



Potential Antibacterial Activity of Hydroxyapatite Composite and Green Betel Leaf Extract (*Piper betle L.*) Against *Streptococcus mutans* Bacteria

Riska Amelia Lawarti, Sari Edi Cahyaningrum[✉]

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya, Gedung C5-C6 Kampus Ketintang, Surabaya, Jawa Timur, 60231, Indonesia.

Info Artikel

Diterima November 2021

Disetujui Desember 2021

Dipublikasikan Mei 2022

Keywords:

Hydroxyapatite
Green betel leaf
Streptococcus mutans
Antibacterial
Caries

Abstrak

Karies gigi merupakan penyakit mulut yang sering terjadi dan bakteri penyebab utamanya adalah *Streptococcus mutans*. Hidroksiapatit merupakan material yang terdiri dari komponen kalsium dan fosfat yang memiliki kemampuan ganda sebagai agen remineralisasi dan antibakteri. Selain hidroksiapatit, senyawa fenol dan tanin pada ekstrak daun sirih hijau juga memiliki fungsi sebagai antimikroba. Tanin dan fenol berperan sebagai racun untuk mikroba dengan menghambat aktivitas enzim dari mikroba pengganggu. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui karakter fisika kimia dan aktivitas antibakteri *S. mutans* dari sediaan peroral hidroksiapatit dan ekstrak daun sirih hijau. Pada penelitian ini hidroksiapatit dan ekstrak daun sirih hijau dijadikan sediaan peroral dengan variasi penambahan ekstrak daun sirih hijau 0,1; 0,3; 0,5; 0,7 dan 1 gram. Hasil analisis FTIR menerangkan adanya pita serapan gugus fungsi PO_4^{3-} , OH dan CO_3^{2-} dari hidroksiapatit, serta gugus C=O dan C-O dari ekstrak daun sirih hijau yang mengalami pergeseran bilangan gelombang, menunjukkan telah terjadi ikatan antara hidroksiapatit dengan senyawa metabolit dalam ekstrak daun sirih hijau. Pada pengujian PSA, ukuran partikel terkecil ditunjukkan oleh variasi komposit hidroksiapatit dan ekstrak daun sirih hijau 0,3 gram yaitu 690,08 nm. Pengujian aktivitas antibakteri komposit hidroksiapatit-ekstrak daun sirih hijau menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap bakteri *S. mutans* dalam kategori kuat dengan rata-rata zona hambat 15-20 mm.

Abstract

Dental caries is a common oral disease and the main bacteria causing it is *Streptococcus mutans*. Hydroxyapatite is a material consisting of calcium and phosphate components that have dual abilities as remineralizing and antibacterial agents. Besides hydroxyapatite, phenolic and tannins compounds in green betel leaf extract also have antimicrobial functions. Tannins and phenols act as poisons for microbes by inhibiting the enzyme activity interfering microbes. The purpose of this study was to determine the physicochemical character and antibacterial activity of *S. mutans* from oral hydroxyapatite preparations and green betel leaf extract. In this study, hydroxyapatite and green betel leaf extract were used as oral preparations with addition variety of green betel leaf extract 0,1; 0,3; 0,5; 0,7 and 1 gram. The results of the FTIR analysis explain the absorption bands of the functional groups PO_4^{3-} , OH and CO_3^{2-} from hydroxyapatite, as well as the C=O and C-O groups from green betel leaf extract which have shifted the wave number, indicating that there has been a bond between hydroxyapatite and metabolite compounds in green betel leaf extract. In PSA testing, the smallest particle size was indicated by the variation of hydroxyapatite composite and 0,3 gram green betel leaf extract, which was 690,08 nm. The antibacterial activity test of the hydroxyapatite-green betel leaf extract showed the inhibitory activity against *S. mutans* in the strong category with an average inhibition zone of 15-20 mm.

Pendahuluan

Kesehatan mulut dan gigi adalah salah satu elemen fundamental yang memberikan dampak signifikan terhadap kinerja hidup seseorang. Faktor-faktor penyebab kerusakan gigi diantaranya yaitu konsumsi makanan dan minuman yang mengandung banyak gula dan keadaan mulut yang kotor (Family *et al.*, 2012). Sebanyak 2,43 miliar orang (36% dari penduduk) di dunia mengalami karies gigi pada gigi permanen mereka. Data lain menyatakan, bahwa sebanyak 620 juta penduduk (9% dari populasi) mengalami kerusakan pada gigi susu (Yadav & Prakash, 2016). Berdasarkan data Riskesdas tahun 2018, di Indonesia kasus prevalensi karies adalah sebesar 88,8% (Kemenkes, 2018).

Karies adalah masalah gigi yang disebabkan aktivitas bakteri karbohidrat makanan yang difermentasi dan terjadi pada jaringan keras gigi yaitu sementum, dentin dan email (Handi & Abidin, 2010). Karies gigi mengacu pada penghancuran lokal jaringan keras gigi yang rentan oleh produk sampingan asam oleh bakteri dari suatu karbohidrat makanan yang diragikan (Yadav & Prakash, 2016). Karies gigi terjadi karena pembentukan biofilm plak di atas gigi (Karpinski & Szkaradkiewicz, 2013). Plak gigi adalah komunitas mikroba yang mengkolonisasi permukaan gigi dalam suatu biofilm yang terstruktur dan terorganisir (Gutierrez-Venegas *et al.*, 2019). Faktor utama pembentukan biofilm adalah bakteri *Streptococcus mutans* (Gholibegloo *et al.*, 2018).

Streptococcus mutans dikenal sebagai bakteri kariogenik dengan kemampuan tinggi untuk mendekomposisi secara cepat karbohidrat makanan (Krzyściak *et al.*, 2013). *S. mutans* terdapat pada biofilm yang terbentuk pada permukaan gigi yang mampu menyebabkan karies pada gigi, dimana umumnya hidup pada lingkungan asam (Almoudi *et al.*, 2018). Selain karies, *S. mutans* juga bertanggung jawab dalam kasus endokarditis infeksi. Salah satu cara menanggulangi karies adalah menggunakan bahan teraupetik seperti hidroksiapatit.

Hidroksiapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) adalah material anorganik dengan kisi heksagonal yang paling banyak digunakan dalam dunia kedokteran dikarenakan HAp memiliki sifat biokompatibilitas yang sangat baik dengan gigi, tulang, otot dan kulit baik secara *in vitro* maupun *in vivo* (Warastuti *et al.*, 2013). Sifat lain yang dimiliki hidroksiapatit adalah bioaktivitas, dan osteokonduktivitas, tidak toksik dan tidak imunogenik (Suresh Kumar *et al.*, 2020; Nayak, 2010). Hidroksiapatit dapat digunakan sebagai rekonstruksi dan perbaikan rahang, pengobatan lesi gigi, dan operasi plastik (Imani *et al.*, 2021). Penelitian sebelumnya telah menyatakan bahwa pasta gigi yang mengandung HAp akan menutup tubulus dentin dengan proses remineralisasi (Zhou *et al.*, 2012). Pasta gigi dengan kandungan HAp sebagai bahan aktif menunjukkan efektivitas antibakteri yang baik terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus* penyebab kerusakan gigi. Penggunaan HAp sebagai pasta gigi dapat menunjukkan efek ganda dengan bertindak sebagai remineralisasi gigi dan sekaligus antibakteri (Wadu *et al.*, 2018).

Kalsium alami dapat digunakan sebagai prekursor pembuatan hidroksiapatit (Dahlan, 2013). Sumber Sumber-sumber kalsium alami yang dapat dimanfaatkan diantaranya yaitu batu kapur (Insiyah & Cahyaningrum, 2019), cangkang telur (Puspita & Cahyaningrum, 2017; Noviyanti *et al.*, 2017) cangkang kerang (Ahmad, 2017), dan tulang sapi (Afifah & Cahyaningrum, 2020). Metode pembuatan hidroksiapatit dapat dilaksanakan dengan berbagai jenis cara antara lain: pengendapan basah, hidotermal, sol gel, dan kalsinasi.

Daun sirih hijau (*Piper betle* L.) merupakan tumbuhan yang kaya akan senyawa bioaktif yang memiliki beberapa aktivitas seperti antibakteri, anti kariogenik, anti jamur, anti larva, anti protozoa, anti filaria, anti alergi, anti diabetes, anti tumor, antibakteri hipotensi, dan efek depresan (Madhumita *et al.*, 2020). Selain itu, daun sirih hijau juga dapat digunakan untuk menyembuhkan sariawan, keputihan, juga sebagai obat kumur untuk kebersihan mulut, penyembuh luka bakar, obat batuk, obat cacing, antiseptik luka (Kursia *et al.*, 2016), serta sebagai antimikroba (Vifta *et al.*, 2017).

Analisis fitokimia daun sirih hijau mengindikasikan adanya senyawa metabolit seperti terpen, fenol, tanin, alkaloid, saponin, flavonoid, steroid, katekol, polifenol, kavikol (Bajpai *et al.*, 2010; Chakraborty & Shah, 2011; Sugumaran *et al.*, 2011). Golongan senyawa metabolit pada daun sirih hijau yang mempunyai aktivitas sebagai anti bakteri *S. mutans* adalah fenol dan tanin (Novita, 2016). Fenol berperan menjadi racun untuk bakteri dengan menghalangi kerja enzim dari mikroba pengganggu (Verawati *et al.*, 2017). Tanin bekerja dengan cara menghancurkan membran sel bakteri melalui inaktivasi fungsi materi genetik dan inaktivasi enzim. Penggunaan bahan alam memiliki kelebihan karena tidak toksik, efek samping yang ditimbulkan sangat kecil dan efek terapeutiknya bersifat konstruktif sehingga relatif lebih aman (Owu *et al.*, 2020).

Ekstrak daun sirih dibuktikan mampu melawan bakteri (Candrasari *et al.*, 2012). Selain itu, fraksi daun sirih hijau memiliki aktivitas antibakteri *S. mutans* karena memiliki senyawa fenol di dalamnya (Novita, 2016). Ekstrak daun sirih mengandung senyawa tanin yang baik dalam menghalangi pertumbuhan bakteri *S. mutans* dengan nilai konsentrasi hambat minimum 15%. Menurut Anas *et al.* (2018) dalam penelitiannya

menyatakan bahwa ekstrak daun sirih hijau memiliki aktivitas penghambatan yang lebih baik dibandingkan ekstrak daun sirih merah terhadap pertumbuhan bakteri *S. mutans*.

Berdasarkan beberapa landasan tersebut, maka dilakukan penelitian pembuatan komposit hidroksiapatit dengan ekstrak daun sirih hijau dengan tujuan untuk mengetahui karakter fisika kimia dan aktivitas antibakteri *S. mutans*. Pada penelitian ini komposit hidroksiapatit dan ekstrak daun sirih hijau dijadikan sediaan peroral dengan variasi penambahan ekstrak daun sirih hijau 0,1; 0,3; 0,5; 0,7 dan 1 gram. Karakterisasi yang dilakukan dilakukan dengan uji analisis gugus fungsi dengan FTIR dan Uji ukuran partikel dengan PSA.

Metode

Alat dan Bahan

Penelitian ini menggunakan alat dan bahan berikut tabung reaksi, gelas ukur, gelas kimia, neraca analitik, inkubator, corong, spatula, *rotary evaporator*, kaca arloji, pipet tetes, pipet volume, oven, tanur, Instrumen FT-IR, Instrumen PSA, thermometer, *magnetic stirrer*, *Spin bar*, mortal alu, ayakan 100 mesh, *petridish*, kertas saring, aquades, H₂O₂, asam asetat, tulang sapi, daun sirih hijau, hidroksiapatit, *Nutrien Agar*, asam fosfat, bakteri *streptococcus mutans* dan propilen glikol.

Pembuatan Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*)

Metode ekstraksi pada penelitian ini adalah maserasi dengan pelarut aquades. Sebanyak 1000 gram daun sirih dicuci menggunakan air mengalir sebanyak tiga kali dan ditiriskan. Dikeringkan dibawah terik matahari selama tujuh hari, kemudian dilakukan perajangan. Ditimbang simplisia yang dihasilkan, kemudian dilakukan proses maserasi dengan cara; simplisia dimasukkan ke dalam wadah dan direndam dengan aquades hingga sampel terendam sempurna (2-3 cm di atas permukaan sampel). Perendaman ini dilakukan selama tujuh hari di dalam ruangan yang terlindungi dari sinar matahari dan pada suhu kamar. Maserat yang diperoleh disaring, hasil saringan (filtrat) dihilangkan pelarutnya dengan menggunakan *evaporator* hingga diperoleh ekstrak pekat dan kental (Rivai, *et al.*, 2014).

Sintesis Komposit Hidroksiapatit-Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*)

Membuat larutan Hap 1% dengan melarutkan 0,2 gram Hap dalam 20 mL asam asetat. Larutan hidroksiapatit 1% yang telah dibuat, selanjutnya dimasukkan kedalam gelas kimia sebanyak 2 mL dan ditambahkan dengan ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) sebanyak 0,1 0,3 gram 0,5, 0,7 dan 1 gram. Kemudian diaduk hingga homogen. Komposit yang dihasilkan dilakukan karekterisasi menggunakan FT-IR dan dilakukan uji PSA (Ramadhan & Cahyaningrum, 2018).

Uji Aktivitas Antibakteri Komposit Hidroksiapatit-Ekstrak Daun Sirih Hijau Sterilisasi Alat

Alat untuk prosedur uji aktivitas antibakteri harus melalui tahap sterilisasi. Tabung reaksi, pipet volume, gelas ukur, erlenmeyer, cawan petri dibilas dengan air bersih. Kemudian dilapisi menggunakan *aluminium foil* dan dimasukkan oven pada suhu 161 °C selama kurang lebih 2 jam untuk sterilisasi. Sterilisasi pinset dan jarum Ose dilakukan setiap kali pemakaian dengan metode pemanasan langsung di atas nyala api pembakar spiritus (Djohari, *et al.*, 2019).

Persiapan Media

Media NA dibuat dengan ditimbang 2,0 gram NA, kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan aquades sebanyak 100 mL. Media dipanaskan sambil diaduk hingga mendidih dan homogen. Larutan disterilkan dalam autoklaf kurang lebih 15 menit pada suhu 120 °C (Nurjanna, *et al.*, 2018).

Persiapan Bakteri

Media cair NB dibuat dengan cara dimasukkan 0,8 gram NB base pada 100 mL aquades. Bakteri *S. mutans* yang diperoleh dari proses pembiakan diambil dengan jarum Ose sebanyak 1 Ose. Kemudian dilakukan inokulasi bakteri *S. mutans* yang disuspensi pada media cair NB. Kekeruhan suspensi harus sesuai dengan standar Mc Farlandll yaitu 6x10⁸ CFU/ml (Dewi, *et al.*, 2015).

Uji Aktivitas Antibakteri

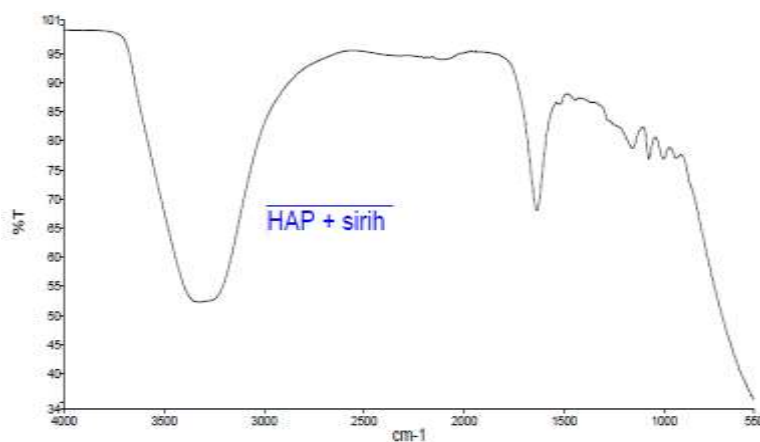
Metode difusi cakram dipilih untuk pengujian aktivitas antibakteri. Langkah yang pertama adalah dipanaskan kembali media NA. Selanjutnya disiapkan suspensi bakteri *S. mutans* dengan diambil 1 mL suspensi, selanjutnya dimasukkan ke dalam *petridish*. Ditambahkan media NA ke *petridish* pada kondisi

masih sedikit panas sebanyak 5 mL. Kemudian *petridish* digoyang perlahan agar suspensi bakteri *S. mutans* dan media NA tercampur homogen. Langkah selanjutnya, disiapkan sampel komposit hidroksiapatit-ektstrak daun sirih hijau dengan variasi komposisi ekstrak daun sirih hijau 0,1; 0,3; 0,5; 0,7; dan 1 gram, kontrol positif dan kontrol negatif. Kemudian *blankdish* dicelupkan ke dalam sampel yang akan di uji. Selanjutnya dimasukkan kertas cakram yang telah dicelupkan sampel sebanyak 3 buah ke dalam *petridish* yang berisi media NA dan bakteri *S. mutans* yang sudah mulai memadat. Selanjutnya, diinkubasi dengan suhu 37 ° C *petridish* selama 24 jam. Setelah itu, *petridish* dikeluarkan dari inkubator dan diukur zona bening atau zona inhibisi pada setiap sekeliling kertas cakram menggunakan jangka sorong (Handayani *et al.*, 2016).

Hasil dan Pembahasan

Analisis Gugus Fungsional dengan FT-IR

Tujuan Analisa gugus fungsional dengan FTIR adalah untuk mengetahui adanya gugus fungsi yang terdapat pada komposit hidroksiapatit dan ekstrak daun sirih hijau. Analisa ini digunakan untuk mengetahui reaksi yang terjadi ditandai dengan kenaikan, penurunann dan pergeseran intensitas dari *peak* (puncak) yang diperoleh pada area bilangan gelombang 4000-500 cm^{-1} . Hasil analisa FTIR komposit hidroksiapatit dan ekstrak daun sirih hijau ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil analisis FT-IR pada komposit

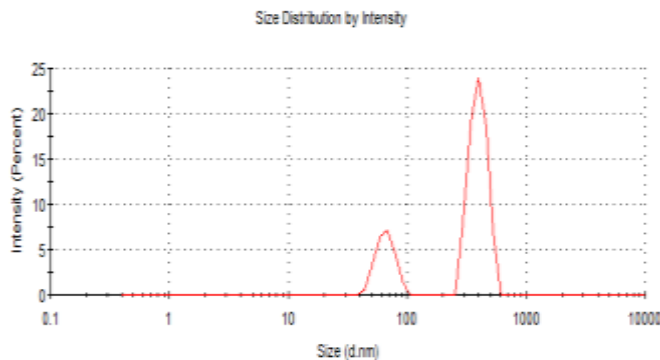
Gambar 1. merupakan hasil analisis gugus fungsi dengan FTIR pada komposit hidroksiapatit dan ekstrak daun sirih hijau. Berdasarkan grafik spektra menunjukkan bahwa gugus OH terdeteksi pada bilangan gelombang 3325,44 cm^{-1} . Hasil deteksi gugus OH didukung oleh Hikmah *et al.* (2018) yang menjelaskan bahwa pada rentang bilangan gelombang 3200–3650 cm^{-1} terindikasi adanya gugus hidroksil (OH) pada sampel. Pada spektra tersebut gugus fungsi C=O terdeteksi pada bilangan gelombang 1634,72 cm^{-1} yang menandakan adanya salah satu gugus fungsi dari senyawa metabolit yang terdapat dalam daun sirih hijau. Pada spektra muncul *peak* pada bilangan gelombang 1156,81 cm^{-1} yang mengindikasikan adanya gugus CO_3^{2-} . Hasil ini didukung oleh Ranamanggala *et al.* (2020) pada bilangan gelombang sekitar 1100,00 cm^{-1} terdeteksi adanya gugus karbonat dalam tulang manusia. Gugus karbonat yang didapat berasal dari CO_2 di udara akan bereaksi dengan kalsium, membentuk suatu ikatan sehingga muncul fasa kalsium karbonat pada saat proses sintesis dilakukan (Bang *et al.*, 2015). Selain itu, pada bilangan gelombang 1075,29 cm^{-1} muncul *peak* yang mengindikasikan adanya gugus fungsi C-O. Hasil ini didukung oleh Batan *et al.* (2018) yang menjelaskan bahwa pada rentang 1050–1300 cm^{-1} terindikasi adanya gugus fungsi C-O pada sampel. Kandungan gugus fosfat atau PO_4^{3-} terdeteksi pada bilangan gelombang 1001,66 cm^{-1} . Hasil deteksi gugus fosfat (PO_4^{3-}) didukung dengan penelitian Mondal *et al.* (2012) menyatakan bahwa pada bilangan gelombang antara 1000–1100 cm^{-1} mengindikasikan terdapat gugus fosfat dengan pola vibrasi *stretching*.

Gugus fungsi PO_4^{3-} , OH dan CO_3^{2-} merupakan komponen utama dalam pembentukan hidroksiapatit (Hanura *et al.*, 2017). Selain gugus fungsi tersebut, muncul gugus fungsi lain, yaitu C-O dan C=O yang bersumber dari ekstrak daun sirih hijau. Menurut Tawakkal *et al.* (2021) gugus fungsi C=O terdeteksi pada rentang bilangan gelombang 1650–1900 cm^{-1} , sedangkan hasil FTIR dari komposit hidroksiapatit dan ekstrak daun sirih hijau menunjukkan bahwa gugus fungsi C=O terdeteksi pada bilangan gelombang 1634,72 cm^{-1} . Hal ini karena terjadi ikatan kovalen koordinasi antara hidroksiapatit dengan C=O dari ekstrak daun sirih hijau, sehingga puncak tersebut mengalami pergeseran (Ramadhan & Cahyaningrum, 2018). Bilangan gelombang pada gugus C=O dari ekstrak daun sirih hijau yang mengalami pergeseran

menunjukkan telah terjadi ikatan antara hidroksiapatit dengan senyawa metabolit yang berada pada ekstrak daun sirih hijau.

Analisis Ukuran Partikel dengan PSA

Analisis partikel menggunakan Instrumen PSA dengan tujuan untuk mengetahui distribusi diameter ukuran partikel dari komposit hidroksiapatit-ekstrak daun sirih hijau. Grafik analisis PSA dapat disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil analisis PSA pada komposit

Berdasarkan pengujian ukuran partikel, dilakukan 5 kali pengulangan untuk setiap sampel, sehingga diperoleh hasil : pada sampel dengan variasi sirih 0,1 gram diperoleh rata-rata berukuran 5956 nm. Sedangkan pada sampel dengan variasi sirih 0,3 gram diperoleh rata-rata berukuran 690,08 nm. Selanjutnya sampel dengan variasi sirih 0,5 gram diperoleh rata-rata berukuran 3063 nm. Sedangkan pada sampel dengan variasi sirih 0,7 gram diperoleh rata-rata berukuran 5042,4 nm. Dan pada sampel dengan variasi sirih 1 gram diperoleh rata-rata berukuran 5832,2 nm. Komposit hidroksiapatit dan ekstrak daun sirih hijau dengan variasi penambahan 0,1; 0,5 ; 0,7 dan 1 gram belum mencapai ukuran nano dikarenakan hasilnya diatas 1000 nm. Untuk variasi penambahan sirih 0,3 gram dapat dikategorikan dalam golongan nanopartikel. Hal ini kemungkinan dikarenakan terjadi aglomerasi partikel sehingga partikel tumbuh membesar dan mudah terlepas. Menurut Hanura *et al.* (2017) nanopartikel merupakan materi yang memiliki ukuran partikel kurang dari 1 mikrometer atau dibawah 1000 nm.

Penelitian sebelumnya yang dilakukan Zein *et al.* (2020) dengan menggunakan tulang ikan tenggiri sebagai perkursor pembuatan hidroksiapatit diperoleh ukuran partikel 1,051 μm ; 0,798 μm , dan 1,069 μm . Zein (2020) menyatakan bahwa hasil yang di dapat belum berukuran nanometer. Anggresani *et al.* (2020) juga melakukan penelitian tentang hidroksiapatit yang disintesis dari limbah tulang ikan tenggiri sebagai perkursor kalisum menghasilkan ukuran partikel 1,058 μm ; 1,109 μm ; dan 0,794 μm . Penelitian yang dilakukan Saryanti & Nugraheni (2019) dalam pembuatan nanopartikel ekstrak etanol daun sirih dengan metode gelas ionic menggunakan Na Alginat dan CaCl_2 dihasilkan ukuran partikel sebesar 259,1 nm. Semakin kecil ukuran partikel maka luas permukaannya semakin besar, sehingga memungkinkan kontak dengan dinding mikroorganisme lebih tinggi.

Uji Aktivitas Antibakteri Komposit Hidroksiapatit-Ekstrak Daun Sirih Hijau

Pengujian aktivitas antibakteri komposit hidroksiapatit-ekstrak daun sirih hijau dilakukan dengan metode difusi cakram. Adanya potensi hambat pada komposit hidroksiapatit dan ekstrak daun sirih hijau dibuktikan dengan munculnya zona bening di sekeliling kertas cakram. Hasil pengamatan difokuskan dengan adanya kemunculan zona bening, dimana zona bening yang didapatkan dapat dinyatakan sebagai diameter zona hambat. Semakin luas zona bening yang didapatkan, semakin tinggi aktivitas antibakterinya. Hasil zona hambat komposit hidroksiapatit dan ekstrak daun sirih hijau dapat disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Zona hambat yang terbentuk

Pada penelitian ini uji aktivitas antibakteri dilakukan terhadap 5 variasi komposit dengan perbedaan penambahan sirih yaitu 0,1; 0,3; 0,5; 0,7; dan 1 gram. Kontrol positif yang digunakan adalah hidroksiapatit 1%, dan aquades bertindak sebagai kontrol negatif. Berikut diperoleh pengukuran diameter zona bening pada masing-masing sampel beserta diameter zona bening pada kontrol positif dan kontrol negatif, dapat disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Zona hambat komposit hidroksiapatit-ekstrak daun sirih hijau

Sampel	Diameter Zona bening (mm)			Rata-rata	Std Deviasi
Sirih 0,1 g	22,6	22,5	20,1	21,73	1,16
Sirih 0,3 g	17,3	16,1	16,6	16,67	0,49
Sirih 0,5 g	18,4	18,9	18,2	18,50	0,29
Sirih 0,7 g	20,0	20,6	17,8	19,47	1,20
Sirih 1 g	18,4	18,9	20,5	19,27	0,90
K+	14,7	11,2	9,1	11,67	2,31
K-	0	0	0	0	0

Data yang diperoleh di atas kemudian dianalisis dengan uji stastistika meliputi uji normalitas, *one way anova* dan uji lanjutan menggunakan Duncan. Uji normalitas memberikan hasil bahwa ragam zona hambat pada komposit hidroksiapatit dan ekstrak daun sirih hijau terdistribusi normal dan diperoleh tingkat signifikan 0.118 ($p > 0.05$). Hasil *uji one way anova* dengan taraf kepercayaan 5% diperoleh tingkat signifikan 0.000 ($p < 0,05$) sehingga dapat diketahui ada perbedaan yang signifikan antara data satu dan lainnya. Kemudian dilakukan uji lanjutan menggunakan Duncan yang memberikan hasil perlakuan variasi sirih 1 gram, 0,7 gram dan 0,1 gram memiliki rerata paling tinggi serta memiliki perbedaan yang nyata terhadap kontrol positif, sehingga komposit hidroksiapatit-ekstrak daun sirih hijau menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap bakteri *S. mutans*. Hal ini sesuai dengan penelitian Msandam *et al.* (2016) yang menerangkan bahwa ekstrak daun sirih hijau dengan konsentrasi 20, 40, 60 dan 80 $\mu\text{l/ml}$ mempunyai aktivitas penghambatan pada bakteri *S. mutans*. Penelitian yang dilakukan oleh Anas *et al.* (2018) juga mengungkapkan ekstrak daun sirih hijau pada konsentrasi 100%; 10%; 1% dan 0,1% dengan menggunakan *Chorexidine* 0,2% sebagai kontrol positif, hasil pengujian menyatakan pada konsentrasi 100% dan 10% memiliki efektivitas penghambatan pada bakteri yang lebih baik dibandingkan kontrol positif.

Nazri *et al.* (2011) mengklasifikasikan diameter zona bening yang kurang dari 9 mm memiliki aktivitas yang lemah, diameter zona bening dengan rentang 10-14 mm dikategorikan mempunyai aktivitas yang sedang dan diameter zona bening yang dengan rentang 15-20 mm memiliki aktivitas yang kuat. Berdasarkan rata-rata zona hambat yang didapat dalam Tabel 1. hasil uji aktivitas antibakteri komposit hidroksiapatit dan ekstrak daun sirih termasuk dalam kategori yang memiliki aktivitas kuat pada penghambatan pertumbuhan bakteri.

Penghambatan tersebut terjadi karena adanya kerusakan pada membran sel bakteri. Kerusakan ini disebabkan adanya aktivitas dari senyawa fenol dan tanin. Senyawa fenol akan mendenaturasi protein sel yang melibatkan ikatan hidrogen dengan cara absorpsi (Putri *et al.*, 2014). Ikatan hidrogen mempengaruhi permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma (Carolia & Noventi, 2016). Meningkatnya permeabilitas dinding sel yang terjadi karena struktur protein berubah, hal ini menyebabkan perumbuhan sel terhambat dan kemudian sel menjadi rusak (Pangesti *et al.*, 2017). Selain itu, senyawa fenol dapat berkoagulasi dengan protein selular. Aktivitas tersebut terjadi ketika bakteri berada pada tahap pembelahan (Novita, 2016). Tanin sebagai bahan antimikroba bekerja dengan cara menghancurkan membran sel bakteri melalui inaktivasi fungsi materi genetik dan inaktivasi enzim. Hal ini akan menghambat pertumbuhan bakteri dan menginaktivkan kemampuan menempel bakteri (Deru *et al.*, 2019; Owu *et al.*, 2020).

Simpulan

Hasil analisis FTIR menerangkan adanya pita serapan gugus fungsi $\text{PO}_4^{3-}\text{OH}$ dan CO_3^{2-} dari hidroksiapatit, serta gugus $\text{C}=\text{O}$ dan $\text{C}-\text{O}$ dari ekstrak daun sirih hijau yang mengalami pergeseran bilangan gelombang, menunjukkan telah terjadi ikatan antara hidroksiapatit dengan senyawa metabolit dalam ekstrak daun sirih hijau. Pada pengujian PSA, ukuran partikel terkecil ditunjukkan oleh variasi komposit hidroksiapatit dan ekstrak daun sirih hijau 0,3 gram yaitu 690,08 nm. Pengujian aktivitas antibakteri komposit hidroksiapatit-ekstrak daun sirih hijau menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap bakteri *S. mutans* dalam kategori kuat dengan rata-rata zona hambat 15-20 mm.

Daftar Referensi

- Afifah, F., & Cahyaningrum, S. E. 2020. Sintesis Dan Karakterisasi Hidroksiapatit Dari Tulang Sapi (*Bos taurus*) Menggunakan Teknik Kalsinasi. *UNESA Journal of Chemistry*, 9(3): 1-19.
- Ahmad, I. 2017. Pemanfaatan Limbah Cangkang Kerang Darah (*Anadara granosa*) Sebagai Bahan Abrasif dalam Pasta Gigi. *Jurnal Galung Tropika*, 6(1): 49-59. <http://dx.doi.org/10.31850/jgt.v6i1.210>
- Almoudi, M. M., Hussein, A. S., & Zain, N. M. 2018. A Systematic Review on Antibacterial Activity of Zinc Against *Streptococcus mutans*. *Saudi Dental Journal*, 30(4): 283-291.
- Anas, R., Kurniawan, & Puspitasari, Y. 2018. Perbedaan Daya Hambat Antibakteri Antara Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) dan Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper batle* L.) terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *As-Syifaa Jurnal Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia Makassar*, 10(1): 120-125. <https://doi.org/10.33096/jifa.v10i1.396>
- Anggresani, L., Perawati, S., Diana, F. & Sutrisno, D. 2020. Pengaruh Variasi Perbandingan Mol Ca/P Pada Hidroksiapatit Berpori Tulang Ikan Tenggiri (*Scomberomorus guttatus*). *Jurnal Farmasi Higea*, 12(1): 55-64.
- Bajpai, V., Sharma, D., Kumar, B., & Madhusudanan, K. P. 2010. Profiling of *Piper betle* Linn. cultivars by direct analysis in real time mass spectrometric technique. *Biomedical Chromatography*, 24(12): 1283-1286. <https://doi.org/10.1002/bmc.1437>
- Bang, L. S., Ramesh, S., Purbolaksono, J., Ching, Y. C., Long, B. D., Chandran, H., & Othman, R. 2015. Effects of Silicate and Carbonate Substitution on the Properties of Hydroxyapatite Prepared by Aqueous CO-Precipitation Method. *Material and Design*, 87: 788-796.
- Batan, A., Daniel & Simanjuntak, P. 2018. Isolasi Senyawa Kimia Aktif Antioksidan Dari Fraksi Etil Asetat Daun Sirih Hutan (*Piper aduncum* L.). *Jurnal Atomik*, 3(2): 83-90.
- Candrasari, A. M., Amin, R., Masna, H., & Ozy, R. A. 2012. Uji Daya Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum* Ruiz & Pav.) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Eschericia. coli* ATCC 11229 dan *Candida albicans* ATCC 10231 secara In Vitro. *Biomedika*, 4(1), 9-10. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2015.08.069>
- Carolia, N., & Noventi, W. 2016. Potensi Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) sebagai Alternatif Terapi Acne vulgaris. *Majority*, 5(1): 140-145.
- Chakraborty, D., & Shah, B. 2011. Antimicrobial, antioxidative and antihemolytic activity of *Piper betle* leaf extracts. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*, 3(3): 192-199.
- Dahlan, K. 2013. Potensi Kerang Ranga sebagai Sumber Kalsium dalam Sintesis Biomaterial Substitusi Tulang. *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung*. 147-151
- Deru, C. A., Salosso, Y., & Eoh, C. B. 2019. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle*) terhadap Tingkat Kesembuhan dan Kelulushidupan Kepiting Bakau (*Scylla seratta*) yang Dimutilasi. *Jurnal Aquatik*, 2(1): 1-13.
- Dewi, Z. Y., Nur, A., & Hertriani, T. 2015. Efek antibakteri dan penghambatan biofilm ekstrak sereh (*Cymbopogon nardus* L.) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*, 1(2): 136-141. <https://doi.org/10.22146/majkedgiind.9120>
- Djohari, M., Hasti, S., & Lestari, R. 2019. Identifikasi dan Uji Aktivitas Daya Hambat Ekstrak Etanol Biji Pinang (*Areca catechu* L.) terhadap Isolat Bakteri Gusi. *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*, 7(2): 61-69.
- Family, R., Solati-Hashjin, M., Nik, S. N., & Nemati, A. 2012. Surface Modification for Titanium Implants by Hydroxyapatite Nanocomposite. *Caspian Journal of Internal Medicine*, 3(3): 460-465.
- Gholibegloo, E., Karbasi, A., Pourhajibagher, M., Chiniforush, N., Ramazani, A., Akbari, T., Khoobi, M. 2018. Carnosine-graphene oxide conjugates decorated with hydroxyapatite as promising nanocarrier for ICG loading with enhanced antibacterial effects in photodynamic therapy against *Streptococcus mutans*. *Journal of Photochemistry & Photobiology B : Biology*, 181: 14-22.
- Gutierrez-Venegas, G., Gomez-Mora, J. A., Flores-Sanchez, M. A., & Ortiz-Miranda, L. F. 2019. Effect of Flavonoids on Antimicrobial Activity of Microorganisms Present in Dental Plaque. *Heliyon*, 5(12): 1-6. <https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.heliyon.2019.e03013>

- Handayani, F., Warnida, H. & Nur, S. J., 2016. Formulasi dan Uji Aktivitas Antibakteri *Streptococcus mutans* dari Sediaan Mouthwash Ekstrak Daun Salam. *Media Sains*, 9(1) :74-84.
- Handi, J., & Abidin, T. 2010. Pengaruh Pasta Gigi Mengandung Kitosan Blangkas Bermolekul Tinggi terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Dentistry E-Journal*, 1(1): 1-7.
- Hanura, A. B., Trilaksani, W., & Suptijah, P. 2017. Karakterisasi Nanohidroksiapatit Tulang Tuna *Thunnus* sp. sebagai Sediaan Biomaterial. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kalautan Tropis*, 9(2): 619-629. <http://dx.doi.org/10.29244/jitkt.v9i2.19296>
- Hikmah, S. A., Rahim, E. A., & Musafira. 2018. Sintesis dan Karakteristik Polieugenol dari Eugenol Menggunakan Katalis $H_2SO_4 - CH_3COOH$. *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 4(3): 285-296. <https://doi.org/10.22487/kovalen.2018.v4.i3.11855>
- Imani, M. M., Kiani, M., Rezaei, F., Souri, R., & Safaei, M. 2021. Optimized Synthesis of Novel Hydroxyapatite/CuO/TiO₂ Nanocomposite with High Antibacterial Activity Against Oral Pathogen *Streptococcus mutans*. *Ceramics International*, 47(19): 1-7.
- Insiyah, & Cahyaningrum, S. E. 2019. Sintesis dan Karakterisasi Hidroksiapatit Dari Batu Kapur Dengan Metode Pengendapan Basah. *Unesa Jurnal Of Chemistry*, 8(3): 1-7.
- Karpinski, T. M., & Szkaradkiewicz, A. K. 2013. Microbiology of Dental Caries. *Journal of Biology and Earth Sciences*, 3(1): 21-24.
- Kemenkes. 2018. *Riset Kesehatan Dasar*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Krzyściak, W., Jurczak, A., Kościelniak, D., Bystrowska, B., & Skalniak, A. 2013. The Virulence of *Streptococcus mutans* and The Ability to form Biofilms. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 33(4): 499-515. <https://doi.org/10.1007/s10096-013-1993-7>
- Kursia, S., Lebang, J. S., Taebe, B., Burhan, A., Rahim, W. O., & Nursamsiar. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etilasetat Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 3(2): 72-77.
- Madhumita, M., Guha, P., & Nag, A. 2020. Bio-actives of betel leaf (*Piper betle* L.): A comprehensive review on extraction, isolation, characterization and biological activity. *Phytotherapy Research*, 34(10): 2609-2627. <https://doi.org/10.1002/ptr.6715>
- Modal, S., Modal, B., Dey, A., & Mukhopadhyay, S. S. 2012. Studies on processing and Characterization of hydroxyapatite biomaterials from different bio wastes. *Journal of Minerals and Materials Characterization and Engineering*, 11(1): 56-67.
- Msandam, D., JC, A., George, N., Jayan, N., Sharannya, M., & Meenatchisundaram, S. 2016. Anti-Cariogenic Activity of *Piper Betel* Leaf Extracts Against *Streptococcus mutans* and *Streptococcus Oralis* By in Vitro. *Journal of Medical and Dental Science Research*, 3(10): 50-54.
- Nasution, A. I. 2016. *Jaringan Keras Gigi : Aspek Mikrostruktur & Aplikasi riset*. Banda Aceh: Syiah Kuala University Press.
- Nayak, A. K. 2010. Hydroxyapatite Synthesis Methodologies: An Overview. *International Journal of ChemTech Research*, 2(2): 903-907.
- Nazri, N. A., Ahmat, N., Adnan, A., Mohamad, S. S., & Ruzaina, S. S. 2011. In Vitro Antibacterial and Radical Scavenging Activities of Malaysian Table Salad . *African Journal of Biotechnology*, 10(30): 5728-5735.
- Novita, W. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Sirih (*Piper batle* L) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans* secara In Vitro. *Jambi Medical Journal*, 4(2): 140-155.
- Noviyanti, A. R., Haryono, Pandu, R., & Eddy, D. R. 2017. Cangkang Telur Ayam sebagai Sumber Kalsium dalam Pembuatan Hidroksiapatit untuk Aplikasi Graft Tulang. *Chimica et Natura Acta*, 5(3): 107-111. <https://doi.org/10.24198/cna.v5.n3.16057>
- Nurjanna, I., Stevani, H., & Dewi, R. 2018. Aktivitas Perasan Biji Pinang (*Areca cathechu* L.) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Media Farmasi*, 15(2): 72-77.

- Owu, N. M., Fatimawali, & Jayanti, M. 2020. Uji Efektivitas Penghambatan Dari Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *Jurnal Biomedik*, 12(3): 145-152. <https://doi.org/10.35790/jbm.12.3.2020.29185>
- Pangesti, R. D., Cahyono, E., & Kusomo, E. 2017. Perbandingan Daya Antibakteri Ekstrak dan Minyak *Piper betle* L. terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 6(3): 270-278.
- Puspita, W. F., & Cahyaningrum, S. E. 2017. Sintesis dan Karakterisasi Hidroksiapatit dari Cangkang Telur Ayam Ras (*Gallus Gallus*) Menggunakan Metode Pengendapan Basah. *UNESA Journal of Chemistry*, 6(2): 100-106.
- Putri, D. D., Nurmagustina, D. E., & Chandra, A. A. 2014. Kandungan Total Fenol dan Aktivitas Antibakteri Kelopak Buah Rosela Merah dan Ungu Sebagai Kandidat Feed Additive Alami Pada Broiler. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 14(3): 174-180. <https://doi.org/10.25181/jppt.v14i3.157>
- Ramadhan, M. I. F. & Cahyaningrum, S. E. 2018. Sintesis dan Karakterisasi Hidroksiapatit-Kolagen-Kitosan Sebagai Bahan Material Bone Graft Menggunakan Metode Ex-Situ. *UNESA Journal of Chemistry*, 7(2), pp. 53-57.
- Ranamanggala, J. A., Nurlaili, D. I., Annisa, Y. N., & Cahyaningrum, S. E. 2020. Potensi Hidroksiapatit dari Tulang Ayam Sebagai Pelapis Implan Gigi. *Jurnal Kimia Riset*, 5(2): 141-150. <http://dx.doi.org/10.20473/jkr.v5i2.22479>
- Rivai, H., Nanda, P. E., & Fadhilah, H. 2014. Pembuatan dan Karakterisasi Ekstrak Kering Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.). *Jurnal Farmasi Higea*, 6(2): 133-144.
- Saryanti, D. & Nugraheni, D. 2019. Uji Aktivitas Antibakteri Nanopartikel Ekstrak Etanol Daun Sirih (*Piper betle* Linn) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Prosiding APC (Annual Pharmacy Conference)*, 4: 99-103.
- Sugumaran, M., Gandhi, M. S., Sankanarayan, K., Yokesh, M., Poornima, M., & Rajasekhar, S. R. 2011. Chemical composition and antimicrobial activity of vellaikodi variety of *Piper betle* Linn leaf oil against dental pathogens. *International Journal of Pharmaceutical Technology Research*, 3(4): 2135-2139.
- Suresh Kumar, C., Vimalathithan, R. M., Ilaiyaraja, P., Suresh, P., & Dhanaraj, K. 2020. Hydroxyapatite for Bone Related Applications Derived from Sea Shell Waste by Simpleprecipitation Method. *Journal Asian Ceramic Societies*, 8(2): 416-429. <https://doi.org/10.1080/21870764.2020.1749373>
- Tawakkal, Idrus, I. & Kurniawan, F. 2021. Isolasi Senyawa Alkaloid Ekstrak Etanol Daun Sirih Popar (*Ficus septia* Burm. F) Menggunakan Spektrofotometri Infra Merah. *Jurnal AKRAB JUARA*, 6(1): 54-62.
- Verawati, E., Widowati, T. W., Santoso, B., Dewi, S. P., & Pambayun, R. 2017. Antibacterial Activity toward *Streptococcus mutans* and Antioxidant from Traditional Betel Chew Formulation of Indonesia. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*, 9(6): 316-320. <http://dx.doi.org/10.4172/1948-5948.1000384>
- Vifta, R. L., Wansyah, M. A., & Hati, A. K. 2017. Perbandingan Total Rendemen dan Skrining Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) secara Mikrodilusi. *Journal of Science and Applicative Technology*, 1(2): 87-93. <http://dx.doi.org/10.14203/metalurgi.v28i2.256>
- Wadu, I., Hartati, S., & Margareta. 2018. Karakterisasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Hidroksiapatit (HAp) dari Kerabang Telur Ayam Terhadap Bakteri *Lactobacillus acidophilus*. *JKPK (Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia)*, 2(3): 145-151. <http://dx.doi.org/10.20961/jkpk.v2i3.11862>
- Warastuti, Y., Abbas, B., & Suryani, N. 2013. Pembuatan Komposit Polikaprolaktan-Kitosan-Hidroksiapatit Iradiasi Untuk Aplikasi Biomaterial. *Majalah Metalurgi*, 28(2): 149-160. <https://doi.org/10.15272/AJBPS.V6I53.773>
- Yadav, K., & Prakash, S. (2016). Dental Caries : A Review. *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 6(53), 1-7.
- Zein, U. R., Anggresani, L., & Yulianis 2020. Pengaruh Waktu Sintering terhadap Hidroksiapatit Berpori Tulang Tenggiri dengan Proses Sol Gel. *Chempublish Journal*, 5(1): 46-56.
- Zhou, Y. Z. et al., 2012. Polydopamine-Induced Tooth Remineralization. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 4(12): 6901-6910. <https://doi.org/10.1021/am302041b>