

AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI ETANOL DAUN KEMANGI (*Ocimum americanum*) TERHADAP *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

Ame Suciati Setiawan*, Diani Prisinda**, Fajar Fatriadi**

* Departemen Farmakologi Kedokteran Gigi dan Farmakologi Bahan Alam, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran

** Departemen Konservasi Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran

Correspondence : Ame Suciati Setiawan, Departemen Farmakologi Kedokteran Gigi dan Farmakologi Bahan Alam, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran
Email : ame.suciati@fkg.unpad.ac.id

Keywords:

Enterococcus faecalis,
Fraksi Etanol, *Ocimum Americanum*

ABSTRACT

Background: *Ocimum americanum* (*O. americanum*) is a natural plant with anti-bacterial effects inhibits the growth of gram-positive and gram-negative anaerobic bacteria in the oral cavity. *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) is a gram-positive anaerobic bacteria in the root canal which is resistance to intracanal medicament. The purpose of this study is to analyze the antibacterial effect of ethanol fractionation of *O. americanum* towards *E. faecalis* ATCC 29212. *Ocimum americanum* is a natural plant that has antibacterial properties against gram-positive and gram-negative anaerobic bacteria in the oral cavity. *Enterococcus faecalis* is an anaerobic gram-negative bacteria was found in root canals and resistant to various root canal medicament. The purpose of this study was to analyze the antibacterial effect of the ethanol fraction of *Ocimum americanum* against *Enterococcus faecalis*.

Methods: The research method was experimental used disc diffusion technique. The fraction is made from solid extract into a polar solution with ethanol solvent with concentration 20%, 40%, 60% and 80%. The test was performed by measuring the inhibition zones around the disc after 24 hours.

Results: Chemical properties of *O.americanum* are alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, steroid, dan terpenoid. Inhibition zone of *O. americanum* fraction with concentration 20%, 40%, 60% and 80% is 8.8 cm, 9.8 cm, 11.1 cm and 16.7 cm. The measurement of *O. americanum* inhibition zone showed better results compared than positive control (Minosep).

Conclusion: Ethanol fraction of *O.americanum* has antibacterial effect towards *E. faecalis*.

PENDAHULUAN

Daun kemangi (*Ocimum americanum/ O.americanum*) adalah tanaman herbal yang banyak digunakan di Asia dan Afrika. *O.americanum* merupakan tanaman yang memiliki aroma yang khas dengan ketinggian 0,7 m, tangkai yang lurus, daun oval berwarna sangat hijau, dengan bunga berwarna merah muda-putih. *O. americanum* memiliki efek antibakteri terhadap beberapa bakteri rongga mulut dan penyebab penyakit periodontal.¹ Minyak esensial *O. americanum* memiliki efek antibakteri terhadap

P. gingivalis dan *P. intermedia* dengan konsentrasi hambat minimum 0.35 mg/ml sedangkan terhadap *F. nucleatum* 0.70 mg/ml. Konsentrasi bunuh minimum terhadap *P. gingivalis* dan *P. intermedia* adalah 0.70 mg/ml sedangkan terhadap *F. nucleatum* adalah 1.4 mg/ml.¹ Penelitian lain yang dilakukan terhadap *Streptococcus mutans* menunjukkan zona hambat sebesar 28 mm dengan konsentrasi hambat minimum 0,04 %v/v. Zona hambat terhadap

Candida albicans dari rongga mulut menunjukkan penghambatan sebesar >30 mm dengan konsentrasi hambat minimum 0,04% v/v. Hal ini menunjukkan bahwa *O. americanum* menunjukkan efek yang baik terhadap mikroorganisme di dalam rongga mulut.² Hasil penelitian yang dilakukan menunjukkan bahwa *O. americanum* memiliki efek anti bakteri terhadap bakteri anaerob gram positif dan negatif di dalam rongga mulut.²

Enterococcus faecalis (*E. faecalis*) adalah bakteri anaerob gram positif di dalam saluran akar yang mengalami infeksi pada jaringan periapikal, dan tetap bertahan didalamnya meskipun telah dilakukan perawatan.^{3,4,5} Walaupun *E. faecalis* ada dalam jumlah sedikit sebagai flora awal pada saluran akar gigi yang belum dilakukan perawatan, namun pada 90% gigi yang telah dirawat endodontik ditemukan *E. faecalis*.⁵

Kegagalan perawatan endodontik dapat disebabkan karena adanya bakteri *E. faecalis* yang masuk ke bagian terdalam tubuli dentin dengan cepat dan bertahan lebih lama dibandingkan dengan mikroorganisme patogen lainnya di dalam saluran akar, hal ini menimbulkan bakteri ini sangat resisten terhadap obat-obatan saluran akar.^{6,7,8}

Ocimum sanctum dan *Ocimum basilicum* merupakan jenis kemangi lainnya yang memiliki efek antibakteri. Beberapa penelitian yang telah dilakukan menunjukkan efek antibakteri dari minyak esensial daun kemangi jenis *Ocimum sanctum* terhadap bakteri *E. faecalis* dengan konsentrasi 20.000 ppm memiliki zona hambat sebesar 11,70 mm, konsentrasi 10.000 ppm sebesar 9,25 mm dan konsentrasi 5.000 ppm sebesar 8,90 mm.⁹ Penelitian lain yang dilakukan dengan menggunakan minyak esensial *Ocimum basilicum* konsentrasi 40.000 ppm menunjukkan tidak ada perbedaan efek yang signifikan dibandingkan dengan *parachlorophenol campher menthol* (ChKm).¹⁰ Hasil dari penelitian tersebut

menunjukkan bahwa kedua jenis kemangi memiliki efek antibakteri terhadap *E. faecalis*, tetapi belum ada penelitian yang menunjukkan adanya efek antibakteri dari *O. americanum* terhadap *E. faecalis* sehingga peneliti ingin mengetahui efektivitas antibakteri dari *O. americanum* terhadap bakteri *E. faecalis*.

METODE PENELITIAN

Metode yang dilakukan adalah eksperimental dengan menguji fraksi etanol (larutan polar) dari *O. americanum* terhadap bakteri *E. faecalis*. Tanaman yang digunakan diperoleh dari Cisarua Kabupaten Bandung Barat dan dideterminasi di Sekolah Ilmu Teknik Hayati (SITH) Institut Teknologi Bandung. Penelitian dilakukan di Laboratorium mikrobiologi Sekolah Farmasi ITB. Daun kemangi (*O. americanum*) yang dikeringkan dibuat menjadi ekstrak padat kemudian dilakukan fraksinasi dengan menggunakan pelarut etanol 10% untuk menghasilkan larutan polar. Hasil fraksinasi diuji fitokimia untuk melihat kandungan yang terdapat dalam ekstrak *O. americanum*.

Bakteri yang digunakan adalah bakteri *E. faecalis* ATCC 29212. Uji antibakteri dilakukan menggunakan metode *disc diffusion method* dengan mengencerkan larutan menggunakan aquades steril sampai mencapai konsentrasi 20%, 40%, 60% dan 80% yang ditetaskan pada cakram dan diukur besar zona bening yang dihasilkan di area cakram tersebut. Hasil pengukuran dibandingkan dengan Klorheksidin (Minosep) sebagai kontrol positif.

Penelitian ini telah lulus etik melalui Komite Etik Penelitian Universitas Padjadjaran Bandung dengan nomor sertifikat Etik 1279/UN6.KEP/EC/2018

HASIL PENELITIAN

Daun kemangi diuji determinasi di Sekolah Ilmu Teknik Hayati Institut Teknologi Bandung, dengan spesifikasi sebagai berikut:

Divisi : *Magnoliophyta*

Kelas : *Magnoliopsida* (Dicots)

Anak kelas: *Asteridae*

Bangsa : *Lamiales*

Familia : *Lamiaceae* (*Labiatac*)

Spesies: *Ocimum americanum* L

Nama umum: *Hoary basil*, *American basil* (Inggris),

Kemangi, Selasih putih (Indonesia), Surawung (Sunda)

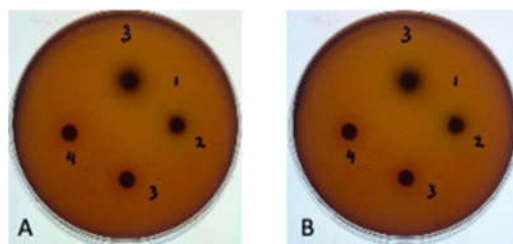
Hasil inokulasi bakteri dengan perhitungan menggunakan Angka Lempeng Total ditemukan Jumlah Populasi bakteri *E. faecalis* = $3,3 \times 10^7$ dan $2,6 \times 10^7$. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol *O. americanum* memiliki efektivitas antibakteri terhadap bakteri *E. faecalis*. Hal ini ditunjukkan dengan adanya zona bening disekitar cakram. Larutan *O. americanum* memiliki zona hambat yang lebih baik dibandingkan dengan Minosep.

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Kemangi

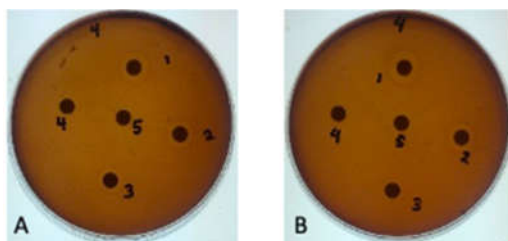
Uji sampel	Pereaksi	Hasil +/-	Keterangan
Alkaloid	Dragendorf	+	Merah
	Mayer + HCl	+	Endapan putih
Flavonoid	Amil alkohol + Mg + HCl	+	kuning
Saponin	Air + HCl	+	Berbusa stabil
Kuinon	NaOH	-	tidak ada perubahan
Tanin	FeCl ₃ 1%	+	Hitam
	Gelatin	+	Endapan putih
Steroid/ Triterpenoid	H ₂ SO ₄ + As. asetat	+	Merah hijau biru

Tabel 2. Hasil pengukuran zona hambat efektivitas antibakteri ekstrak polar *O. americanum* terhadap kotrol Minosep pada bakteri *E. faecalis*

No.	Konsentrasi	Ekstrak Polar <i>O. Americanum</i> (cm)	Minosep (cm)
1	80%	16,7	
2	60%	11,1	
3	40%	9,8	
4	20%	8,8	
7	0,2%		12,1
8	0,1%		10,4
9	0,05%		9,4
10	0,025%		7



Gambar 1. Zona hambat larutan polar *O. americanum* yang dilakukan secara duplo dengan hasil pengukuran pada lempeng (A) dan (B) kemudian diambil nilai rata-rata dari kedua lempeng. Zona hambat dilakukan dengan menggunakan 4 konsentrasi (1) 80%, (2) 60%, (3) 40% dan (4) 20%



Gambar 2. Zona hambat kontrol positif (Minosep) yang dilakukan secara duplo dengan hasil pengukuran pada lempeng (A) dan (B) kemudian diambil nilai rata-rata dari kedua lempeng. Zona hambat dilakukan dengan menggunakan 4 konsentrasi (1) 0,2%, (2) 0,1%, (3) 0,05% dan (4) 0,025%

DISKUSI

Enterococcus faecalis ATCC 29212 pada penelitian ini diuji coba terhadap ekstrak *O. americanum* untuk uji aktivitas antibakteri. Penelitian uji aktivitas antibakteri dilakukan pada empat konsentrasi fraksi *Ocimum americanum* yaitu 80%, 60%, 40% dan 20% sedangkan untuk kontrol positif menggunakan Minosep dengan konsentrasi yaitu 0,2%, 0,1%, 0,05% dan 0,025%. Pengujian dilakukan dengan dua kali pengulangan (duplo) dengan menggunakan metode cakram. Hasil penelitian pada tabel 2 menunjukkan semakin tinggi konsentrasi fraksi etanol *O. americanum* semakin besar hasil zona hambatnya. Fraksi etanol *O. americanum* pada konsentrasi 80% menunjukkan angka zona hambat 16,7 mm. Kekuatan daya antibakteri zona hambat melalui pengukuran diameter zona hambat 5 mm atau kurang dikategorikan lemah, diameter zona hambat 5-10 mm sedang, diameter 10-20 mm dikategorikan kuat. Indikator kategori tersebut menunjukkan

fraksi etanol *O. americanum* termasuk kedalam kategori antibakteri kuat.

Aktivitas antibakteri dari penelitian ini menunjukkan besarnya diameter hambat sebesar 8,8 mm, hal ini menunjukkan bahwa *O. americanum* termasuk ke dalam antibakteri sedang.² Penelitian lain yang dilakukan Prisinga, dkk (2018) dengan pengujian antibakteri ekstrak metanol *Ocimum sanctum* terhadap *E. faecalis* menunjukkan diameter zona hambat minimum sebesar 8,8 mm tetapi pada penelitian ini metanol sebagai pelarut juga menunjukkan adanya daya hambat terhadap *E. faecalis* sehingga daya antibakteri yang dihasilkan oleh *O. sanctum* dapat dibantu oleh adanya daya antibakteri metanol sebagai pelarut.⁹ Dapat disimpulkan bahwa daya antibakteri fraksi etanol *O. americanum* memiliki daya antibakteri yang lebih baik dibandingkan dengan *O. sanctum*. Berbeda dengan penelitian minyak esensial *Ocimum basilicum* (*O. basilicum*) terhadap

bakteri *E. faecalis*, menunjukkan diameter hambat minimal sebesar 9,5 mm, lebih besar dibandingkan diameter hambat minimum *O. americanum*.¹⁰ Hal ini dapat menunjukkan bahwa minyak esensial *O. basilikum* memiliki daya hambat lebih baik dibandingkan fraksi etanol *O. americanum*.

Efek antibakteri *O. americanum* yang terjadi disebabkan adanya kandungan zat-zat aktif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil uji fitokimia pada tabel 1 menunjukkan kandungan senyawa dari ekstrak etanol *O. americanum* yaitu Alkaloid, Flavonoid, Terpenoid, Saponin, dan Tanin. Flavonoid dan tanin termasuk dalam golongan senyawa fenol. Senyawa-senyawa tersebut merupakan senyawa yang aktif yang mempunyai efek antibakteri.

Mekanisme kerja flavonoid dapat meningkatkan permeabilitas membran dan hilangnya potensial membran sel bakteri.¹² Senyawa fenol yang terikat dengan bakteri akan mengganggu permeabilitas membran yang mengakibatkan kation dan makromolekul dari sel hilang sehingga menyebabkan terganggunya pertumbuhan sel dan menjadi mati.¹³ Selain itu senyawa fenol telah banyak diteliti karena mempunyai multiple mekanisme terhadap aktivitas anti bakteri yaitu dapat berinteraksi dengan protein dan dinding bakteri, menyebabkan kerusakan membran sitoplasma, menurunkan fluiditas membran, menghambat sintesis asam *nucleic*, sintesis dinding atau metabolisme energi sel.¹⁴

Kontrol positif yang digunakan pada pengujian ini adalah klorheksidin glukonat (Minosep®) dengan zona hambat 12,1 mm pada konsentrasi 0,2%. Pengujian ini membuktikan bahwa klorheksidin mempunyai efek daya hambat kuat terhadap bakteri *Enterococcus faecalis* tetapi masih lebih baik efek antibakteri fraksi etanol *O. americanum*. Klorheksidin merupakan agen kation yang dapat

menghambat aktivitas bakteri.¹⁵ Mekanisme antibakterinya berhubungan dengan struktur molekul kation bisguanid. Molekul kation diserap ke membran sel dan menyebabkan kebocoran dari komponen intraselularnya.¹⁵

Klorheksidin pada konsentrasi yang rendah (0,02 %) dapat bertindak sebagai bakteriostatik sedangkan pada konsentrasi yang lebih tinggi bersifat bakterisid karena menyebabkan koagulasi dan presipitasi sitoplasma.^{6,15,16}

KESIMPULAN

Ekstrak fraksi etanol *Ocimum americanum* dengan konsentrasi 80% memberikan efek antibakteri terhadap pertumbuhan *Enterococcus faecalis*, ditunjukkan dengan menghasilkan diameter zona hambat (16,7 mm) lebih baik dibandingkan dengan Minosep 0,2 % (12,1 mm).

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami ingin mengucapkan banyak terima kasih kepada Universitas Padjadjaran yang telah membiayai penelitian kami dan seluruh kerabat yang terlibat dalam penelitian ini. Terima kasih atas segala bantuan dan dukungan yang diberikan

DAFTAR PUSTAKA

1. Sroisiri.T., Boonyanit.T. *Phytopharmacy Journal Ocimum americanum Ocimum americanum L. Essential Oil Exhibits Antimicrobial Activity Against Oral Bacteria Related To Periodontal Disease. Phytopharm.*2012
2. Sroisiri.T., Boonyanit.T. *In Vitro Antimicrobial Activity Of Ocimum americanum L. Essential Oil Against Oral Microorganisms. South Asian J Trop Med Public Health*, 2009;40:1025-1033.
3. Rocas, I.N & Siqueira, J.F. *Characterization Of Microbiota Of Root Canal Treated Teeth With Post Treatment Disease. Journal Of Clinical*

- Microbiology*, 2012;50(5): 1721-1724
4. Torabinejad M, Walton RE. *Endodontics: Principles and Practice, 5th edition*. Elsevier. 2014
 5. Hargreaves KM, Berman LH. *Cohen's: Pathways of The Pulp Eleventh Edition*. Elsevier. 2016
 6. Dammanschke. T., Jung. N., Harks. I., Schafer.E. *The Effect Of Different Root Canal Medicament Of Enterococcus Faecalis Ex Vivo*. *European Journal Of Dentistry*, 2013;7(4): 442-448
 7. Abbaszadegan. A., Sahebi. S., Gholami. A., Delroba. A., Kiani. A., Iraj. A. *Time Dependent Antibacterial Effects Of Aloe Vera And Zataria Multiflora Plant Essential Oils Compared To Calcium Hydroxide In Teeth Infected With Enterococcus Faecalis*. *Journal Of Investigative And Clinical Dentistry*, 2016;7(1): 93-101
 8. M.A. Mozayeni, A. Haeri, O. Dianat, A.R. Jafari. *Antimicrobial Effect Of Four Intracanal Medicaments On Enterococcus Faecalis; An In Vitro Study*. *Iranian Endodontic Journal*, 2014;9(3):195-198
 9. Prisinda.D., Suciati.A., Fatriadi.F. *Antibacterial Potential Of Ocimum Sanctum Oils In Relation To Enterococcus Faecalis Atcc 29212*. *Dental Journal*, 2018;51(3): 104–107
 10. A.S. Setiawan., Fatriadi. F., Prisinda.D. *Differences Of Basilicum Leaf (Ocimum Basilicum) Essential Oil's Inhibition Zones And Parachlorophenol (Chkm) Against Enterococcus Faecalis*. *International Journal Of Medical Science And Clinical Invention*, 2018; 5(12): 4237-4239
 11. D. Kandaswamy., Venkateshbabu N. *Root canal irrigants*. *Journal of Conservative Dentistry* 2010. 13 (4); 256-264
 12. Siti S., Diki P.W., Sohadi W. *Uji Anti Bakteri Obat Kumur Ekstrak Etanol Herba Kemangi (Ocimum americanum L) Terhadap Streptococcus mutans*. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. 2012.1 (2):20-8.
 13. Diah Ayu L., Apriliana E. *Efek Potensial Daun Kemangi (Ocimum basilicum L) Sebagai Pemanfaatan Hand Sanitizer*. *Majority*. 2016. 5(5):124-128.
 14. Livia Sobodnikova., Silvia Fialova et all. *Antibiofilm Activity of Plant Polyphenols*. *Molecules*. 2016. 21(1717):1-15.
 15. Garg N, Garg A. *Textbook of Endodontics 2nd edition. 3rd ed. India: Jaypee Brothers Medical Publishers; 201. 555*
 16. Horner C, Mawer D, Wilcox M. *Reduced susceptibility to chlorhexidine in staphylococci: Is it increasing and does it matter? J Antimicrob Chemother*. 2012;67(11):2547–59.