

Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Stevia (*Stevia Rebaudiana*) dan Minyak Cengkeh Sebagai Obat Kumur Herbal Alami menggunakan Metode Infundasi

Winda Shynta Pertiwi¹, Alifia Shuria Manikam Penulis², Arif Hidayanto³, Kun Harismah^{4*}
^{1,2,3,4}Program Studi Teknik Kimia, Universitas Muhammadiyah Surakarta
Email: kun.harismah@ums.ac.id

Abstrak

Keywords:

Stevia; Minyak Cengkeh; Obat Kumur; Antibakteri; *Streptococcus mutans*.

Tanaman stevia menghasilkan diterpen glikosida yang bermanfaat sebagai pemanis dengan rendah kalori dan efek terapeutik lainnya seperti antibakteri. Obat kumur yang mengandung alkohol sebesar 25% atau lebih dapat menimbulkan resiko penyakit kanker mulut, tenggorokan, dan faring sebesar 50%. WHO menyarankan, merekomendasi dan mempromosikan obat tradisional/herbal di dalam program peduli kesehatan nasional karena mudah didapatkan, lebih murah dan aman tanpa memiliki efek samping yang berbahaya. Tujuan dari penelitian ini adalah membuktikan infusa daun stevia dan minyak cengkeh dapat digunakan sebagai antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dan menganalisis perbedaan formulasi obat kumur sebagai antibakteri serta formulasi yang dapat diterima oleh masyarakat berdasarkan rasa, warna dan aroma. Ekstraksi dilakukan dengan cara infundasi. Larutan obat kumur diuji efektivitas antibakteri dan uji organoleptik. Hasil uji bakteri dianalisis menggunakan One Way Anova. Hasil uji efektivitas antibakteri dan uji organoleptik didapatkan formulasi paling efektif dengan jumlah infusa daun stevia 60 ml dan minyak cengkeh sebanyak 3 ml.

1. PENDAHULUAN

Stevia adalah tanaman perdu asli dari Paraguay yang ditemukan oleh Dr. Moises Santiago Bertoni, Director of the College of Agriculture Paraguay pada tahun (1889) [1]. Saat ini budidaya Stevia juga dikomersialkan di Indonesia, yang terletak di kecamatan Tawangmangu, kabupaten Karanganyar [2]. Daun stevia mengandung senyawa: *apigenin, austroimulin, avicularin, beta-sitosterol, caffeic acid, kampesterol, kariofilen, sentauredin, asam klorogenik, klorofil, kosmosin, sinarosid, daukosterol, glukosida diterpene, dulkosid A-B, funikulin, formic acid, gibberelic acid, gibberelin, rebaudiosid A-F, umbelliferon, indol-3-asetonitril, steviol, isokuersitrin, isosteviol, jihanol, kaempferol,*

kaurene, lupeol, luteolin, polistakosid, kuersetin, kuersitrin, skopoletin, sterobin A-H, steviolbiosid, steviolmonosida, steviosid, steviosid α -3, stigmasterol, dan santofil [3]. Sedangkan kandungan utama daun stevia adalah derivat *steviol* terutama *steviosida* (4-15%), *rebausida* A (2-4%) dan C (1-2%) serta *dulkosida* A (0,4-0,7%). Stevia menghasilkan diterpen glikosida yang bermanfaat sebagai pemanis rendah kalori dan efek terapeutik lainnya seperti antibakteri [4]. Berdasarkan penelitian Fredy dan Margareta pada tahun 2012, menunjukkan bahwa kandungan zat aktif yang terdapat dalam stevia mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*, yang merupakan bakteri gigi penyebab karies gigi [5].

Minyak cengkeh dengan nama latin (*Syzygium aromaticum* atau *Eugenia caryophyllata*) merupakan salah satu dari beberapa spesies tanaman yang terdapat di Indonesia yang digunakan sebagai bahan pengawet makanan dan pengobatan [6]. Minyak cengkeh merupakan bahan alam yang dapat dengan mudah didapatkan dan mempunyai aroma yang lebih enak dalam penelitian yang dilakukan oleh Harismah dkk cengkeh dapat digunakan sebagai bahan *repellent* pembuatan tinta anti nyamuk [7]. Selain itu, cengkeh memiliki kandungan mentol dan eugenol di dalamnya dapat berpotensi sebagai antibakteri [8]. Dari penelitian yang telah dilakukan oleh Prajapati dan Raol [9] menunjukkan bahwa minyak cengkeh berpotensi sebagai antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*.

Di pasaran, produk obat kumur banyak mengandung alkohol. Obat kumur yang mengandung alkohol sebesar 25% atau lebih dapat menimbulkan resiko penyakit kanker mulut, tenggorokan dan faring sebesar 50% [10]. WHO menyarankan, merekomendasi dan mempromosikan obat tradisional/herbal dalam program peduli kesehatan nasional karena mudah didapatkan, lebih murah dan aman tanpa efek samping berbahaya [11].

Oleh karena itu penggunaan obat kumur dengan menggunakan bahan alami disarankan karena memiliki efek samping yang rendah sehingga aman digunakan. Telah terdapat beberapa penelitian mengenai obat kumur dengan menggunakan bahan alami: obat kumur dari ekstrak daun jambu, obat kumur dari Propolis, obat kumur dari ekstrak daun teh, obat kumur dari ekstrak jeruk, obat kumur dari pomegranate, dll dari percobaan–percobaan tersebut obat kumur yang terbuat dari daun, tanaman, dan buah dapat digunakan sebagai obat kumur yang efektif dapat memelihara kesehatan mulut dan dapat menanggulangi masalah kesehatan gigi dan mulut tanpa menimbulkan efek samping [12].

Dalam pengujian Antibakteri menggunakan metode difusi agar (difusi Kirby dan Bauer) dan media yang digunakan adalah media *Nutrient Agar* (NA) karena media ini cocok untuk pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

2. METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Teknik Kimia dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi UMS. Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris. Sedangkan rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan menggunakan lima perlakuan dan tiga kali perulangan. Hasil uji kemudian dianalisis menggunakan metode *One Way Analysis one variance (ANOVA)*.

2.1. Persiapan Bahan Utama

Daun stevia yang telah dibeli dari petani di Tawangmangu kemudian di panaskan dan diangin-anginkan selama 5 hari dengan bantuan sinar matahari agar kadar air berkurang, selanjutnya daun stevia yang telah kering ditimbang sebanyak 25 gram dipotong kecil–kecil kemudian dicuci bersih dan dimasukkan ke dalam penangas air A dan ditambahkan akuades sebanyak 250 mL (sampai bahan terendam seluruhnya). Kemudian penangas air B ditambahkan air secukupnya hingga penangas air A terendam sebagian, selanjutnya dipanaskan pada suhu 90°C selama 15 menit sambil diaduk kemudian disaring menggunakan kertas saring apabila infus daun stevia telah dingin.

Penentuan banyaknya jumlah infusa daun stevia dan minyak cengkeh di dalam larutan berdasarkan analisis agar rasa dan aroma dari obat kumur campuran stevia dengan minyak cengkeh dapat diterima dan digunakan oleh masyarakat.

2.2. Sterilisasi Alat

Alat–alat: Erlenmeyer, botol kaca, *even drop* dan *yellow tip* disterilisasi

menggunakan autoklaf diatur tekanan 2 atm dalam suhu 121°C. Alat cawan petri dan tabung reaksi terlebih dahulu dibungkus menggunakan kertas selanjutnya disterilisasi menggunakan oven selama 2 jam. Sedangkan alat corong barner no. 2, *spreader* dan kawat ose disterilisasi dengan cara dibakar menggunakan pembakar bunsen. Sterilisasi alat dimaksudkan agar dalam pembuatan dan pengujian obat kumur berlangsung steril.

2.3. Pembuatan Obat Kumur

Pembuatan obat kumur campuran stevia dengan minyak cengkeh dilakukan dengan formulasi [13] seperti Tabel 1.

Tabel 1. Formulasi Obat Kumur

Bahan (ml)	F1	F2	F3	F4	F5
Ekstrak stevia	40	50	60	70	75
Minyak mint	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
Minyak cengkeh	6	4	3	7	5
Tween 80	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8
Na-benzoat (g)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Aquadest	51.85	43.85	34.85	20.85	17.85
Total	100	100	100	100	100

2.4. Pengenceran Bakteri *Streptococcus mutans*

Bakteri *Streptococcus mutans* yang telah didapatkan kemudian dipindahkan ke dalam tabung reaksi yang sudah terdapat *Brain Heart Infusion* (BHI) sebanyak 10ml kemudian diletakkan dalam *inkubator shaker* selama 2 jam selanjutnya diinkubasi selama 24 jam.

2.5. Pembuatan Media

Media agar *Nutrient Agar* (NA) diambil sebanyak 11,5 gram ditambahkan dengan aquades sebanyak 500 ml dicampurkan di dalam Erlenmeyer. Campuran diaduk homogen kemudian disterilkan ke dalam autoklaf dengan tekanan 2 atm dengan temperatur 121°C.

2.6. Uji Efektivitas Antibakteri

Dalam uji efektivitas antibakteri ini digunakan metode sumuran dengan larutan uji yang telah disiapkan yaitu obat kumur

dengan infusa stevia 40, 50, 60, 70, 75 ml. Untuk satu cawan petri dilubangi menggunakan corong barner no.2 sebanyak lima sumuran kemudian masing – masing sumuran dimasukkan larutan uji. Inkubasi dilakukan selama 24 jam pada suhu 34°C.

2.7. Pengolahan dan Analisis Data

Pengukuran zona hambat menggunakan jangka sorong dengan melihat warna jernih yang timbul disekitar area sumuran. Hal ini membuktikan bahwa tidak adanya aktifitas bakteri disekitar area sumuran yang sudah diberi larutan uji. Dari hasil uji efektivitas bakteri dan uji pH kemudian dianalisis dengan program SPSS 16.0 menggunakan metode *On*

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan metode ekstraksi infundasi karena kandungan yang terdapat di dalam stevia merupakan pengerjaannya mudah dan menggunakan peralatan sederhana.

3.1. Hasil Uji Efektivitas Antibakteri

Pengujian antibakteri dilakukan dengan cara mengukur zona hambat yang dapat dilakukan oleh obat kumur terhadap berkembang biakkan bakteri *Streptococcus mutans*. Berdasarkan analisis *One Way Anova* menunjukkan P value sebesar 0,315 pada taraf nyata 0,05 dalam hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna antara formula satu dengan yang lain. Hal ini diduga karena dalam penentuan penambahan larutan infusa daun stevia dan minyak cengkeh dilakukan secara acak. Hasil uji efektivitas antibakteri ada pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Antibakteri

Formula	N	X' (mm)
F1		7.667
F2		6.67
F3		7.0
F4		9.0
F5		9.67

Hasil uji bakteri didapatkan data pada formula pertama memiliki daya hambat terhadap bakteri sebesar 7,667 mm. Formula kedua sebesar 6,67 mm. Formula ketiga sebesar 7,0 mm. Formula keempat sebesar 9,0 mm. Formula kelima sebesar 9,67 mm. Terjadi perbedaan kemampuan daya hambat terhadap bakteri antar formula dipengaruhi adanya perbedaan dalam penambahan larutan infusa daun stevia dan minyak cengkeh.

Kesimpulan yang didapatkan hasil pengujian antibakteri ini menunjukkan bahwa obat kumur infusa daun stevia dan minyak cengkeh dapat melakukan penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Hal ini dikarenakan tanaman stevia mengandung diterpen glikosida yang bermanfaat sebagai pemanis rendah kalori dan efek terapeutik lainnya yang salah satunya sebagai antibakteri [14], kemudian cengkeh menunjang kinerja stevia karena kandungan *eugenol* dengan khasiat yang sudah dikenal masyarakat luas sebagai analgetik, obat sakit gigi, dan antibakteri [7].

Dalam penelitian lain menyebutkan ekstrak bunga cengkeh 40% memiliki kemampuan zona hambat terhadap bakteri *Streptococcus mutans* sebesar 18,83 mm [15]. Sedangkan efek pemberian solvent dengan menggunakan akuades dalam proses ekstraksi stevia yang telah dilakukan membuktikan bahwa ekstrak stevia dapat memberikan zona hambat terhadap bakteri *Streptococcus mutans* sebesar 22,8 mm [16]. Terjadi rentan perbedaan yang cukup signifikan karena pengujian hanya dilakukan inkubasi selama 24 jam sedangkan peneliti lain menggunakan waktu inkubasi sebanyak 48 jam. Waktu inkubasi berpengaruh untuk melihat kemampuan formula dalam menghambat perkembangan bakteri *Streptococcus mutans*.

Fareen dan Geetha [17] melakukan evaluasi obat kumur herbal terhadap

Streptococcus mutans dalam pengujian secara in vitro menunjukkan zona hambat yang terdapat pada obat kumur Chlorhexidine 0,2% sebesar 18 mm pada 25 μ l. Berdasarkan hal tersebut maka kemampuan daya hambat obat kumur infusa daun stevia dan minyak cengkeh masih rendah bila dibandingkan dengan obat kumur konvensional.

3.2. Hasil Uji Organoleptik

Untuk memastikan obat kumur infusa daun stevia dan minyak cengkeh dapat diterima oleh pasar maka perlu adanya pengujian. Pengujian organoleptik yang dilakukan melalui pengamatan pada warna, homogenitas, aroma dan rasa pedas yang terdapat dalam masing-masing formula. Berikut merupakan hasil uji organoleptik yang disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Organoleptik

Form ula	Uji Organoleptik			
	Warna	Endapan	Bau khas	Rasa Pedas
F1	Coklat hitam	-	Cengkeh	++
F2	Coklat hitam	-	Cengkeh	++
F3	Colat keruh	-	Cengkeh stevia	+
F4	Coklat keruh	-	Cengkeh stevia	+
F5	Coklat keruh	-	Cengkeh stevia	+

Dari data hasil yang didapatkan menunjukkan pada formula pertama obat kumur berwarna coklat kehitaman, tidak ada endapan yang terbentuk, aroma khas cengkeh yang kuat dan rasa yang sangat pedas. Formula kedua obat kumur berwarna coklat kehitaman tidak ada endapan yang terbentuk, memiliki aroma khas cengkeh dan rasa yang cukup pedas dibandingkan formula pertama. Formula ketiga menunjukkan obat kumur dengan warna cokelat keruh, tidak ada perbedaan yang terbentuk, terdapat aroma khas gabungan antara cengkeh dan stevia dan memiliki rasa yang pedas. Formula keempat obat kumur

yang terbentuk berwarna cokelat keruh, tidak terdapat endapan, memiliki aroma khas cengkeh dan stevia dan memiliki rasa yang pedas. Formula kelima obat kumur memiliki warna cokelat keruh, tidak ada endapan yang terbentuk, memiliki aroma cengkeh dan stevia yang kuat serta sedikit pedas.

Adanya perbedaan dalam pemberian minyak cengkeh dan infusa daun stevia memberikan penampang yang berbeda dari masing-masing formula. Semakin sedikit minyak cengkeh dan banyak infusa daun stevia akan memberikan warna cokelat keruh pada obat kumur dan aroma yang didapatkan cengkeh dan khas stevia dengan rasa yang tidak terlalu pedas cengkeh di mulut. Sebaliknya, semakin banyak minyak cengkeh dan sedikit larutan infusa daun stevia akan memberikan warna cokelat kehitaman pada obat kumur dengan aroma cengkeh yang kuat dan rasa pedas dan getir dalam lidah.

Warna cokelat disebabkan karena adanya tannin selama proses ekstraksi sehingga perlu adanya proses untuk penghilangan tannin agar larutan stevia [18]. Dalam penelitian yang telah dilakukan oleh Tezar dkk [19] membuktikan ekstraksi stevia menggunakan pelarut air menghasilkan cairan berwarna cokelat kehijauan dengan tingkat kegelapan yang semakin tinggi dengan semakin keringnya daun. Sedangkan dari penelitian yang telah dilakukan infusa berwarna cokelat hitam dan cokelat keruh dikarenakan adanya penambahan minyak cengkeh.

Salah satu bentuk sediaan topikal yang sering digunakan dalam industri farmasi adalah emulsi, yang diharapkan dapat mendispersikan bahan obat dalam fase minyak maupun fase cair. Dalam penelitian ini terdapat dua fase berbeda yakni larutan infusa daun stevia dan minyak cengkeh. Untuk menstabilkan kedua fase tersebut dalam suatu larutan yang homogen diperlukan emulgator. Emulgator yang

dipilih adalah Tween 80. Pada umumnya larutan emulsi berwarna putih namun karena penambahan tween 80 dalam pembuatan obat kumur berjumlah sedikit maka obat kumur berwarna cokelat.

Rasa pedas yang terdapat pada obat kumur infusa daun stevia dan minyak cengkeh disebabkan *peppermint oil* dan minyak cengkeh yang terkandung. Pedas dan getir diduga disebabkan oleh kandungan eugenol yang terdapat di dalam minyak cengkeh mencapai 45-90% [20]. Penambahan *peppermint oil* berfungsi sebagai *corrigen saporis* digunakan untuk memperbaiki rasa obat sehingga obat kumur terasa lebih segar di mulut.

Hasil sediaan obat kumur infusa daun stevia dan cengkeh ada pada Gambar 1.



Gambar 1. Sediaan Obat Kumur Infusa Daun Stevia dan Cengkeh

4. KESIMPULAN

Infusa daun stevia memiliki khasiat sebagai antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*. Larutan uji yang mengandung infusa daun stevia yang banyak dan minyak cengkeh yang sedikit menghasilkan antibakteri paling baik yaitu pada formula ke-5 yaitu sebesar 9,67 mm. Pada uji organoleptik rasa dan aroma yang enak dan efektif sebagai antibakteri terdapat dalam obat kumur dengan formula ke-5.

REFERENSI

- [1] Wuryantoro H, Wahono HS. Penyusunan Standard Operating Procedures Industri Rumah Tangga Pangan Pemanis Alami

- Instan Sari Stevia. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 2014; 2(3):76-87.
- [2] Djajadi. Pengembangan Tanaman Pemanis *Stevia rebaudiana* (Bertoni) di Indonesia. *Perspektif*. 2014; 13(1):25-33.
- [3] Tropical Plant Database. Database File For : Stevia (*Stevia rebaudiana*). 1996. [cited 2017 Mar 22]. Available from: <http://www.rain-tree.com/plants.htm>
- [4] Abdel-rahman, Abdelwahed, Ela Elsaid, Al Beif. Free Calorie Sweetness and Antimicrobial Properties in Stevia rebaudiana. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2015; 6(5):669–679.
- [5] Gamboa F, Chaves M. Antimicrobial potential of extracts from *Stevia rebaudiana* leaves against bacteria of importance in dental caries. *Acta odontológica latinoamericana*. 2012; 25(2):171–5.
- [6] Cortes-Rojas D, Souza de Fernandes, Oliviera. Clove (*Syzygium aromaticum*): a precious spice. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2014; 4(2):90-96.
- [7] Harismah K, Vitasari D, Fuadi MA, Setyawan T. Diversifikasi Minyak Sereh dan Minyak Cengkeh Sebagai Bahan Reppelent Pembuatan Tinta Anti Nyamuk. In: the 4th URECOL; 2016:526-531.
- [8] Freires, Denny, Benso, De Alencar, Rosalen. Antibacterial Activity of Essential Oils and Their Isolated Constituents againts Cariogenic Bacteria: Systematic Review. *Journal molecules*. 2015; 20(4):7329-58.
- [9] Prajapati, Raol BV. The study on the efficacy of some herbal extracts for the control of dental caries pathogen-*Streptococcus mutans*. *International Journal of Pharmaceutical Science and Health Care*. 2014; 4(1):49-59.
- [10] Catur NR. Pemanfaatan Gambir (*Uncaria gambir* Roxb) Sebagai Sediaan Obat Kumur. Institut Pertanian Bogor; 2006.
- [11] Pandey A, Tripathi S. Concept of Standardization, Extraction, Pre Phytochemical Screening Strategies For Herbal Drug. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2014; 2(5):115-119.
- [12] Road DM, Pradesh U. Herbal Mouthwash - A Gift Nature. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 2012; 3(2):46-52.
- [13] Yosephine AD, Wulanjati MP, Saifullah TN, Astuti P. Formulasi Mouthwash Minyak Atsiri Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L) serta Uji Antibakteri dan Antibiofilm Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* Secara In vitro. *Traditional Medicine Journal*. 2013; 18(2):95-102.
- [14] Kaiser C, Ernst M. Stevia. University of Kentucky; 2015.
- [15] Andries RJ, Gunawan N, Supit A. Uji Efek Antibakteri Ekstrak Bunga Cengkeh Terhadap Antibakteri *Streptococcus mutans* secara In Vitro. *Jurnal e-gigi*. 2014; 2(2).
- [16] Ajagannavar SL, Shamarao S, Battur H, Tikare S, Al-Kheraif AA, Al Sayed MSA. Effect of Aqueous and Alcoholic Stevia (*Stevia rebaudiana*) Extracts Against *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus* in Comparison to Chlorhexidine : An in Vitro Study. *Journal Int Soc Prev Community Dent*. 2014; 4(2): S116-S121.
- [17] Fareen F, Geetha VR. Evaluation of Antimicrobial Activity of Herbal Mouthwash on *Streptococcus mutans* – An In vitro Study. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 2017. 45(1):161-163.
- [18] Ghazi I, Wicaksono B, Abdullah. Penghilangan Warna Coklat Larutan Gula Stevia Menggunakan Karbon Aktif. *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*. 2013; 4(2):198-204.
- [19] Tezar R, Aminah S, Bain A. Optimasi Pemanfaatan Stevia Sebagai Pemanis Alami Pada Sari Buah Belimbing Manis. *Agriplus*. 2008; 3(18):179-186.
- [20] Khalil A, Rahman U, Khan Rafiq M, Sahar A, Mehmood T, Khan M. Essential Oil Eugenol: Sources, Extraction Techniques and Nutraceutical Perspectives. *The Royal Society Of Chemistry Advances*. 2017; 7:32669-32681.