

**PENGARUH WAKTU PENYIMPANAN LARUTAN *ORAL NUTRACEUTICAL*
EKSTRAK BUNGA DELIMA MERAH (*Punica granatum L.*) TERHADAP
PERUBAHAN HAMBATAN PERTUMBUHAN *Escherichia coli*
(*In Vitro*)**



Disusun Sebagai Salah Satu Syarat Menyelesaikan Program Studi Strata I pada
Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran Gigi

Oleh:

Shitras Nirwana Dewanty

J 520 130 001

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

HALAMAN PERSETUJUAN

**PENGARUH WAKTU PENYIMPANAN LARUTAN *ORAL NUTRACEUTICAL*
EKSTRAK BUNGA DELIMA MERAH (*Punica granatum L.*) TERHADAP
PERUBAHAN HAMBATAN PERTUMBUHAN *Escherichia coli*
(*In Vitro*)**

PUBLIKASI ILMIAH

oleh:

**Shitras Nirwana Dewanty
J 520 130 001**

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji oleh:

Dosen
Pembimbing



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 *Escherichia coli*
(*In Vitro*)**

Oleh :

Shitras Nirwana Dewanty
J520130001

Telah disetujui dan dipertahankan dihadapan dewan penguji skripsi
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Muhammadiyah Surakarta,
Pada hari Selasa, 18 April 2017
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

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 Mujiyanto, 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 pengetahuan 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 di atas, maka akan saya pertanggungjawabkan sepenuhnya.

Surakarta, 15 Juli 2017

Penulis



Shitras Nirwana Dewanty

J 520 130 001

**PENGARUH WAKTU PENYIMPANAN LARUTAN ORAL NUTRACEUTICAL
EKSTRAK BUNGA DELIMA MERAH (*Punica granatum L.*) TERHADAP
PERUBAHAN HAMBATAN PERTUMBUHAN *Escherichia coli*
(*In Vitro*)**

INTISARI

Escherichia coli merupakan flora normal rongga mulut yang menyebabkan penyakit infeksi pada saluran pencernaan, sehingga diperlukan pencegahan dan pengobatan menggunakan larutan *oral nutraceutical* yaitu produk yang penggunaannya dengan cara dikumur dan aman jika tertelan karena terbuat dari senyawa bioaktif yang memiliki zat antibakteri seperti ekstrak bunga delima merah dan bahan kimia yang lazim pada produk makanan dan minuman. Dengan mengendalikan faktor suhu, cahaya, dan kelembaban agar kualitasnya terjaga larutan *oral nutraceutical* ekstrak bunga delima merah dilakukan penyimpanan dalam *climate chamber* selama 28 hari. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh waktu penyimpanan larutan *oral nutraceutical* ekstrak bunga delima merah terhadap perubahan hambatan pertumbuhan *Escherichia coli*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental *post test only control group design* dengan metode pengukuran diameter zona hambat pada cawan petri dengan pemberian larutan *oral nutraceutical* ekstrak bunga delima merah yang belum disimpan, disimpan 7 hari, disimpan 14 hari, disimpan 21 hari, disimpan 28 hari. Hasil penelitian menunjukkan rata-rata diameter zona hambat bakteri dengan pemberian larutan *oral nutraceutical* belum disimpan, disimpan 7 hari, disimpan 14 hari, disimpan 21 hari dan disimpan 28 hari masing-masing sebesar 3,32 mm, 2,87 mm, 2,85 mm, 2,46 mm, 2,39 mm. Hasil uji *one way anova* yaitu $p = 0,038$ ($p < 0,05$). Uji *Post Hoc LSD* menunjukkan nilai $p < 0,05$ setelah penyimpanan 14 hari, sehingga dapat disimpulkan waktu penyimpanan larutan *oral nutraceutical* ekstrak bunga delima merah berpengaruh tidak signifikan terhadap perubahan hambatan pertumbuhan *Escherichia coli* hingga 14 hari.

Kata kunci: *Escherichia coli*, hambatan pertumbuhan, *oral nutraceutical* ekstrak bunga delima merah, waktu penyimpanan.

ABSTRACT

Escherichia coli is normal flora in oral cavity can cause infections in the digestive tract, it is necessary for preventing and medication using oral solution nutraceuticals products that are used as gargled and safe if swallowed because it is made of bioactive compounds that have antibacterial substances such as red pomegranate flower extract and chemicals that are prevalent in food and beverage products. By controlling factors such as temperature, light, and humidity to maintain its quality, red pomegranate flower extract nutraceutical oral solution extract is stored in climate chamber for 28 days. from natural materials with

antibacterial effects such as red pomegranate flower. Oral nutraceutical is stored by controlling for factors such as temperature, light, and moisture to maintain its quality. This study aims to determine the effect of storage time of oral solution nutraceutical red pomegranate flower extract toward the changes in growth inhibition of *Escherichia coli*. This study was an experimental study with post test only control group design with method by measuring the diameter of clear zone on a petri dish with the addition of red pomegranate flower extract nutraceutical oral solution that have not been stored, stored for 7 days, stored for 14 days, stored for 21 days, stored for 28 days. The results showed an average diameter of clear zone with nutraceutical oral solution has not been saved, stored 7 days, stored for 14 days, stored for 21 days, stored for 28 days respectively 3,32mm, 2,87mm, 2,85mm, 2,46mm , 2,39mm. The result of one way ANOVA tested $p = 0.038$ ($p < 0.05$). Post Hoc LSD test showed a p -value < 0.05 after 14 days of storage, the storage time of nutraceutical oral solution of red pomegranate flower extract (*Punica granatum L.*) not significantly effecting the changes of *Escherichia coli* growth inhibition in 14 days.

Keywords: *Escherichia coli*, growth inhibition, oral nutraceutical, storage time.

1. PENDAHULUAN

Escherichia coli merupakan bakteri fakultatif anaerob gram negatif yang dapat berada dalam rongga mulut¹. Keberadaan *Escherichia coli* dalam rongga mulut dapat disebabkan oleh benda-benda yang masuk ke dalam rongga mulut dan telah terkontaminasi feses². Bakteri *Escherichia coli* juga berada pada kepala sikat gigi yang sudah lama berada di kamar mandi yang bersatu dengan toilet, *Escherichia coli* pada kepala sikat gigi akan berada dalam rongga mulut setelah pemakaian sikat gigi tersebut³.

Rongga mulut akan menjadi perantara masuknya bakteri *Escherichia coli* ke dalam saluran pencernaan sehingga menjadikan jumlah bakteri ini meningkat pada saluran pencernaan dan menjadi penyebab yang paling sering menimbulkan penyakit diare⁴. Bakteri *Escherichia coli* yang masuk ke dalam rongga mulut melalui sikat gigi harus dihambat pertumbuhannya agar jumlahnya tidak meningkat, secara kimiawi bakteri tersebut dapat dihambat pertumbuhannya dengan pemberian obat kumur antiseptik⁵. Obat kumur antiseptik memiliki kandungan alkohol yang memiliki sifat membunuh bakteri, mencegah akumulasi plak dan sebagai pengawet namun untuk jangka panjang tidak dianjurkan berkumur menggunakan obat kumur dengan kandungan alkohol karena dapat

menyebabkan mulut kering, mengurangi produksi air liur yang akan mempengaruhi bau mulut dan menyebabkan resiko terkena kerusakan gigi⁶.

Berdasarkan uraian di atas, maka diperlukan produk dengan kandungan aman dalam bentuk sediaan *oral nutraceutical*, sediaan tersebut merupakan produk yang kandungan utamanya adalah senyawa bioaktif yang diperoleh dengan cara ekstraksi⁷. Bunga delima merah (*Punica granatum L.*) memiliki kandungan aktif seperti flavonoid, alkaloid, fenol, dan proantosianidin tertinggi dibandingkan bagian delima lainnya yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri penyebab penyakit, sehingga ekstrak bunga delima merah (*Punica granatum L.*) dapat dibuat menjadi sediaan *oral nutraceutical*, yaitu produk yang kandungan utamanya adalah senyawa bioaktif yang berasal dari makanan, bebas dari alkohol dan aman dikonsumsi anak-anak karena terbuat dari bahan alami dan bahan kimia yang lazim digunakan dalam produk makanan dan minuman sehingga aman jika tertelan^{7,8}.

2. METODE PENELITIAN

Metode penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah *True Eksperimental* dengan *posttest only control group design*⁹. Objek pada penelitian ini menggunakan bakteri *Escherichia coli* yang diberikan larutan *oral nutraceutical* ekstrak bunga delima merah (*Punica granatum L.*) sebelum disimpan, disimpan 7 hari, disimpan 14 hari, disimpan 21 hari, dan disimpan 28 hari.

Jumlah sampel yang digunakan yaitu sebanyak 25 sampel yang dibagi menjadi lima kelompok perlakuan. Bunga delima merah diekstrak menggunakan metode maserasi untuk mendapatkan ekstrak kental, kemudian ekstrak kental tersebut dibuat ke dalam bentuk sediaan larutan *oral nutraceutical*. Larutan *oral nutraceutical* yang telah dibuat dilakukan penyimpanan pada *climate chamber* dengan pengaturan suhu sebesar 25°C dan kelembaban sebesar 58%¹⁰.

Larutan *oral nutraceutical* ekstrak bunga delima merah (*Punica granatum L.*) diinjeksikan ke dalam 5 lubang cawan petri yang telah berisi bakteri *Escherichia coli*, masing-masing lubang sebanyak 50 μl ¹¹. Cawan petri kemudian

disimpan dalam inkubator selama 24 jam. Data didapatkan setelah penyimpanan 24 jam dengan cara mengukur zona hambat atau zona bening yang terbentuk di sekitar lubang sumuran menggunakan jangka sorong manual.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian mengenai pengaruh waktu penyimpanan larutan *oral nutraceutical* ekstrak bunga delima merah (*Punica granatum L.*) terhadap perubahan hambatan pertumbuhan *Escherichia coli* menunjukkan terdapat zona hambat atau zona bening di sekitar lubang sumuran. Nilai rerata dan standar deviasi dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 1. Rerata dan standar deviasi diameter zona hambat ekstrak bunga delima merah (*Punica granatum L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*

Kelompok Perlakuan	n	Rerata Diameter Zona Hambat (mm) ± SD
Belum disimpan	5	3,32 ± 0,86
Disimpan 7 hari	5	2,87 ± 0,30
Disimpan 14 hari	5	2,85 ± 0,43
Disimpan 21 hari	5	2,46 ± 0,25
Disimpan 28 hari	5	2,39 ± 0,16

n: jumlah sampel

Tabel di atas menunjukkan hasil rerata diameter zona hambat sumuran larutan *oral nutraceutical* ekstrak bunga delima merah (*Punica granatum L.*) pada waktu belum disimpan memiliki nilai terbesar dibandingkan dengan rerata diameter zona hambat yang terbentuk pada waktu 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 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, data telah memenuhi syarat untuk dilakukan uji *One Way Anova*. Uji *One Way Anova* dan uji *Post Hoc LSD* dapat dilihat pada tabel berikut ini.

Tabel 2. Hasil uji *One Way Anova*

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2,801	4	,700	3,111	0,038
Within Groups	4,502	20	,225		
Total	7,304	24			

Tabel 3. Hasil uji *Post Hoc Least Significant Differencee (LSD)* antara kelompok perlakuan

Waktu penyimpanan	Belum disimpan	Disimpan 7 hari	Disimpan 14 hari	Disimpan 21 hari	Disimpan 28 hari
Belum disimpan	-	0,153	0,130	0,009	0,006
Disimpan 7 hari	0,153	-	0,927	0,179	0,124
Disimpan 14 hari	0,130	0,927	-	0,208	0,146
Disimpan 21 hari	0,009	0,179	0,208	-	0,833
Disimpan 28 hari	0,006	0,124	0,146	0,833	-

Hasil uji *One Way Anova* menunjukkan nilai $p = 0,038$ ($p < 0,05$) yang berarti bahwa terdapat perbedaan pengaruh waktu penyimpanan larutan oral nutraceutical terhadap perubahan hambatan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*

secara *in vitro*. Perbedaan yang ditunjukkan dari hasil uji *One Way Anova* selanjutnya dilakukan uji *Post Hoc LSD* untuk mengetahui kelompok mana saja yang memiliki perbedaan yang bermakna. Hasil uji *Post Hoc LSD* menunjukkan terdapat perbedaan yang tidak signifikan hingga penyimpanan 14 hari, hal ini ditunjukkan dengan nilai $p < 0,05$ hingga penyimpanan 14 hari. Hasil tersebut dipengaruhi oleh faktor lingkungan, yaitu kelembaban udara dan cahaya. Kelembaban udara yang digunakan dalam penyimpanan larutan *oral nutraceutical* tersebut yaitu 58% karena diketahui pada kelembaban udara 58% tidak mempengaruhi stabilitas suatu obat, sehingga tidak berpengaruh terhadap waktu penyimpanan larutan *oral nutraceutical*¹². Pengendalian cahaya dilakukan dengan cara mengemas larutan tersebut menggunakan botol kaca gelap untuk menghindari reaksi oksidasi, karena pengemasan menggunakan botol kaca yang bening dapat mempercepat reaksi oksidasi dengan cara cahaya bekerja sebagai katalis dalam reaksi oksidasi dan fotokatalis yang memindahkan energi dari gelombang cahaya ke dalam molekul-molekul zat aktif, sehingga molekul tersebut menjadi reaktif melalui kemampuan menaikkan energi sebagai kewaspadaan terhadap percepatan reaksi oksidasi. Oleh karena itu, pengemasan larutan dalam botol berwarna gelap dapat menahan cahaya masuk¹³.

Hasil uji *Post Hoc LSD* pada penyimpanan ke 21 hari menunjukkan perubahan hambatan pertumbuhan *Escherichia coli* yang berbeda secara signifikan, hal ini ditunjukkan dengan nilai probabilitas $p < 0,05$. Hasil tersebut dapat disebabkan oleh penggunaan suhu penyimpanan larutan *oral nutraceutical* tersebut di dalam *climate chamber* sebesar 25⁰C. Penyimpanan pada suhu tinggi dapat menyebabkan berkurangnya stabilitas obat dikarenakan suhu tinggi dapat mempercepat dekomposisi karena panas sehingga menyebabkan penurunan kadar dari obat tersebut, semakin lama waktu penyimpanan maka dekomposisi pada larutan *oral nutraceutical* ekstrak bunga delima merah (*Punica granatum L.*) semakin besar¹⁴.

Rusaknya mutu larutan *oral nutraceutical* ekstrak bunga delima merah (*Punica granatum L.*) juga dapat disebabkan oleh oksidasi karena oksigen, hal ini

dapat terjadi karena oksigen masuk ke dalam botol saat botol larutan dibuka ataupun sisa ruang pada bagian kepala botol yang tidak terisi larutan¹⁵. Semakin lama waktu penyimpanan larutan *oral nutraceutical* ekstrak bunga delima merah (*Punica granatum L.*) maka reaksi oksidasi ini dapat menurunkan mutu atau kestabilan larutan karena dapat mendegradasi obat tersebut.

4. PENUTUP

Berdasarkan penelitian mengenai pengaruh waktu penyimpanan larutan *oral nutraceutical* dari ekstrak bunga delima merah (*Punica granatum L.*) terhadap perubahan hambatan pertumbuhan *Escherichia coli* secara *in vitro* maka dapat disimpulkan bahwa waktu penyimpanan larutan *oral nutraceutical* ekstrak bunga delima merah (*Punica granatum L.*) berpengaruh tidak signifikan hingga waktu 14 hari terhadap perubahan hambatan pertumbuhan *Escherichia coli*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Slots J, Slots H. 2011. *Bacterial and viral pathogens in saliva: disease relationship and infectious risk*. Periodontology 2000, (55): 48-69.
2. Ginns, C. A., 2000, Colonization of the Respiratory Tract by a Virulent Strain of Avian *Escherichia coli* Requires Carriage of a Conjugative Plasmid. *Infection and Immunity*, 68 (3):1535-1541.
3. Karibasappa GN, L Nagesh, BK Sujatha. 2011. Assessment of Microbial Contamination of Toothbrush Head: An in Vitro Study, *Indian J Dent Res*, 22 (1): 2-5.
4. Yanti, Damai., Laili FY, Reni M. 2014. *Uji Daya Antibakteri Daun Delima terhadap Escherichia Coli dan Implementasinya dalam Pembuatan Film*. Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Untan.
5. Shekar. B. R. C., Nagarajappa, R., Suma, S., Thakur R, 2015, Herbal Extracts in Oral Health Care-A Review of The Current Scenario and Its Future Needs, *Farmacogn Rev.*, 9 (18): 87-92.
6. Talumewo, Marcella., Christy .M., 2015, Perbedaan Efektifitas Obat Kumur Antiseptik Beralkohol dan Non Alkohol dalam Menurunkan Akumulasi Plak, *Pharmakon J. Ilmiah Farmasi*, 4 (4): 1-3.
7. Widiyarti, Galuh., Andini .S., Marissa .A., 2014, Pembuatan *Oral Nutraceutical* dari Ekstrak Gambir, *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 12 (2): 145-1153.
8. Rummun, N., Somanah, J., Ramsaha, S., 2013, Bioactivity of Nonedible Parts of *Punica Granatum L.*: A Potential Source of Functional Ingredients, *Int. J. Of Food Science*, (10): 1-10.

9. Notoatmodjo, Soekidjo. 2012. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: PT Rineka Cipta.
10. Syahputri M.V, 2007. *Pemastian Mutu Obat Kependium Pedoman dan Bahan-bahan Terkait*, Edisi 1. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
11. Sandi I.M., Bachtiar H., Hidayati, 2015. Perbandingan Efektivitas Daya Hambat Dadih dengan Yogurt terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus Mutans*, *Jurnal B-Dent*, 2(2): 88-94.
12. Indrawati T., Sari N.K., 2010, Stabilitas Kaplet Asam Mefenamat dengan Suhu dan Kelembaban Ruang Penyimpanan yang Berbeda, *Makara*, 14(2): 75-80.
13. Ansel H., Allen L., Popovich N., 2011. *Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, 9th Edition, Lippincott Williams & Wilkins: Baltimore, 2 (3): 389.
14. Desai K.N, Gokani R.H. 2012. Stability Study: Regulatory Requirement. *Int J of Adv in Pharm Analysis (IJAPA)*, 2 (4): 73-78.
15. Rorong J., Aritonang H., Ranti F.P., 2008. Sintesis Metil Ester Asam Lemak dari Minyak Kelapa Hasil Pemanasan, *Chem. Prog.*, 1(1): 9-18.

