

**PENGARUH WAKTU PENYIMPANAN LARUTAN *ORAL*
NUTRACEUTICAL EKSTRAK BUNGA DELIMA
MERAH (*Punica Granatum L.*) TERHADAP
PERUBAHAN HAMBATAN
PERTUMBUHAN
Pseudomonas Aeruginosa
(*In Vitro*)**



Disusun sebagai salah satu syarat menyelesaikan Program Studi Strata I
pada Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran Gigi

Oleh:

LIYUNDZIRA
J 520 130 057

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
2017**

HALAMAN PERSETUJUAN

NASKAH PUBLIKASI

**PENGARUH WAKTU PENYIMPANAN LARUTAN *ORAL*
NUTRACEUTICAL EKSTRAK BUNGA DELIMA
MERAH (*Punica Granatum L.*) TERHADAP
PERUBAHAN HAMBATAN
PERTUMBUHAN
Pseudomonas Aeruginosa
(*In Vitro*)**

diajukan oleh :

**Liyundzira
J520130057**

Telah disetujui oleh :

Surakarta, 15 April 2017

Pembimbing Utama



drg. Mahmud Kholifa, MDSc.
NIK/NIDN : 996 0601076503

HALAMAN PENGESAHAN

NASKAH PUBLIKASI

PENGARUH WAKTU PENYIMPANAN LARUTAN *ORAL*
NUTRACEUTICAL EKSTRAK BUNGA DELIMA
MERAH (*Punica Granatum L.*) TERHADAP
PERUBAHAN HAMBATAN
PERTUMBUHAN
Pseudomonas Aeruginosa
(*In Vitro*)

Disusun oleh :

Liyundzira
J520130057

Telah disetujui dan dipertahankan di hadapan dewan penguji skripsi Fakultas
Kedokteran Gigi Universitas Muhammadiyah Surakarta,
Pada hari Kamis, 20 April 2017
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dewan Penguji :

1. drg. Mahmud Kholifa, MDSc. (Ketua Dewan Penguji) (.....)
2. drg. Sartari Entin Yuletnawati, MDSc. (Anggota I Dewan Penguji) (.....)
3. drg. Ariyani Faizah, MDSc. (Anggota II Dewan Penguji) (.....)

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Muhammadiyah Surakarta

drg. Dendy Murdiyanto, MDSc.
NIK/NIDN : 1238 0629127903

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam naskah publikasi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang sepengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kelak terbukti ada ketidakbenaran dalam pernyataan saya diatas, maka akan saya pertanggungjawabkan sepenuhnya.

Surakarta, 3 Juni 2017

Penulis



LIYUNDZIRA
J 520 130 057

**PENGARUH WAKTU PENYIMPANAN LARUTAN ORAL
NUTRACEUTICAL EKSTRAK BUNGA DELIMA
MERAH (*Punica Granatum L.*) TERHADAP
PERUBAHAN HAMBATAN
PERTUMBUHAN
Pseudomonas Aeruginosa
(*In Vitro*)**

ABSTRAK

Pseudomonas aeruginosa merupakan flora normal rongga mulut, walaupun sebagai flora normal rongga mulut bakteri ini dapat berubah menjadi patogen karena adanya faktor pendukung seperti kebersihan rongga mulut yang rendah. *Pseudomonas aeruginosa* dapat dicegah pertumbuhannya menggunakan senyawa bioaktif yang mempunyai kandungan antibakteri. Bunga delima merah (*Punica granatum L.*) diketahui memiliki kandungan antibakteri seperti flavonoid, fenol dan proantosianidin. Faktor yang mempengaruhi perubahan hambatan pertumbuhan bakteri terhadap waktu penyimpanan adalah suhu, cahaya dan kelembaban. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh waktu penyimpanan larutan *oral nutraceutical* ekstrak bunga delima merah (*Punica Granatum L.*) terhadap perubahan hambatan pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* (*in vitro*). Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *True Eksperimental Posttest Only Control Group Design* dengan menggunakan konsentrasi 5%. Bunga delima merah dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi dan dibuatkan sediaan larutan *oral nutraceutical*. Larutan *oral nutraceutical* ekstrak bunga delima merah akan dilakukan penyimpanan dari sebelum dilakukan penyimpanan, disimpan 7 hari, disimpan 14 hari, disimpan 21 hari, dan disimpan 28 hari dengan memperhatikan faktor lingkungan yaitu, cahaya, suhu dan kelembaban. Hasil penelitian menunjukkan adanya pengaruh waktu penyimpanan larutan *oral nutraceutical* ekstrak bunga delima merah terhadap hambatan pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil uji *One Way Anova* menunjukkan nilai $p=0,001$ ($p<0,05$), kemudian hasil uji *Post Hoc LSD* menunjukkan nilai signifikan $p<0,05$ setelah penyimpanan 21 hari, sehingga dapat disimpulkan bahwa waktu penyimpanan larutan *oral nutraceutical* ekstrak bunga delima merah (*Punica Granatum L.*) berpengaruh tidak signifikan terhadap perubahan hambatan pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* hingga waktu penyimpanan 21 hari.

Kata kunci : *oral nutraceutical*, bunga delima merah, waktu penyimpanan, *Pseudomonas aeruginosa*, hambatan pertumbuhan.

ABSTRACT

Pseudomonas aeruginosa is a normal flora of the oral cavity, although as a normal flora the oral cavity of this bacteria can turn into a pathogen because of the

supporting factors such as poor oral hygiene. *Pseudomonas aeruginosa* can be prevented by the use of bioactive compounds that have antibacterial content. Red pomegranate flowers (*Punica granatum L.*) are known to contain antibacterials such as flavonoids, phenols and proanthocyanidins. Factors that influence changes in bacterial growth resistance to storage time are temperature, light and humidity. The aim of this research is to know the effect of the time of storage of oral solution of *nutraceutical* red pomegranate extract (*Punica Granatum L.*) to the change of growth resistance of *Pseudomonas aeruginosa* (*in vitro*). The type of research used in this research is *True Experimental Posttest Only Control Group Design* using 5% concentration. Red pomegranate flowers are extracted by maceration method and the preparation of *oral nutraceutical* solution is made. *Oral nutraceutical* solution of red pomegranate extract will be stored from before storage, stored 7 days, stored 14 days, saved 21 days, and stored 28 days by taking into account the environmental factors that is, light, temperature and humidity. The results showed that the effect of the time of storage of oral solution of *nutraceutical* extract of red pomegranate flowers to *Pseudomonas aeruginosa* growth barrier. The result of *One Way Anova* test showed that $p = 0,001$ ($p < 0,05$), then result of *Post Hoc LSD* test showed significant value $p < 0,05$ after 21 days storage, so it can be concluded that the oral solution time of *oral nutraceutical* red pomegranate extract (*Punica Granatum L.*) had no significant effect on changes in *Pseudomonas aeruginosa* growth resistance up to 21 days' storage time.

Keywords : *oral nutraceutical*, red pomegranate flower, storage time, *Pseudomonas aeruginosa*, growth inhibition.

1. PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan suatu penyakit yang paling sering terjadi dan dapat menginfeksi rongga mulut. Keadaan ini dikarenakan rongga mulut sebagai pintu gerbang penghubung antara lingkungan luar tubuh dan lingkungan dalam tubuh sehingga mikroorganisme dapat masuk dan berkembang biak didalam tubuh seseorang. Didalam rongga mulut terdapat bermacam-macam jenis mikroorganisme yang merupakan flora normal^[1]. Salah satu mikroorganisme flora normal rongga mulut adalah *Pseudomonas Aeruginosa*, walaupun sebagai flora normal rongga mulut namun pada keadaan tertentu bakteri *Pseudomonas Aeruginosa* dapat berubah menjadi patogen karena adanya faktor pendukung, misalnya kebersihan rongga mulut yang rendah. Bakteri ini akan masuk ke dalam aliran darah melalui gigi yang berlubang dan gusi yang berdarah atau bakterimia^[2]. Bakteri *Pseudomonas Aeruginosa* ditemukan sekitar 5,55% pada

periodontitis apikalis kronis^[3], bakteri ini dapat dihambat pertumbuhannya menggunakan senyawa biokatif yang ada di dalam tanaman salah satunya adalah bunga delima merah.

Bunga delima merah (*Punica Granatum Linn*) mempunyai suatu kandungan senyawa aktif antibakteri berupa flavanoid, fenol, dan proantosianidin tertinggi dibandingkan bagian delima yang lain^[4]. Senyawa bioaktif dapat diperoleh dengan cara ekstraksi^[5]. Ekstrak bunga delima merah (*Punica Granatum Linn*) aktif sebagai antibakteri^[6] maka ekstrak bunga delima merah (*Punica Granatum Linn*) dapat dibuatkan sediaan *oral nutraceutical*, yaitu sediaan farmasi dalam bentuk larutan yang dapat dikumur dan mengandung senyawa bioaktif dari bahan alam^[7]. Efektivitas dari suatu larutan akan dipengaruhi oleh lamanya waktu penyimpanan, hal ini disebabkan oleh faktor lingkungan yaitu cahaya, kelembaban dan suhu.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh waktu penyimpanan larutan *oral nutraceutical* dari ekstrak bunga delima merah (*Punica granatum L.*) terhadap perubahan hambatan pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa (In Vitro)*.

2. METODE PENELITIAN

Metode penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah *True Eksperimental* dengan *Postest Only Control Group Design*^[8]. Pada penelitian ini menggunakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sebagai objek penelitian, cawan petri yang berisi beberapa koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* akan diinjeksikan larutan oral nutraceutical dengan konsentrasi 5%.

Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini dibagi menjadi 5 kelompok. Bunga delima merah di ekstrak menggunakan metode maserasi setelah didapatkan ekstrak kental kemudian dibuatkan sediaan larutan *oral nutraceutical*. Larutan *oral nutraceutical* yang telah dibuat dilakukan penyimpanan dalam waktu 7, 14, 21, dan 28 hari dengan memperhatikan suhu, kelembaban, dan cahaya. Larutan *oral nutraceutical* ekstrak bunga delima merah sebanyak 50 µl diinjeksikan didalam 5 lubang cawan petri yang telah berisi bakteri *Pseudomonas aeruginosa*^[9]. Cawan petri kemudian dilakukan penyimpanan di dalam inkubator

selama 24 jam. Pengukuran zona hambat didapatkan setelah penyimpanan 24 jam, kemudian zona hambat yang terbentuk disekitar lubang sumuran diukur menggunakan jangka sorong manual.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian mengenai pengaruh waktu penyimpanan larutan *oral nutraceutical* ekstrak bunga delima merah (*Punica Granatum L.*) terhadap perubahan hambatan pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* telah dilakukan. Hasil penelitian menunjukkan terdapat zona hambat atau zona bening disekitar lubang sumuran. Nilai rerata dan standar deviasi dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Nilai rerata dan standar deviasi pengukuran diameter zona hambat

Pemberian larutan <i>oral nutraceutical</i>	Rata-rata zona hambat (mm) \pm SD
Belum disimpan	4,798 \pm 0,300
Disimpan 7 hari	4,682 \pm 0,624
Disimpan 14 hari	4,494 \pm 0,590
Disimpan 21 hari	4,478 \pm 0,446
Disimpan 28 hari	3,342 \pm 0,321

Tabel 1. menunjukkan rerata nilai diameter zona hambat pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang diberi larutan *oral nutraceutical* ekstrak bunga delima merah (*Punica granatum L.*) dengan kosentrasi 5% terjadi perubahan daya hambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* dari sebelum disimpan, disimpan 7 hari, disimpan 14 hari, disimpan 21 hari, dan disimpan 28 hari.

Data dilanjutkan dengan uji normalitas *Shapiro-Wilk* untuk mengetahui data berdistribusi normal, hasil uji normalitas *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa seluruh data berdistribusi normal yang ditunjukkan dengan nilai $p > 0,05$. Data dilanjutkan dengan uji *Levene* test untuk mengetahui homogenitas dari data, hasil uji *Levene* test menunjukkan bahwa data memiliki varian yang sama (homogen) dengan $p > 0,05$.

Berdasarkan hasil uji normalitas dan homogenitas, telah memenuhi syarat untuk dilakukan uji *One Way Anova*. Uji *One Way Anova* dan uji *Pos Hoc LSD* dapat dilihat pada tabel berikut ini.

Tabel 2. Hasil uji *One Way Anova*

	Sum of Squares	Df	Mean Squares	F	Sig
Between Groups	6.819	4	1.705	7.539	.001
Within Groups	4.522	20	.226		
Total	11.341	24			

Tabel 2. menunjukkan nilai signifikan ($p < 0,05$) sehingga dapat disimpulkan terdapat perbedaan yang signifikan pada zona hambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas Aeruginosa*

Tabel 3. Hasil uji *Pos Hoc LSD*.

Waktu penyimpanan	Belum disimpan	Disimpan 7 hari	Disimpan 14 hari	Disimpan 21 hari	Disimpan 28 hari
Belum disimpan		0,704	0,324	0,300	0,000
Disimpan 7 hari	0,704		0,539	0,505	0,000
Disimpan 14 hari	0,324	0,539		0,958	0,001
Disimpan 21 hari	0,300	0,505	0,958		0,001
Disimpan 28 hari	0,000	0,000	0,001	0,001	

Tabel 3 hasil uji *Pos Hoc LSD* menunjukkan bahwa waktu penyimpanan larutan *oral nutraceutical* ekstrak bunga delima merah (*Punica Granatum L.*) terhadap perubahan hambatan *Pseudomonas aeruginosa (in vitro)* memiliki perbedaan yang tidak signifikan pada waktu belum disimpan dan disimpan 7 hari karena $p=0,704$ ($p>0,05$), belum disimpan dan disimpan 14 hari $p=0,324$ ($p>0,05$), serta belum disimpan dan disimpan 21 hari $p=0,300$ ($p>0,05$) akan tetapi memiliki perbedaan yang signifikan pada waktu belum disimpan dan disimpan 28 hari karena $p=0,000$ ($p<0,05$).

Hasil uji *One Way Anova* dan uji *Pos Hoc LSD* menunjukkan terdapat perbedaan yang tidak signifikan hingga penyimpanan ke 21 hari, hal ini ditunjukkan dengan nilai probabilitas ($p>0,05$). Hal ini disebabkan karena adanya kandungan senyawa antibakteri yang ada di dalam bunga delima seperti tannin, anthocyanin, dan flavonoid^[10]. Mekanisme kerja dari tannin sebagai antibakteri

yaitu dengan merusak membran sel pada bakteri dan mengganggu permeabilitas sel, oleh karena itu sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya menjadi terhambat^[11]. Anthocyanin berkhasiat sebagai antioksidan yang dapat melindungi tubuh dari serangan radikal bebas dan merupakan perusak berbagai organ yang dapat menimbulkan penyakit^[12]. Flavonoid memiliki sistem kerja sebagai antibakteri untuk membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler yang terlarut dan dapat merusak sel bakteri, diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler^[13].

Faktor lingkungan yang mempengaruhi perubahan hambatan pertumbuhan bakteri pada larutan *oral nutraceutical* ekstrak bunga delima merah (*Punica Granatum L.*) secara tidak signifikan sebelum dilakukan proses penyimpanan hingga penyimpanan 21 hari adalah cahaya dan kelembaban.

Pada pengendalian cahaya dilakukan dengan menyimpan larutan *oral nutraceutical* ekstrak bunga delima merah (*Punica Granatum L.*) dengan menggunakan botol kaca berwarna gelap. Penyimpanan menggunakan botol kaca berwarna gelap menyebabkan suatu proses oksidasi yang berjalan lebih lambat daripada menggunakan botol kaca berwarna bening, cahaya bekerja sebagai katalis dalam reaksi oksidasi, sehingga larutan bila dikemas dalam wadah yang tidak tembus cahaya atau gelas berwarna gelap dapat menahan masuknya cahaya^[14].

Kelembaban udara dilakukan penyimpanan larutan *oral nutraceutical* ekstrak bunga delima merah (*Punica Granatum L.*) adalah 58%, karena diketahui pada kelembaban udara 58-67% tidak mempengaruhi stabilitas suatu obat^[15].

Hasil uji *Post Hoc LSD* pada penyimpanan ke 28 hari menunjukkan perubahan hambatan pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* yang berbeda secara signifikan, dimana nilai probabilitas $p < 0,05$. Pada penelitian ini menggunakan suhu penyimpanan 25⁰C karena kisaran pertumbuhan suhu khamir yaitu 25-40⁰C^[16], sehingga sangat penting dalam mengendalikan suhu penyimpanan untuk menghambat pertumbuhan khamir yang dapat merusak zat aktif yang ada didalam larutan *oral nutraceutical* ekstrak bunga delima merah (*Punica Granatum L.*). Kerusakan larutan *oral nutraceutical* ekstrak bunga delima merah

(*Punica Granatum L.*) dikarenakan seiring lamanya waktu penyimpanan semakin lama proses penyimpanan maka khamir yang terdapat pada larutan *oral nutraceutical* semakin banyak, hal ini diketahui bahwa air merupakan tempat tumbuh yang baik bagi mikroba^[17].

Terjadinya perubahan hambatan pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang signifikan pada waktu penyimpanan 28 hari terjadi karena adanya reaksi oksidasi karena penutupan botol tidak disertai segel dan terpapar oksigen pada saat pembuatan larutan sehingga memungkinkan masuknya oksigen^[18]. Reaksi oksidasi ini dapat mempengaruhi suatu kestabilan obat karena dapat mendegradasi obat tersebut^[19]. Kelemahan-kelemahan tersebut yang menyebabkan larutan *oral nutraceutical* ekstrak bunga delima merah yang menjadi rusak, sehingga larutan tersebut mengalami perubahan hambatan pertumbuhan bakteri yang signifikan pada waktu penyimpanannya yaitu pada saat penyimpanan 28 hari.

4. PENUTUP

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa waktu penyimpanan larutan *Oral Nutraceutical* ekstrak bunga delima merah (*Punica Granatum L.*) berpengaruh tidak signifikan terhadap perubahan hambatan pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* hingga waktu penyimpanan 21 hari.

DAFTAR PUSTAKA

1. Mangundjaja., Wayan M. M dan Natalia M., 2001, Pengaruh Pasta Gigi Setelah Penyikatan Gigi Terhadap Kuman Kontaminan Pada Sikat Gigi, *J. K.G*, 6(1) : 2-3.
2. Jawetz E., 2005, *Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi 20, Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC : 214.
3. Sutasmi. dan Nurhayati N., 2014, Identifikasi Bakteri Pada Saluran Akar Gigi Dengan Diagnosis Periodontitis Apikal Kronis, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin Makassar, Indonesia, *J.Dentofasial*, 13(3) : 183-184.
4. Rummun N., Somanah J., Ramsaha S., 2013, Bioactivity Of Nonedible Parts Of *Punica Granatm L* : A Potential Source Of Functional Ingredients, *Int. J. Of Food Science*, (10): 1-10.

5. Siregar., Agus S., Delianis P., 2012, Potensi Antibakteri Ekstrak Rumput Laut Terhadap Bakteri Penyakit Kulit *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Micrococcus luteus*, *J. Of Marine Research*, 1(2) : 152-160.
6. Mahboubi., Farnaz H., Elham M.S., Maryam T., Mohammad K., 2015, Antibacterial Effect of Hydroalcoholic Extract of *Punica granatum* Linn. Petal on Common Oral Microorganisms, *Int. J. of Biomaterials*, 16 : 6.
7. Widiyarti G., Andini S., Marissa A., 2014, Pembuatan Sediaan *Oral Nutraceutical* dari Ekstrak Gambir (Preparation of Oral Nutraceutical from Gambier Extract), *J. Ilmu Kefarmasian Ind*, 12(2) : 145-153.
8. Notoatmodjo, Soekidjo. 2012, *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta : PT Rineka Cipta.
9. Sandi I.M., Bachtiar H., Hidayati, 2015, Perbandingan Efektivitas Daya Hambat Dadih dengan Yogurt Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus Mutan*, *Jurnal B-Dent*, 2(2) : 88-94.
10. Elfalleh W., Hannachi H., Tlili N., 2012. Total Phenolic Contents and Antioxidant Activities of Pomegranate Peel, Seed, Leaf and Flower. *Journal of Medical Plants Research*, 6(xx):4724-4730.
11. Ajizah A., 2004, Sensitivitas *Salmonella Typhimurium* Terhadap Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium Guajava L.*), *J bioscientie*, 1(1): 31-8.
12. Dalimartha S., dan Adrian F., 2013, *Fakta Ilmiah Buah dan Sayur*, Pratiwi K. Editor Jakarta: Penebar Swadaya Grup.
13. Indonesian Biotechnology Information Centre (IndoBIC)., 2005, *Senyawa Antimikroba dari Tanaman*. Jakarta: Berita.
14. Ansel H., Allen L., Popovich N., 2011. *Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, 9th Edition, Lippincott Williams & Wilkins-Baltimore, hal.389.
15. Indrawati T., Sari N.K., 2010, *Stabilitas Kaplet Asam mefenamat Dengan Suhu dan Kelembaban Ruang Penyimpanan yang Berbeda*, *MAKARA*, 14 (2) : 75-80.
16. Dewi A.K., Utama C.S., Mukodiningsih S., 2014. Kandungan Total Fungi Serta Jenis Kapang dan Khamir Pada Limbah Pabrik Pakan Yang Difermentasi Dengan Berbagai Arns Startex 'Starfung'. *Agripet*, 14(2):102-106.
17. Zaini A.N., GozaliD., 2017. Pengaruh Suhu terhadap Stabilitas Obat Sediaan Suspensi, *Farmaka*. 4(4):1-14.
18. Rorong J., Aritonang H., Ranti F.P. Sintesis Metil Ester Asam Lemak dari Minyak Kelapa Hasil Pemanasan, *Cbrm Prog*, 1(1);9-18.
19. Desai K.N., Gokani R.H., 2012. Stability Study : Regulatory Requirement *International Journal of Advances in Pharmaceutical Analysis*. 2(3):62-67.