

<b>Research Report</b>
------------------------

## **Daya Hambat Aktivitas Enzim Glukosiltransferase (Gtf) *Streptococcus mutans* Oleh Ekstrak Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza Roxb.*)**

*(Inhibition Of Glucosyltransferase Enzyme Activities (Gtf) Streptococcus mutans By Temulawak Extract (Curcuma Xanthorrhiza Roxb.))*

Amanda,<sup>1</sup> Sri Kunarti,<sup>2</sup> dan Agus Subiwahjudi<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Mahasiswa Program Sarjana Kedokteran Gigi

<sup>2</sup> Staf Departemen Ilmu Konservasi Gigi

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga  
Surabaya-Indonesia

### **ABSTRACT**

**Background:** *Streptococcus mutans* is a bacteria which has glucosyltransferase (GTF) enzyme and acts as the main agent that causes dental caries. GTF enzyme will convert sucrose into fructose and glucan. Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb.*) is one of the traditional herbs which has xanthorrhizol, curcumin, flavonoid, tannin, and saponin as an antibacterial agent. **Purpose:** The purpose of this research is to investigate the effect of temulawak extract (*Curcuma xanthorrhiza Roxb.*) to the activity of GTF enzyme *Streptococcus mutans*. **Method:** This research used 25%, 37,5%, and 50% concentration of temulawak extract as the treatment, and 0.12% chlorhexidine gluconate as a control. The method of this research consists of three steps; preparing the temulawak extract concentration of 25%, 37,5%, and 50%, preparing the GTF enzyme from the supernatant of *Streptococcus mutans*, and testing GTF enzyme activity by analyzing the fructose concentration using High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Perusal of the fructose area was based on the retention time of fructose. One unit of GTF enzyme activity is defined as the 1  $\mu$ mol fructose / ml of enzyme / hour. **Result:** The obtained data then were analyzed by Post-Hoc Tukey (HSD). The result showed a significant difference between each treatment group with the control group ( $p < 0.05$ ). **Conclusion:** This research concludes that temulawak extract with 25%, 37,5%, and 50% concentration can't inhibit the GTF enzyme activity of *Streptococcus mutans*.

**Keywords:** *Curcuma xanthorrhiza Roxb.*, glucosyltransferase, *Streptococcus mutans*.

Korespondensi (correspondence): Amanda, c/o: Departemen Ilmu Konservasi Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga. Jl. Prof. Moestopo 47 Surabaya 60132, Indonesia. Email : [amanda-13@fkg.unair.ac.id](mailto:amanda-13@fkg.unair.ac.id)

### **PENDAHULUAN**

Karies merupakan masalah pada gigi yang terjadi di Indonesia dari berbagai kelompok ekonomi dan usia. Data Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) tahun 2013, prevalensi nasional masalah gigi dan mulut adalah 25,9%.<sup>1</sup> Karies gigi terjadi secara multifaktorial dengan melibatkan beberapa faktor, yaitu faktor penjamu, substrat, agen, dan waktu. Gigi dan saliva berperan sebagai faktor penjamu (host), karbohidrat sebagai substrat (makanan), dan agen mikroorganisme (bakteri) dari plak. Interaksi dari faktor-faktor tersebut secara bersamaan menyebabkan terjadinya karies gigi.<sup>2</sup>

Bakteri yang dominan dalam rongga mulut dan merupakan bakteri utama penyebab timbulnya karies gigi adalah *Streptococcus mutans*.<sup>3</sup> *Streptococcus mutans* menghasilkan suatu enzim glukosiltransferase (GTF) yang

mampu mensintesis glukukan yang berperan penting dalam proses perlekatan *Streptococcus mutans* dan pembentukan biofilm pada permukaan gigi, sehingga dapat menyebabkan pertumbuhan bakteri asidurik yang lain dan menghasilkan asam sehingga menurunkan pH dalam rongga mulut yang dapat melarutkan email gigi yang kemudian terjadi demineralisasi pada jaringan keras gigi.<sup>4</sup>

Karies dapat dicegah dengan penggunaan antibakteri karena proses terjadinya karies gigi berkaitan dengan adanya aktivitas bakteri. Antibakteriberbahan dasar kimia dianggap kurang efektif karena memiliki rasa yang tidak enak, mengganggu sensasi rasa, dan menghasilkan warna coklat pada gigi, serta dapat menimbulkan kekebalan, hal ini membuat terus dilakukan penelitian untuk pemanfaatan bahan herbal.<sup>5,6</sup> Penggunaan bahan dasar herbal yang

efektif, biokompatibel, dengan kadar toksisitas yang rendah dan memiliki daya antibakteri.<sup>7</sup>

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb*) merupakan salah satu tanaman herbal yang sudah banyak diteliti. Temulawak berkhasiat karena mengandung senyawa kimia diantaranya adalah kurkumin, minyak atsiri, saponin, flavonoid, curcumin dan tannin yang mampu menghambat dan membunuh bakteri. *Xanthorrhizol* merupakan komponen dari minyak atsiri temulawak dan merupakan komponen yang khas sehingga membedakan tanaman ini dari *Curcuma* spesies yang lain.<sup>8</sup>

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak temulawak terhadap aktivitas enzim GTF dari *Streptococcus mutans*.

## BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan desain rancangan *randomized post test only control group design*. Sampel dalam penelitian ini adalah enzim GTF dari supernatan bakteri *Streptococcus mutans* yang dibagi ke dalam enam belas tabung berbeda untuk diamati aktivitasnya pada ekstrak temulawak konsentrasi 25%, 37,5%, dan 50%. Penelitian ini dibagi menjadi 3 tahap, yaitu: penyiapan ekstrak temulawak, penyiapan enzim GTF, dan pengujian aktifitas enzim GTF.

Pembuatan ekstrak temulawak dilaksanakan di Materia Medika, Batu, Jawa Timur. Temulawak sebanyak satu kilogram yang telah dikeringkan, diekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% dengan metode maserasi. Selanjutnya diaduk dengan menggunakan *shaker digital* selama 2x24 jam dengan kecepatan 50 rpm. Setelah itu, disaring sehingga diperoleh filtrat berwarna coklat kekuningan. Filtrat tersebut diuapkan menggunakan *rotary evaporator* selama 3 jam untuk proses evaporasi, lalu diuapkan di *water bath* selama 2 jam.

Penyiapan enzim GTF. Bakteri *Streptococcus mutans* dibiakkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml BHIB cair. Setelah itu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C kemudian media kultur digetarkan dengan *shaker* pada kecepatan 150 rpm lalu disentrifugasi selama 30 menit dengan kecepatan 1500 rpm dengan sentrifuge 4°C, sehingga diperoleh supernatan yang mengandung enzim GTF.

Pengujian Aktivitas Enzim GTF. Pengujian aktivitas enzim dilakukan di Unit Layanan Pengujian Fakultas Farmasi Universitas

Airlangga. 16 tabung reaksi disediakan pada penelitian ini, untuk kelompok kontrol empat tabung, untuk perlakuan ekstrak temulawak konsentrasi 25% empat tabung, untuk perlakuan ekstrak temulawak konsentrasi 37,5% empat tabung, dan untuk perlakuan dengan ekstrak temulawak konsentrasi 50% empat tabung.

Kelompok perlakuan dan kontrol diberi campuran 0,875 ml sukrosa 0,25 M dalam buffer fosfat 0,2 M pH 7, ditambahkan 0,1 ml larutan enzim GTF, ditambah dengan 0,025 ml ekstrak temulawak konsentrasi 25% (volume yang sama untuk *chloheridine* 0,12% sebagai kontrol, ekstrak temulawak konsentrasi 37,5%, dan ekstrak temulawak konsentrasi 50% sebagai kelompok perlakuan). Semua bahan perlakuan dan kontrol tersebut diinkubasikan pada *water bath* suhu 37°C selama 2 jam.<sup>9</sup>

Sesudah diinkubasi dan disaring dengan kertas saring 0,45 µm, konsentrasi fruktosa diuji dengan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC), yaitu dengan menyuntikan 5µl larutan perlakuan atau larutan kontrol, kemudian dilihat waktu retensinya. Untuk menghitung kadar fruktosa dipergunakan rumus yang diperoleh melalui pembacaan luas area fruktosa pada larutan standar fruktosa sebagai

$$\text{Konsentrasi (\%)} = \frac{[(AC/AS) \times (VIS/VIC) \times FP] \times 100\%}{KS}$$

Keterangan:

AC	= area contoh
AS	= area standar
VIC	= volume injek contoh (5µL)
VIS	= volume injek standar (5µL)
KS	= konsentrasi standar (1%)
FP	= faktor pengenceran

berikut.<sup>10</sup>

## HASIL

Penelitian ini menunjukkan adanya perbedaan rerata aktivitas enzim GTF dari masing-masing perlakuan. Perbedaan rerata aktivitas enzim GTF pada masing-masing kelompok uji terlihat pada tabel 1.

Berdasarkan tabel 1, terlihat adanya peningkatan kadar fruktosa pada kelompok perlakuan ekstrak temulawa dibandingkan dengan kelompok kontrol. Terlihat juga terdapat penurunan kadar fruktosa pada kelompok pemberian ekstrak temulawak 50% dibandingkan dengan kelompok pemberian ekstrak temulawak 25% dan 37,5%.

**Tabel 1. Hasil pengukuran aktivitas enzim glukosiltransferase (GTF) menggunakan HPLC**

Kelompok	n	Rerata	SD
Kontrol ( <i>chlorhexidine</i> 0,12%)	4	24,45	6,21
Ekstrak temulawak konsentrasi 25% (T 25%)	4	69,1	4,59
Ekstrak temulawak konsentrasi 37,5% (T 37,5%)	4	46,6	3,74
Ekstrak temulawak konsentrasi 50% (T 50%)	4	35,28	3,3

Keterangan: n = jumlah sampel ; SD = standard deviasi

Hasil tersebut berdasarkan pengukuran jumlah konsentrasi fruktosa bebas yang kemudian dilakukan pengukuran jumlah konsentrasinya dengan menggunakan HPLC. Fruktosa dalam penelitian ini merupakan salah satu produk sintesis dari enzim GTF bakteri *Streptococcus mutans*. Rendahnya jumlah konsentrasi fruktosa yang terbentuk, dapat diasumsikan sebagai keberhasilan penghambatan aktivitas enzim GTF bakteri *Streptococcus mutans*.

Hasil uji *one way* ANOVA pada data hasil penelitian ini menunjukkan signifikansi 0,000 ( $p < 0,05$ ) yang menunjukkan adanya penurunan aktivitas enzim GTF yang bermakna antar kelompok uji, selanjutnya uji analisis *Post Hoc Comparison Test*. Hasil dari *Post Hoc Comparison Test* menunjukkan terdapat

Perlakuan	n	Kon trol	T 50%	T 37,5%	T 25%
Kontrol	4		0.026*	0.000*	0.000*
T 50%	4			0.020*	0.000*
T 37,5%	4				0.000*
T 25%	4				

perbedaan yang bermakna pada semua kelompok, baik kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol.

**Tabel 2. Nilai p hasil Post Hoc Comparison Test**

\*:  $p > 0,05$  sehingga tidak ada perbedaan yang bermakna

## PEMBAHASAN

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara *chlorhexidine* 0,12% dengan ekstrak temulawak konsentrasi 25%, 37,5%, dan 50%. Perbedaan rerata aktivitas enzim GTF dalam penelitian ini mengindikasikan adanya perbedaan kemampuan

penghambatan enzim GTF dari masing-masing kelompok uji. Penghambatan aktivitas enzim GTF bakteri *Streptococcus mutans* berperan penting dalam upaya pencegahan karies gigi. Rendahnya rerata aktivitas enzim GTF dari bakteri *Streptococcus mutans* dapat memperkecil kemungkinan terjadinya karies gigi.

Aktivitas enzim GTF dalam mengubah senyawa sukrosa menjadi fruktosa dan glukosa dapat dihambat oleh senyawa polifenol yang terdapat pada temulawak. Penelitian sebelumnya menunjukkan temulawak mengandung senyawa polifenol seperti *xanthorrhizol*, *curcumin*, *tannin*, *saponin*, dan flavonoid.<sup>12</sup>

*Xanthorrhizol* merupakan turunan fenol yang berinteraksi dengan sel bakteri melalui proses adsorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen. Pada kadar rendah akan terbentuk kompleks protein fenol dengan ikatan yang lemah dan segera mengalami penguraian, diikuti penetrasi fenol ke dalam sel yang menyebabkan denaturasi protein. Pada kadar tinggi fenol menyebabkan koagulasi protein dan sel membran mengalami lisis.<sup>14</sup>

Curcumin memiliki kemampuan sebagai antioksidan dengan mendonorkan atom H dari gugus fenoliknya. Ikatan hidrogen dengan protein membran sel bakteri menyebabkan pemisahan lapisan *lipid bilayer*, sehingga dapat menyebabkan kerusakan membran sel. Kerusakan pada membran sel tersebut mengakibatkan terganggunya permeabilitas sel yang mengakibatkan aktivitas enzim terhambat.<sup>13</sup>

Kandungan flavonoid dalam temulawak terdapat tiga mekanisme kerja antibakteri yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma, dan menghambat metabolisme energi, sehingga menyebabkan kerusakan pada permeabilitas dinding sel bakteri. Flavonoid merupakan salah satu senyawa fenol alami yang dapat menghambat enzim glukosiltransferase.<sup>15</sup>

Saponin memiliki kemampuan untuk menurunkan tegangan permukaan dinding sel karena pada saponin terdapat komponen aktif *aglycone* yang bersifat membranolitik. Selanjutnya, akibat dari penurunan tegangan permukaan tersebut, saponin akan membentuk kompleks dengan sterol yang menyebabkan pembentukan *single ion channel*. Adanya *single ion channel* ini akan menyebabkan ketidakstabilan membran sel, yang pada akhirnya dapat menghambat aktivitas enzim yang berperan dalam kehidupan sel bakteri.<sup>16</sup>

Tanin pada temulawak memiliki kemampuan untuk dapat menghambat enzim

ekstraseluler dengan cara mengambil alih substrat yang dibutuhkan pada pertumbuhan bakteri, atau bekerja langsung pada metabolisme dengan cara menghambat fosforilasi oksidasi.<sup>11</sup>

Perbedaan yang bermakna antar tiap kelompok kontrol menunjukkan bahwa terdapat pengaruh penggunaan ekstrak temulawak dalam penghambatan aktivitas enzim GTF melalui mekanisme antibakteri yang dimilikinya, namun diperlukan perbandingan untuk mengetahui konsentrasi ekstrak temulawak yang paling efektif dalam menghambat aktivitas enzim GTF. Penggunaan kelompok kontrol pada penelitian ini menjadi indikator efektivitas dari ekstrak temulawak. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan *chlorhexidine* 0,12% sebagai kontrol, karena *chlorhexidine* merupakan standar baku obat kumur.<sup>17</sup> *Chlorhexidin* mampu menurunkan pembentukan fruktan, namun sebaliknya pada penelitian Silva *et al.* (2014) menunjukkan bahwa *chlorhexidin* dapat menghambat pembentukan glukosa pada *Streptococcus mutans* dalam biofilm.<sup>17,18</sup>

Berdasarkan hasil penelitian dapat ditarik kesimpulan bahwa ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb.*) konsentrasi 25%, 37,5%, dan 50% tidak dapat menghambat aktivitas enzim glukosiltransferase (GTF) *Streptococcus mutans*.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. National Institute for Health Research & Development, 2013. Riset Kesehatan Dasar (National Health Survey). *Ministry of Health Republic of Indonesia*, (1).
2. Kidd EAM, Bechal SJ. 2012. Dasar-Dasar Karies-Penyakit dan Penanggulangan. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
3. Tulsani, S.G. *et al.*, 2014. The effect of Propolis and Xylitol chewing gums on salivary *Streptococcus mutans* count: a clinical trial. *Indian J Dent Res*, 25(6), pp.737–741.
4. Zhu, F., Zhang, H. & Wu, H., 2015. Glycosyltransferase-mediated Sweet Modification in Oral *Streptococci*. *Journal of Dental Research*, 94(5), pp.659–665
5. Leistevuo, J. & Tenovuo, J., 2000. Resistance to mercury and antimicrobial agents in *Streptococcus mutans* isolates from human subjects in relation to exposure to dental amalgam fillings. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44(2), pp.456–457.
6. Puspita, K.Y., 2014. Pengaruh Chlorhexidine Gluconate 0,12% Terhadap Keberhasilan Perawatan Perimplantitis Mucositis. *Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Mahasaraswati Denpasar*.
7. Kankariya, A., Patel, A. & Kunte, S., 2016. The effect of different concentrations of water soluble azadirachtin (neem metabolite) on *Streptococcus mutans* compared with chlorhexidine. *Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*, 34(2), p.105.
8. Purnamasari, I. W., Astuti, P., Ermawati, T. Viabilitas neutrofil yang diinkubasi dalam ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza Roxb*) dan dipapar dengan *Streptococcus mutans*. *Dentofasial*. 2014; 13(3) :135-140.
9. Prasetianto, Dimas. 2015. Aktivitas Enzim Glukosiltransferase (Gtf) Pada *Streptococcus mutans* Setelah Pemberian Probiotik *Lactobacillus Reuteri*. Karya Tulis Akhir Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga
10. Putriyanti D. 1990. Identifikasi fruktosa pada beberapa jenis tappe serta pengamatan perubahan mikrobiologis dan biokimiawi tape singkong selama fermentasi [undergraduate thesis]. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian
11. Isnarianti, R., Wahyudi, I.A. & Puspita, R.M., 2013. *Muntingia calabura* L Leaves Extract Inhibits Glucosyltransferase Activity of *Streptococcus mutans*. *Journal of Dentistry Indonesia*, 20(3), pp.59–63.
12. Rukayadi, Y. & Hwang, J.K., 2006. In vitro activity of xanthorrhizol against *Streptococcus mutans* biofilms. *Letters in Applied Microbiology*, 42(4), pp.400–404.
13. Hegde, M.N., Patil, M., Shetty, S. 2012. An in vitro evaluation of antimicrobial activity of aqueous *Curcuma longa* extract against endodontic pathogens. *Int. J. Res. Phytochem. Pharmacol.* ; 2(1): 1-6
14. Ferrazzano, Gianmaria *et al.* 2011. Plant Polyphenols and Their Anti-Cariogenic Properties: A Review. *Molecules* 16.12 (2011): 1486-1507
15. Umami, R.T., 2013. Pemanfaatan Rimpang Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza Roxb*) untuk Produksi Minyak Temulawak dengan Distilasi Vakum. *Program Diploma Fakultas Teknik Universitas Diponegoro Semarang*, pp.4–16.
16. Zahro, L., Agustini, R. 2013. Uji

- Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Saponin Jamur Tiram Putih (*Pleurotus Ostreatus*) Terhadap *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli*. Unesa Journal Of Chemistry. 2(3):120-129
17. Koo, H., Hayacibara, M. F., Schobel, B. D., Cury, J. A., Rosalen, P. L., Park, Y. K., Vacca-Smith, A. M., Bowen, W. H. Inhibition of *Streptococcus mutans* biofilm accumulation and polysaccharide production by apigenin and *tt*-farnesol. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2003; 52: 782–789
  18. Silva A.C.B., Stipp r.n., Graner, R.O.M., Sampaio, F.C., Araújo. D.A.M. Influence of Sub-Lethal and Lethal Concentrations of Chlorhexidine on Morphology and Glucosyltransferase Genes Expression in *Streptococcus mutans* UA159. *Advances in Microbiology*. 2014; 4: 945-954