frossten S. D., Bjorklund M. and Ouwehand A. C. *Streptococcus mutans, Caries and Simulation Models*. Nutrients. 2010; 2; 290-298.
2. Samaranayake L. *Essential Microbiology for Dentistry*, Third Edition. Churchill Livingstone Elsevier. Philadelphia; 2007; p. 261-273.
3. Nugraha A. W. *Streptococcus mutans Si Plak Dimana-mana*. Fakultas Farmasi USD. Yogyakarta. 2008; hal 1-4.
4. Pickard H. M., Kidd E. A. M. and Smith B.G. N. *Manual Konservasi Restorasi Menurut Pickard*, Edisi Ke-6, Sumawinata M. (penterjemah), 2002, Widya Medika, Jakarta; 1990; hal. 1-19.
5. Katrin E., Selvie and Winarno H. *Chromatogram Profiles and Cytotoxic Activity of Irradiated Mahkota Dewa (Phaleria Macrocarpa (Scheff.) Boerl) Leaves*. Atom Indonesia. 2011. Vol. 37 No. 1, 17-23.
6. Fariza I. N., etc. *Anti-Inflammatory Activity of the Major Compound from Methanol Extract of Phaleria macrocarpa Leaves*. Journal of Applied Sciences. 2012; 1-4.
7. Aswal D. dan Beatrice L. *Efek Antibakteri Ekstrak Buah Mahkota Dewa terhadap Enterococcus faecalis sebagai Medikamen Saluran Akar*. Dentika Dental Journal. 2010; Vol.15, No.1; 32-36.
8. Simamora S. C. *Analisis Strategi Promosi Produk Mahkota Dewa di PT Mahkota Dewa Indonesia, Jakarta*. [Skripsi]. Tidak diterbitkan. Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor, Bogor. 2005.
9. Kristantina I. C. *Efek Ekstrak Kulit Buah Jeruk Purut (Citrus hystrix D.C) dalam Menghambat Pembentukan Biofilm pada Staphylococcus aureus secara In Vitro*. [Skripsi]. Tidak diterbitkan. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang. 2012.
10. Lampita I. *Efek Ekstrak Buah Delima (Punica granatum) dalam Menghambat Pembentukan Biofilm pada Stahylococcus aureus secara In Vitro*. [Skripsi]. Tidak diterbitkan. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang. 2011.
11. Lasmayanty M. *Potensi Antibakteri Propolis Lebah Madu Trigona Spp. Terhadap Bakteri Kariogenik (Streptococcus Mutans)*. [Skripsi]. Tidak diterbitkan. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor, Bogor. 2007.

12. Zubardiah L., Dewi N. M. dan Auerkari E. I. *Khasiat Daun Lawsonia inermis L. sebagai Obat Tradisional Antibakteri*. Kongres PDGI XXIII. Surabaya. 2008.
13. Djordjevic D., Wiedmann M. and McLandsborough L. A. *Microtiter Plate Assay for Assessment of Listeria monocytogenes Biofilm Formation*. Applied and Environmental Microbiology, June 2002, p. 2950-2958.
14. Agarwal R.K., etc. *Optimization of Microtiter Plate Assay for the Testing of Biofilm Formation Ability in Different Salmonella Serotypes*. International Food Research Journal. 2011; 18(4): 1493-1498.
15. Aparna, Madhu S. P. B. D. and Yadav S. *Biofilms: Microbes and Disease*. The Brazilian Journal of Infectious Diseases 2008;12(6): 526-530.
16. Mathur T., etc. *Detection of Biofilm Formation among the Clinical Isolates of Staphylococci: an Evaluation of Three Different Screening Methods*. Indian Journal of Medical Microbiology. 2006; 24 (1): 25 – 29.
17. Hannig C., etc. *Visualization of Adherent Micro-organisms Using Different Techniques*. Journal of Medical Microbiology. 2010; 59, 1-7.
18. Dag I., Kiraz N. and Yasemin O. Z. *Evaluation of Different Detection Method of Biofilm Formation in Clinical Candida Isolates*. African Journal of Microbiology Research. 2010; Vol 4(24), pp. 2763-2768.
19. Chita D. F. *Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Kulit Buah Jeruk Purut (Citrus hystrix DC.) terhadap Staphylococcus aureus dan Escherichia coli*. [Skripsi]. Tidak diterbitkan. Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya. 2012.
20. Siregar B. *Daya Antibakteri Ekstrak Buah Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa [Scheff.] Boerl) terhadap Pertumbuhan Streptococcus mutans (In Vitro)*. [Skripsi]. Tidak diterbitkan. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Sumatra Utara, Medan. 2011.
21. Garcia-Castillo M.,etc. *Differences in Biofilm Development and Antibiotic Susceptibility among Streptococcus pneumoniae Isolates from Cystic Fibrosis Samples and Blood Cultures*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2007; 59, 301-304.
22. Nahak M. M., Tedjasulaksana R. dan Dharmawati I. G. A. A. *Khasiat Ekstrak Daun Beluntas untuk Menurunkan Jumlah Bakteri pada Saliva*. Jurnal Universitas Mahasaraswati. 2005; vol. 5, no. 3, hal. 1-8.
23. Soeksmanto A. *Pengaruh Ekstrak Butanol Buah Tua Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa) terhadap Jaringan Ginjal Mencit (Mus musculus)*. Biodiversitas. 2006; vol. 7 – no. 3, hal. 278-281.
24. Sumastuti R. dan Sonlimar M. *Efek Sitotoksik Ekstrak Buah dan Daun Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa (Scheff) Boerl.) terhadap Sel Hela*. Medika. 2002; 28 (12): 773-777.

25. Widyatuti N., Widiyani T. dan Listyawati S. *Efek Teratogenik Ekstrak Buah Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa (Scheff.) Boerl.) pada Tikus Putih (Rattus norvegicus L.) Galur Wistar*. Bioteknologi. 2006; 3 (2): 56-62.