

Research Report

Daya Antibakteri Ekstrak Meniran (*Phyllanthus niruri linn*) Terhadap Bakteri *Enterococcus faecalis*

(Antibacterial Activity Of *Phyllanthus niruri linn* Extract Against *Enterococcus faecalis* Bacteria)

Tri Desiana KH.¹, Achmad Sudirman² and Devi Eka Juniarti²

¹Student of Dentistry, Faculty of Dentistry, Airlangga University, Surabaya

²Staf Pengajar Departement of Conservative, Faculty of Dentistry, Airlangga University, Surabaya

ABSTRACT

Background. *Enterococcus faecalis* is an anaerobic facultative gram-positive bacteria which contribute to the failure of root canal treatment with the number of prevalence 24% to 77%. At the preparation stage, a material for irrigation which has antibacterial activity to *Enterococcus faecalis* is needed. *Phyllanthus niruri linn* is one of herbal medicament which is potential as antibacterial agent as it contains active antibacterial chemical-compound. **Purpose.** The purpose of the study is to identify Minimum Inhibitory Concentration and Minimum Bactericidal Concentration of *Phyllanthus niruri linn* against *Enterococcus faecalis*. **Method.** The research method used is laboratory experimental. *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 was suspended into several concentration of *Phyllanthus niruri linn* extract from dilution method on BHIB medium. Each tube was incubated for 24 hours. Then, each tube was subcultured to Nutrient agar medium using spreader in a petridish. Each petridish was incubated for 24 hours and the growth of the colony was manually calculated using CFU/ml unit. **Result.** At the concentration of 6.25%, *Phyllanthus niruri linn* was able to inhibit the growth of *Enterococcus faecalis* as 90% and there was no bacteria at the concentration of 12.5%. **Conclusion.** 6.25% concentration of *Phyllanthus niruri linn* extract was Minimum Inhibitory Concentration and 12.5% concentration was Minimum Bactericidal Concentration to *Enterococcus faecalis*.

Keywords: *Phyllanthus niruri linn*, *Enterococcus faecalis*, Minimum Inhibitory Concentration, Minimum Bactericidal Concentration.

Korespondensi (Correspondence): Tri Desiana KH.; Student of Dentistry, Departement of Conservative Faculty of Dentistry, Airlangga University. Jln. Prof. Dr. Moestopo 47 Surabaya 60132, Indonesia. E-mail: kahadesi@gmail.com

PENDAHULUAN

Keberhasilan perawatan saluran akar tergantung banyak faktor antara lain faktor *host*, preparasi, mikroorganisme. Diantara faktor-faktor tersebut penyebab utama kegagalan perawatan saluran akar adalah terjadinya persistensi infeksi saluran akar yang menghambat penyembuhan daerah apikal.¹

Dasar dari perawatan saluran akar adalah *triad endodontic* yang mencakup 3 prinsip yaitu preparasi, sterilisasi dan obturasi.² Pada tahap preparasi saluran akar dibutuhkan bahan irigasi yang mampu membuang dan menghilangkan kotoran atau debris dalam saluran akar. Bahan irigasi saluran akar sebaiknya memiliki sifat antiseptik seperti menghambat reproduksi atau metabolisme mikroba dan memiliki sifat toksisitas yang seminimal mungkin. Terdapat berbagai bahan larutan irigasi dalam perawatan saluran akar salah satu contohnya adalah *Sodium*

hypochlorite (NaOCl) 2.5% yang sangat populer dan sering dianjurkan di bidang endodontik.^{2,3}

Salah satu bakteri fakultatif anaerob yang mendominasi pada saluran akar yang telah dirawat adalah *Enterococcus faecalis* yang memiliki prevalensi sebesar 24%-77%, prevalensi bakteri *Enterococcus faecalis* yang tinggi ini dikarenakan *Enterococcus faecalis* memiliki kemampuan resisten terhadap antibiotik, bertahan pada lingkungan dengan pH rendah, tahan pada keadaan nutrisi yang rendah, suhu dan kadar garam yang tinggi.^{4,5} *Enterococcus faecalis* juga turut mempengaruhi terjadinya kasus periodontitis kronis, lesi periapikal, dan pada kasus kegagalan perawatan saluran akar. *Enterococcus faecalis* merupakan bakteri yang bersifat persisten pada saluran akar dan memiliki kemampuan bertahan hidup pada beberapa bahan pengobatan seperti *calcium hydroxide* dan bahan irigasi saluran akar seperti *sodium hypochlorite* (NaOCl).^{6,7}

Perlu dilakukan penelitian untuk mencari bahan herbal sebagai alternatif yang memiliki sifat

antibakteri, bersifat biokompatibel dan tidak bersifat toksik. Saat ini telah banyak dilakukan penelitian dengan memanfaatkan bahan alam atau herbal yang dianggap memiliki sifat sederhana, tidak memiliki efek samping yang membahayakan, murah, relatif mudah didapat dan bersifat antibakteri.⁸ Meniran (*Phyllanthus niruri linn*) merupakan salah satu alternatif bahan nabati yang berpotensi sebagai antibakteri yang mudah tumbuh dalam berbagai karakteristik tanah, hal ini menyebabkan tanaman ini mudah didapat.^{9,10} Eksistensi meniran dalam dunia medis adalah mampu merangsang sistem imun tubuh manusia, senyawa flavonoid yang terkandung dalam meniran akan menempel ke sel imun dan memberikan respon intraseluler atau rangsangan untuk mengaktifkan kerja sel imun lebih baik. Sebuah penelitian telah menghasilkan produk obat imunostimulan yang berasal dari meniran yang dijual di pasaran dengan nama stimuno, selain itu banyak penelitian yang membuktikan meniran dalam meningkatkan kekebalan tubuh dan sebagai hepatoprotektor. Masih belum banyak penelitian yang membuktikan efektivitas meniran sebagai antibakteri maka dari itu penulis tertarik melakukan penelitian meniran sebagai antibakteri pada bakteri *Enterococcus faecalis*.¹¹

Menurut hasil penelitian yang telah dilakukan membuktikan bahwa meniran (*Phyllanthus niruri linn*) mengandung senyawa-senyawa bioaktif yang memiliki aktivitas antibakteri, diantaranya adalah senyawa terpenoid, komponen fenol, alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin.¹² Kemampuan daya antibakteri ini juga dibuktikan oleh penelitian terdahulu yang menyatakan bahwa pada konsentrasi 1,25% ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri linn*) efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan pada konsentrasi 5% sebagai KHM terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichiae*.¹³ Pada penelitian yang lainnya menyatakan bahwa ekstrak meniran pada konsentrasi 60% sebagai MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*) atau KBM dan konsentrasi 20% merupakan nilai MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) atau KHM dari bakteri *Shigella dysenteriae*.¹⁰

Berdasarkan uraian diatas, diketahui bahwa meniran (*Phyllanthus niruri linn*) memiliki kandungan bahan yang bersifat antibakteri, sehingga perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri linn*) terhadap *Enterococcus faecalis*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimal

(KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri linn*) terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*. Diharapkan dengan adanya data hasil penelitian ini, dapat menambah wawasan mengenai daya antibakteri ekstrak Meniran (*Phyllanthus niruri linn*) dan besar konsentrasi yang dapat menghambat dan membunuh pertumbuhan *Enterococcus faecalis*.

BAHAN DAN METODE

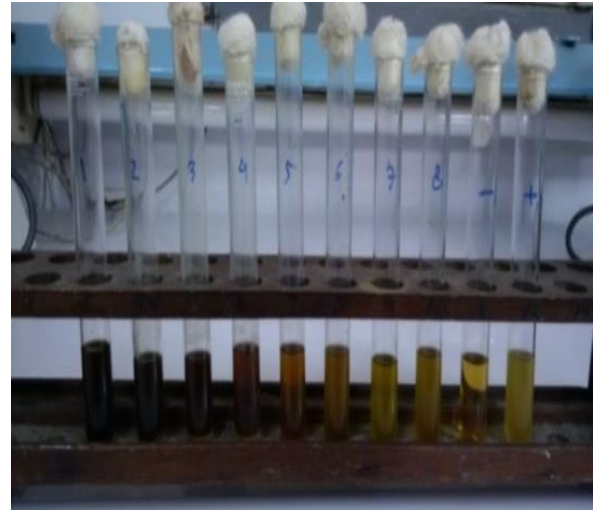
Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris, dengan rancangan *Posttest only control group design*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga pada bulan Juli-Oktober 2015. Sampel dalam penelitian ini yaitu stok bakteri *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Besar sampel yang diperoleh menggunakan rumus Federer, yaitu sebanyak 3 sampel namun dalam penelitian ini menggunakan 6 sampel agar menghasilkan data yang lebih akurat untuk masing-masing kelompok.

Penelitian dimulai dengan pembuatan ekstrak tumbuhan Meniran (*Phyllanthus niruri linn*) yang dimaserasi dengan larutan etanol 70% yang diperoleh dari Balai Penelitian dan Konsultasi Industri Surabaya. Setelah didapatkan ekstrak Meniran, dilakukan persiapan bakteri *Enterococcus faecalis* dengan mensuspensikan dalam media BHIB sampai kekeruhan setara dengan standart 0,5 Mc Farland ($1,5 \times 10^8$ CFU/ml). Pembuatan formulasi ekstrak meniran dengan berbagai konsentrasi dilakukan dengan metode pengenceran dilusi sehingga didapatkan ekstrak Meniran dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,56%, 0,78%. Penentuan KHM dan KBM dari ekstrak Meniran terhadap *Enterococcus faecalis* dimulai dari persiapan tabung sebanyak 10 tabung. Sebanyak 0,05 ml suspensi bakteri yang telah distandarkan dengan 0,5 Mc Farland ditanam dalam tabung yang berisi BHIB dan ekstrak Meniran dengan berbagai konsentrasi (100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,56%, 0,78%). Tabung reaksi K+ (Kontrol positif) diisi dengan 0,05 ml suspensi bakteri *Enterococcus faecalis* dan media BHIB tanpa penambahan ekstrak Meniran, sedangkan tabung reaksi K- (Kontrol negatif) berisi media BHIB tanpa penambahan bakteri *Enterococcus faecalis* maupun ekstrak Meniran untuk memastikan bahwa tidak ada kontaminasi bakteri pada media. Setiap kelompok terdiri dari 6

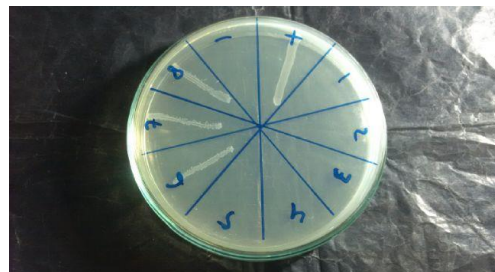
sampel, kemudian seluruh tabung reaksi tersebut diinkubasi dalam inkubator secara anaerob pada suhu 37°C selama 24 jam. Karena bahan ekstrak berwarna gelap dan kekeruhan terjadi di semua tabung, maka setiap tabung diambil 1 osse kemudian di *streaking* (digoreskan) pada media *nutrient agar* dan diinkubasi secara anaerob pada suhu 37°C selama 24 jam, kemudian diamati ada tidaknya pertumbuhan bakteri. Hasil *streak* batas pertumbuhan bakteri dijadikan sebagai dugaan KHM. Mengambil 0,1 ml dari tabung batas antara adanya pertumbuhan bakteri dan yang tidak serta kontrol positif, kemudian ditanam pada media *nutrient agar* menggunakan metode *spreader* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, untuk *cross check* pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*. Konsentrasi hambat minimal (KHM) ditentukan dengan cara menghitung jumlah koloni yang menunjukkan penghambatan 90% dan Konsentrasi Bunuh minimal (KBM) menunjukkan kematian sebesar 99,9% bakteri *Enterococcus faecalis* pada media *nutrient agar* yang dihitung secara manual dan dinyatakan dengan CFU (*Colony Forming Unit*), serta dibandingkan dengan kontrol positif dan kontrol negatifnya. Perhitungan tersebut diulang tiga kali oleh tiga pengamat yang berbeda, dan diambil rata-ratanya. Uji analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji normalitas *Kolmogrov Smirnov Test* dan uji non-parametrik menggunakan *Kruskall Wallis* dan dilanjutkan uji Signifikasi menggunakan *HSD Post Hoc Tukey Test*.

HASIL

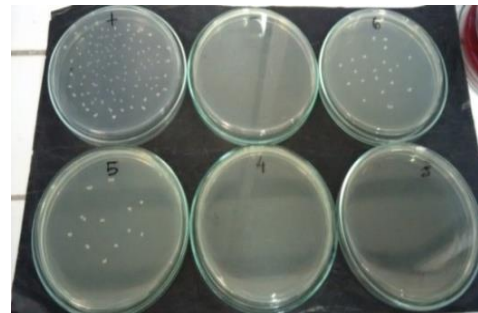
Penentuan KHM dan KBM tersebut dilakukan terlebih dahulu melalui penelitian pendahuluan dengan metode *serial dilution* sehingga didapatkan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,56%, dan 0,78%.



Gambar 1. Penipisan serial dilusi ekstrak Meniran (*Phyllanthus niruri linn*) terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*.



Gambar 2. Hasil *streak* pada media *nutrient agar* *cross check* pertumbuhan *Enterococcus faecalis* pada konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,56%, 0,78%, kontrol +, dan kontrol -.



Gambar 3. *Cross check* pertumbuhan *Enterococcus faecalis* pada media *nutrient agar* menggunakan metode *spreader*.

Pengamatan kemampuan ekstrak Meniran (*Phyllanthus niruri linn*) dalam menghambat dan membunuh bakteri *Enterococcus faecalis* yaitu dengan menghitung jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada media *Nutrient agar* dan dinyatakan dalam *Colony Forming Unit* (CFU). Pada konsentrasi 6,25% terjadi penurunan jumlah koloni bakteri yang cukup signifikan dengan besar prosentase 9,4%. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi 6,25% merupakan KHM karena tingkat pertumbuhan koloni bakteri dibawah 10%, sedangkan pada konsentrasi 12,5% sudah tidak

didapatkan pertumbuhan koloni bakteri, sehingga 15% merupakan KBM seperti yang tertera pada tabel 1.

Tabel 1.jumlah rata-rata pertumbuhan koloni bakteri *Enterococcus faecalis* pada media *Nutrient agar* dengan ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri linn*).

Kelompok perlakuan	N	Rata-rata jumlah koloni (CFU/ml)	Rata-rata jumlah koloni (%)
Konsentrasi 25%	6	0	0
Konsentrasi 12,5%	6	0	0
Konsentrasi 6,25%	6	12,33	9,4
Konsentrasi 3,12%	6	22,5	17,2
Kontrol +	6	131	100
Kontrol -	6	0	0

Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan jumlah koloni *Enterococcus faecalis* yang signifikan antara kelompok perlakuan penelitian yaitu kontrol positif, konsentrasi 6,25% dan 3,12% dan menunjukkan hasil bahwa pada konsentrasi 6,25% merupakan konsentrasi minimal yang dapat menghambat pertumbuhan *Enterococcus faecalis* (KHM) dan dilanjutkan dengan konsentrasi 3,12%.

Pada kelompok dengan konsentrasi 12,5% tidak dapat dilakukan uji beda dengan kelompok lain karena pada kelompok ini sudah tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri sehingga tidak ditemukan variasi nilai yang dapat diuji.

PEMBAHASAN

Daya antibakteri ekstrak tumbuhan meniran (*Phyllanthus niruri linn*) terhadap bakteri *Enterococcus faecalis* diketahui dengan melakukan penelitian laboratoris untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Penentuan KHM dan KBM pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode dilusi atau pengenceran seri untuk mengetahui data secara kuantitatif atau mendapatkan konsentrasi efektif dari meniran (*Phyllanthus niruri linn*) yang dapat menghambat dan membunuh bakteri *Enterococcus faecalis* secara tepat dan akurat.

Dalam penelitian ini terdapat 9 perlakuan yang dari ekstrak tumbuhan meniran (*Phyllanthus niruri linn*) dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,56%, 0,78% serta kontrol

positif. Penelitian ini dilakukan dengan 6 kali pengulangan. Kontrol positif merupakan media BHIB yang ditambah dengan bakteri *Enterococcus faecalis* tanpa penambahan ekstrak tumbuhan meniran (*Phyllanthus niruri linn*). Hasil penelitian menunjukkan rerata jumlah koloni yang tumbuh pada kontrol positif adalah sebanyak 131 CFU/ml. Rerata jumlah koloni yang tumbuh pada konsentrasi 6,25% ekstrak tumbuhan meniran (*Phyllanthus niruri linn*) adalah sebanyak 12,33 CFU/ml atau menghambat pertumbuhan bakteri sebesar 90,6% sehingga konsentrasi 6,25% ekstrak tumbuhan meniran (*Phyllanthus niruri linn*) dianggap sebagai konsentrasi hambat minimum (KHM) terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*. Pada konsentrasi 12,5% terlihat tidak adanya pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*, sehingga pada konsentrasi 12,5% sesuai dengan persyaratan konsentrasi bunuh minimum (KBM) yaitu mampu membunuh bakteri sebesar 99,9% dari total rata-rata bakteri yang berhasil tumbuh pada kontrol positif.

Hasil penghitungan pertumbuhan koloni *Enterococcus faecalis* dalam media *nutrient agar* menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri linn*) maka akan semakin meningkat bahan bioaktif yang bersifat antibakteri pada ekstrak meniran, sehingga jumlah koloni *Enterococcus faecalis* yang tumbuh semakin menurun. Sebelum dilakukan uji analisis antar kelompok penelitian pada kelompok perlakuan kontrol positif, kelompok perlakuan konsentrasi 6,25% dan kelompok perlakuan 3,12% terhadap bakteri *Enterococcus faecalis* dilakukan uji normalitas pada masing-masing kelompok perlakuan dengan menggunakan uji *Kolmogorov Smirnov Test* didapatkan $p > 0,05$ yang berarti data berdistribusi normal, kemudian dilanjutkan dengan Uji non parametrik test menggunakan *Kruskall Wallis* untuk melihat adanya signifikansi perbedaan antar kelompok perlakuan dan menunjukkan hasil $p = 0,000$ ($p < 0,05$) yang berarti ada perbedaan yang signifikan kemudian dilanjutkan uji *Post Hoc Test (Tukey HSD Test)* untuk menunjukkan adanya perbedaan signifikan jumlah koloni *Enterococcus faecalis* yang bermakna antara kontrol positif, konsentrasi 6,25% dan 3,12%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tumbuhan meniran (*Phyllanthus niruri linn*) dianggap efektif sebagai antibakteri karena ekstrak tumbuhan meniran (*Phyllanthus niruri linn*) memiliki senyawa-senyawa metabolit sekunder seperti polifenol, tanin, alkaloid, flavonoid, alkaloid dan saponin. Alkaloid bekerja sebagai antibakteri

dengan cara merusak komponen peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel bakteri.¹⁵ Polifenol bekerja dengan cara bereaksi dengan membran sel bakteri serta mengakibatkan lisis sel bakteri, denaturasi protein dan menghambat pembentukan protein sitoplasma, asam nukleat serta ikatan ATP-ase pada membran sel bakteri.¹⁵ Tanin bekerja dengan cara mengkoagulasi protoplasma bakteri, mempresipitasi protein dan mengikat protein sehingga menghambat pembentukan dinding sel bakteri. Flavonoid aktif sebagai daya antibakteri dengan menimbulkan denaturasi protein yang terdapat pada dinding sel sehingga dapat merusak susunan dan merubah mekanisme permeabilitas dari mikrosom, lisosom dan dinding sel.¹¹ Saponin dapat berinteraksi dengan dinding sel bakteri maka dinding tersebut akan lisis dikarenakan saponin dapat membentuk busa (bersifat seperti *detergent*) yang akan mengganggu tegangan permukaan dinding sel.⁴ Keempat senyawa aktif tersebut bekerja secara sinergis dalam menghambat dan membunuh *Enterococcus faecalis*.

Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri linn*) dapat bersifat sebagai antibakteri terhadap *Enterococcus faecalis*. Hal ini sesuai dengan hipotesis bahwa ekstrak meniran pada konsentrasi minimal tertentu memiliki kemampuan menghambat (KHM) dan membunuh (KBM) bakteri *Enterococcus faecalis* yang merupakan bakteri yang bersifat resisten pada saluran akar dan merupakan salah satu penyebab utama kegagalan perawatan saluran akar.

Berdasarkan hasil dan pembahasan dalam penelitian ini, maka dapat ditarik simpulan bahwa konsentrasi 6,25% merupakan konsentrasi hambat minimal dan konsentrasi 12,5% merupakan konsentrasi bunuh minimal dari ekstrak Meniran terhadap *Enterococcus faecalis*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Mulyawati E. 2011. Peran Bahan Disinfeksi Pada Perawatan Saluran Akar. *Majalah Kedokteran Gigi*. Vol 18. No.2. Pp. 205-9.
2. Grossman LI, Oliet S, Rio CED. 2010. *Ilmu endodontik dalam praktek*. Edisi 12. Jakarta: EGC. Pp. 25-9.

3. Walton ER, Torabinejad M. 2008. *Prinsip dan Praktik Ilmu Endodonsia*. Ed 3. Jakarta: EGC. Pp. 243-47.
4. Wang QQ, Zhang Fc, Chu HC, Zhu FX. 2012. Prevalence of *Enterococcus faecalis* In saliva and filled root canals of teeth associated with apical periodontitis. *International Journal of Oral Science*. Vol 4. Pp. 19-3.
5. Shahani MN, Reddy VVS, 2011. Comparison of antimicrobial substantivity of root canal irrigants in instrumented root canals up to 72 h: an in vitro study. *J Indian Soc Pedod Prev Dentistry*. Pp. 29.
6. Narayanan LL and Vaishnavi C, 2010. Endodontic Microbiology. India: Department of Conservative Dentistry. *J Conserv Dent*. Vol. 4 No. 13. Pp. 233-39.
7. Stuart CH, Scott A. Schwartz, Besoon TJ, and Christopher BO. 2006. *Enterococcus faecalis*: Its Role in Root Canal Treatment Failure and Current Concepts in Retreatment. *Review Article*. Vol. 32. No. 2. Pp. 93-8. Ed 3. Jakarta: EGC. Pp. 243-47.
8. Fitriyah. 2013. Obat Herbal Antibakteri ala Tanaman Binahong. *Jurnal KesMaSka*. Vol. 23. No. 34. Pp. 20-5.
9. Wibowo S. 2013. *Herbal ajaib*. Jakarta Pusat: Pustaka Makmur. Pp. 32-4.
10. Munfaati NP, Ratnasari E, Trimulyono G. 2015. In Vitro Antibacterial Compound Activity of Meniran Herbs (*Phyllanthus niruri*) Extract on the Growth of Shigella Dysenteriae Bacteria. *LenteraBio J*. Vol. 4. No. 1. Pp. 64-1.
11. Kardinan A, Kusuma FR. 2004. *Meniran penambah daya tahan tubuh alami*. Jakarta: Agromedia Pustaka. Pp. 6-18.
12. Shanmugam B, Shanmugam RK, Ravi Sahukari, Subbaiah VG, Mallikarjuna K, Reddy SK. 2014. Antibacterial Activity and Phytochemical Screening of *Phyllanthus Niruri Linn* in Ethanolic, Methanolic and Aqueous Extracts. *Inc J. Pharm, Sci. Res*. Vol. 27. No. 2. Pp. 85-9.
13. Obiagwu IN, Okechalu OB, Njoku MO. 2011. Studies on Antibacterial Effect of the Leaves Of *Phyllanthus niruri* on Some Enteric Pathogens. *Nigerian Journal of Biotechnology*. Vol. 23. Pp. 22-2.
14. Sudarno, Setiorini AF, Suprpto H. 2011. Effectivity Of Meniran (*Phyllanthus Niruri L*) Extracts as *Edwardsiella tarda* Antibacterial According In vitro. *Jurnal*

- Ilmiah perikanan dan Kelautan*. Vol. 3.
No. 1.Pp.103-8.
15. Kunaepah U, 2008. The effect of Fermentation Duration and Glucose Concentration on Antibacterial Activity, Total Polyphenol and Chemical Quality of Kidney Bean Milk Kefir. *Jurnal Universitas Diponegoro*. Pp. 25-7.