

PENGARUH DAYA ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN STEVIA (*Stevia rebaudiana* Bertoni) PADA KONSENTRASI 5%, 10%, 20%, 40% dan 80% TERHADAP *Streptococcus mutans* (In Vitro)

Andryana Vera Anindya Astri Putri¹, Noor Hafida², Vera Megawati²

¹Mahasiswa, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Muhammadiyah Surakarta

²Staf pengajar, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Muhammadiyah Surakarta

ABSTRAK

Daun stevia (*Steviarebaudiana*Bertoni) merupakan semakliarkeluarga dariAsteraceae, yang memiliki unsur utama yaitustevioside yangtingkat kemanisannya300 kalidari sukrosa dan tidak menyebabkan karies.Daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) mempunyai kandungan zat aktif seperti alkaloid, flavonoid dan tannin yang memiliki aktivitas antiplak dan antibakteri. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh daya antibakteri ekstrak daun stevia konsentrasi 5%, 10%, 20%, 40% dan 80% terhadap *Streptococcus mutans*.

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan rancangan penelitian *post test only controlled group design*. Penelitian ini menggunakan metode difusi uji antibakteri secara Kirby - Bauer dengan enam perlakuan terdiri dari kontrol negatif (aquadest steril), ekstrak daun stevia konsentrasi 5%, 10%, 20%, 40% dan 80%. Cakram disk yang telah diberi bahan uji diletakkan pada media Mueller Hinton yang berisi bakteri *Streptococcus mutans*, di inkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37OC. Zona hambat yang terbentuk di ukur menggunakan *sliding caliper*.Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan uji *one way* ANOVA dan LSD.

Hasil analisis dengan menggunakan ujiANOVAmenunjukkan adanya perbedaan bermakna antar kelompok.Hasil analisis uji LSDmenunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara tiap-tiap kelompok.Simpulan penelitian ini adalah ekstrak daun stevia dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* (*in vitro*).

Kata kunci: Ekstrak daun stevia, *Stevia rebaudiana* Bertoni, antibakteri, *Streptococcus mutans*.

ABSTRACT

The leaves of stevia (Stevia rebaudiana Bertoni) is a wild shrub of the Asteraceae family (Compositae), which has the main elements that stevioside is 300 times the proven level of sweetness of sucrose and anticaries. The leaves of stevia (Stevia rebaudiana Bertoni) has active substances such as alkaloids, flavonoids and tannins that have antiplaque and antibacterial activity.The purpose of this study was to determine the effect of antibacterial stevia leaves extract with concentrations of 5%, 10%, 20%, 40% and 80% against Streptococcus mutans.

This experimental research was arranged as a post-test only controlled group design. This study uses diffusion antibacterial test in Kirby - Bauer with six treatments consisted of a negative control with sterile distilled water, stevia leaf extract concentrations of 5%, 10%, 20%, 40% and 80%. Disc that has been given the test material is placed on Mueller Hinton media that already contains the bacteria Streptococcus mutans, then incubated for 18-24 hours at a temperature of 37 OC. Inhibition zone formed in measuring using a sliding caliper. Data were analyzed using one-way ANOVA test and LSD.

The results of the analysis using ANOVA showed significant differences in the sources of variation between the treatment groups. Results of LSD analysis showed significant differences between each treatment group, the treatment group. Conclusions This study is the stevia leaf extract can inhibit the growth of Streptococcus mutans bacteria (in vitro).

Keywords: *Stevia leaves extract, Stevia rebaudiana Bertoni, Antibacterial, Streptococcus mutans.*

PENDAHULUAN

Gula merupakan bahan pemanis yang digunakan dalam pembuatan makanan dan minuman.¹ Jenis gula yang banyak digunakan adalah sukrosa. Sukrosa dalam makanan adalah penyebab utama karies gigi. Sukrosa mampu difermentasi oleh bakteri kariogenik sehingga dapat menyebabkan karies pada gigi.² Karies gigi dapat dicegah dengan berbagai macam cara, salah satunya yaitu dengan memanfaatkan bahan pemanis alami dari tanaman *Stevia rebaudiana* Bertoni, yang memiliki kandungan senyawa bioaktif yang bekerja sebagai antibakteri.³

Daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) adalah pemanis alami 300 kali dari sukrosa dengan karakteristik sebagai antibakteri, antivirus, anti-inflamasi, antifungsi dan antimikroba.⁴ Daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) merupakan semakliarkeluarga dari *Asteraceae*, yang memiliki efek sebagai antibakteri yang dapat menghambat bakteri penyebab karies pada gigi.⁵ Daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) mengandung berbagai macam zat seperti alkaloid, tannin dan flavanoid yang memiliki aktivitas antiplak. Daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) juga mengandung zat lain yaitu: zat *stevioside* yang bekerja sebagai enzim dan berfungsi melakukan dekomposisi gula, menginaktivasi dekstran sukrosa sehingga bisa menghambat kerja fermentasi bakteri kariogenik. *Stevioside* tidak dapat terhidrolisis dan tidak dapat difermentasi oleh bakteri.⁶ Senyawa-senyawa yang terkandung didalam daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) dapat melindungi tanaman ini dari infeksi mikroba dan kerusakan.² Keuntungan dari daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) sebagai suplemendiyaitu: stabil, non-kalori, dapat digunakan oleh pasiendiabetes, fenilketonuria, obesitas dan dapat mempertahankan kesehatan gigi dengan mengurangi asupan gula.⁷

Karies gigi merupakan penyakit infeksi umum yang sering terjadi dikalangan masyarakat. Kebanyakan penyakit yang ada di mulut seperti karies gigi diawali oleh terbentuknya plak gigi. Plak gigi terbentuk dengan melibatkan fermentasi yang dilakukan oleh bakteri utama penyebab karies yakni *Streptococcus mutans* yang mampu memproduksi glukosil transferase (GTF) yang dapat mengubah sukrosa menjadi glukukan dan selanjutnya membentuk plak gigi.⁸ Beberapa jenis *Streptococcus* yang dikenal sebagai mikroorganisme yang menyebabkan karies, salah satunya adalah *Streptococcus mutans*.⁹

Streptococcus mutans merupakan bakteri anaerob fakultatif gram positif dikenal dapat menghasilkan asam laktat sebagai bagian dari hasil metabolisme yang berguna untuk hidup bakteri tersebut. *Streptococcus mutans* memiliki kemampuan untuk mengikat sukrosa pada permukaan gigi dengan pembentukan glukukan tidak larut air dan polisakarida yang membantu dalam mengikat bakteri pada gigi.¹⁰ *Streptococcus mutans* dapat menurunkan atau mempertahankan Ph mulut pada nilai wajar asam, yang menyebabkan kondisi yang menguntungkan untuk metabolismenya sendiri dan tidak menguntungkan bagi spesies lain yang hidup berdampingan. Penurunan pH yang disebabkan oleh *Streptococcus mutans* dapat memfermentasi gula menjadi asam. Asam ini menempel pada email gigi yang menyebabkan terjadinya demineralisasi jaringan pada gigi dan kavitas pada gigi.¹⁰

METODELOGI PENELITIAN

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris murni dengan rancangan penelitian *post test only controlled group design*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Penelitian ini menggunakan metode difusi uji antibakteri secara Kirby - Bauer dengan enam perlakuan terdiri dari kontrol negatif (aquadest steril), ekstrak daun stevia konsentrasi 5%, 10%, 20%, 40% dan 80%. Bakteri uji yang digunakan adalah *Streptococcus mutans*.

Determinasi tumbuhan

Determinasi tumbuhan dilakukan dengan menganalisis sampel di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Sebelas Maret

Pembuatan ekstrakdaun stevia dengan teknik maserasi

Daun stevia sebanyak 1 kg dibersihkan, kemudian dikeringkan dan diangin-anginkan selama 24 jam pada suhu kamar, kemudian dibuat menjadi serbuk dengan alat penyerbuk dilanjutkan dengan proses maserasi dengan direndam dalam etanol 70% menggunakan botol tertutup berwarna gelap minimal selama 3 hari. Hasil maserasi disaring dengan corong *Buchner* sehingga didapatkan filtrat dan residu kemudian filtrat dipekatkan menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu tidak lebih dari 500 C, sehingga pelarut etanol terpisah dengan ekstrak tumbuhan dan didapatkan ekstrak kental.

Hasil akhir berupa ekstrak kental daun stevia dengan konsentrasi 100%. Ekstrak kental yang diperoleh kemudian dimasukkan kedalam botol steril. Konsentrasi ekstrak daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) sebanyak 5%, 10%, 20%, 40% dan 80% masing-masing didapat dengan melarutkan ekstrak daun stevia dengan aquadest steril hingga 5 ml.

Pembiakan bakteri *Streptococcus mutans*

Bakteri yang digunakan adalah *Streptococcus mutans* dari biakan murni yang terdapat di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Beberapa koloni bakteri diambil, kemudian disuspensikan dalam 0,5 ml BHI dan telah di inkubasi selama 24 jam pada suhu 37 0 C, kemudian dilakukan pengenceran suspensi bakteri sebanyak 1-2 ose dari biakan murni bakteri uji, menggunakan NaCl 0,85% sampai didapatkan kekeruhan sesuai dengan standar Mc. Farland 0,5 ($1,5 \times 10^8$ CFU/ml), kemudian disebarkan pada media MHA.

Uji efektifitas antibakteri metode difusi agar secara Kirby Baur

Suspensi bakteri dengan konsentrasi $1,5 \times 10^8$ colony forming units (CFU)/ml di usapkan secara merata menggunakan batang *spreader* pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA) dalam piring petri. Setelah di usapkan dibiarkan selama 30 menit supaya bakteri meresap ke dalam agar. Cakram kosong (disk) diambil dan diletakkan pada piring petri steril dengan menggunakan pinset steril. Dua puluh empat cakram kosong (disk) digunakan untuk masing-masing bahan coba kemudian diteteskan 30 μ l bahan coba menggunakan pipet mikro dan di diamkan selama 60 menit. Dibagi menjadi 6 kelompok untuk masing-masing konsentrasi.

Setelah persiapan dilakukan, cakram (disk) yang ditetesi bahan coba diletakkan pada media MHA mengikuti area yang telah dibuat untuk masing-masing bahan coba. Setelah itu media dimasukkan kedalam inkubator pada suhu 37 0 C dan diamati setelah 24 jam. Zona hambat yang terbentuk diukur dengan *sliding caliper* dan dilakukan analisis hasil.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Rerata dan standar deviasi diameter zona hambat bakteri *Streptococcus mutans* setelah pemberian ekstrak daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) konsentrasi 5%, 10%, 20%, 40% dan 80%.

Kelompok Perlakuan	N	Diameter Zona Hambat (mm) ($\bar{x} \pm SD$)
Kelompok A Kontrol	4	0,00 \pm 0,00
Kelompok B (5%)	4	1,53 \pm 0,07
Kelompok C (10%)	4	2,44 \pm 0,05
Kelompok D (20%)	4	2,74 \pm 0,14
Kelompok E (40%)	4	2,96 \pm 0,09
Kelompok F (80%)	4	3,18 \pm 0,05

Data hasil penelitian tersebut kemudian dilakukan uji normalitas dengan menggunakan uji *shapiro-wilk* dan uji homogenitas. Uji normalitas data didapatkan hasil nilai p pada tiap konsentrasi $p > 0,05$ yaitu: konsentrasi 5% ($p=0,220$), 10% ($p = 0,734$), 20% ($p = 0,806$), 40% ($p = 0,267$) dan 80% ($p = 0,574$) yang artinya sebaran data pada penelitian ini bedistribusi normal ($p,0,05$). Uji homogenitas data menunjukkan nilai $p = 0,075$ ($p > 0,05$) yang berarti bahwa variansi data tersebut homogen, sehingga memenuhi syarat dilakukan uji parametrik *one way ANOVA*. Hasil analisis parametrik *one way ANOVA* memperlihatkan adanya perbedaan yang bermakna secara statistik pada seluruh kelompok perlakuan yaitu: ($p = <0,005$). Uji LSD (*Least Significant Different*) memperlihatkan perbedaan yang signifikan pada tiap-tiap kelompok karena nilai $p < 0,05$.

Proses ekstraksi senyawa kimia yang terkandung dalam daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) dilakukan dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Etanol 70% merupakan pelarut yang polaritasnya bekerja optimal. Penggunaan pelarut etanol 70% sangat tepat apabila di inginkan munculnya kandungan flavonoid dalam suatu ekstrak kasar. Pelarut ini lebih efisien dalam mendegradasi dinding sel bahan kasar, sehingga tingkat kandungan polifenol yang didapat dalam satu bahan ekstrak tinggi.¹¹ Penggunaan metode maserasi dipilih karena kepraktisannya dalam pengerjaan serta peralatan yang digunakan sederhana.¹²

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka diperoleh hasil bahwa diameter zona hambat yang terdapat disekitar cakram disk yang diberi perlakuan dengan ekstrak daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) memperlihatkan adanya pengaruh daya antibakteri dari ekstrak daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) terhadap *Streptococcus mutans*.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan pada tabel 1, terlihat bahwa pada perlakuan ekstrak daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) konsentrasi 5% menghasilkan zona hambat pada koloni bakteri *Streptococcus mutans*. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan zat aktif dalam daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) konsentrasi 5% dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dan diameter zona hambat meningkat dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) yaitu 10%, 20%, 40% dan 80%. Konsentrasi ekstrak daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) yang optimal dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* terletak pada konsentrasi 80% karena semakin meningkatnya konsentrasi ekstrak, diameter zona hambat yang terbentuk semakin besar. Pada perlakuan ekstrak daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) konsentrasi 80% menghasilkan rerata diameter zona hambat yang paling besar. Hasil ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi, semakin banyak jumlah zat yang terlarut didalam ekstrak daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni), maka semakin tinggi kemampuan bahan uji dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Konsentrasi ekstrak mempengaruhi kecepatan difusi zat aktif, makin besar konsentrasi ekstrak maka makin cepat difusi akibatnya makin besar daya antibakteri dan makin luas diameter zona hambatan yang terbentuk.¹³

Peningkatan diameter zona hambat karena adanya kandungan zat utama *stevioside* dan zat aktif seperti alkaloid, flavonoid, tannin dan senyawa fenol yang terkandung dalam daun stevia.¹⁴ Zat aktif lainnya seperti alkaloid, tannin dan flavonoid juga memiliki efek antibakteri yang dapat menghambat mekanisme pertumbuhan bakteri. Menurut Lamonthe *et al* (2009)¹⁵, mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri melalui penghambatan sintesis dinding sel yang akan menyebabkan lisis pada dinding sel bakteri sehingga pertumbuhan bakteri terhambat.

Tannin pada ekstrak daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) bekerja sebagai antibakteri sebagai sintesis asam nukleat dengan mendenaturasi protein sel DNA merusak membran sel. Mekanisme kerja antibakteri flavonoid dalam ekstrak daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) menurut Poeloengan dan Pratiwi (2010), yaitu dengan mengikat protein, sehingga mengganggu proses metabolisme bakteri *Streptococcus mutans*. Flavonoid dengan konsentrasi tinggi akan keluar pada daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) yang diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol sehingga mampu menghambat pertumbuhan dari bakteri *Streptococcus mutans*.¹⁴

Zat *stevioside* yang terkandung dalam *Stevia rebaudiana* memiliki enzim yang berfungsi untuk melakukan dekomposisi gula, menginaktivasi dekstran sukrosa sehingga bisa menghambat kerja

fermentasi bakteri kariogenik. *Stevioside* tidak dapat terhidrolisis dan tidak dapat difermentasi oleh bakteri sehingga pada penelitian ini *stevioside* mampu menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*.⁶

Aktivitas antibakteri dari zat aktif ekstrak daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) ini mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Bakteri *Streptococcus mutans* merupakan bakteri gram positif yang dinding selnya terdiri dari peptidoglikan, asam teikoat, teikuronat, polisakarida dan protein. Kerusakan lapisan ini mengakibatkan kerusakan kekakuan dinding sel bakteri, sehingga menyebabkan terhambatnya pertumbuhan bakteri.¹⁸

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian mengenai pengaruh daya antibakteri ekstrak daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) pada konsentrasi 5%, 10%, 20%, 40% dan 80% terhadap *Streptococcus mutans* (*in vitro*) maka dapat disimpulkan bahwa: Ekstrak daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* secara *in vitro*. Setiap peningkatan konsentrasi ekstrak daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni), maka semakin tinggi daya antibakteri ekstrak daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Mareta, Viska, 2011, *Pemanfaatan Daun Stevia (Stevia Rebaudiana) Sebagai Pemanis Alami Terhadap Kualitas Organoleptik Dan Nilai Gizi Bolu Kukus*, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Skripsi
2. Roberts, Michael W., Wright, J.T., 2012, Nonnutritive, Low Caloric Substitutes for Food Sugars: Clinical Implications for Addressing the Incidence of Dental Caries and Overweight/Obesity, *Int. J. of Dentistry*, Volume 2012 (2012), Article ID 625701, 8 pages
3. Bharat, P., Virendra, Y., Amrita, K., Love, S., Binny, T., 2013, Stevia (Meethi patti): Prospect As An Emerging Natural Sweetener, *IJPCS*, Vol. 2, hal. 214-216
4. Mishra, Pankaj K., Singh, R., Kumar, U., Piakash, V., 2010, Stevia Rebaudiana-A Magical Sweeteners, *Glob. J. of Biotech. and Biochem.*, 5 (1) : 62-74
5. Gamboa, F., Chaves, M., 2012, Antimicrobial Potential Of Extracts From Stevia Rebaudiana Leaves Againsts Bacteria Of Importance In Dental Caries. *Acta Odontol. Latinoam*, Vol. 25 hal. 172-175
6. Nasia, Avina A., 2011, <http://avinaninasia.wordpress.com//pemanfaatan-tanaman-stevia-rebaudiana-sebagai-penghasil-pemanis-alternatif-dalam-pencegahan-karies-gigi/+jurnal+stevia+invitro+bakteri>, Didownload pada tanggal 9 November 2013
7. Kaushik, R., Pradeep, N., Vamshi, V., Geetha, M., Usha, A., 2010, Nutrient composition of cultivated stevia leaves and the influence of polyphenols and plant pigments on sensory and antioxidant properties of leaf extracts, *J. Food Sci. Technol*, 47(1):27–33
8. Shu Xu, J., Li, Y., Cao, X., Cui, Yun, 2013, The Effect Of Eugenol On The Cariogenic Properties Of Streptococcus Mutans And Dental Caries Development In Rats, *Experimen. Therap. Med.*, Vol. 5
9. Naderi, N.J., Niakan, M., Kharazi, Fard M., Zardi, S., 2011, Antibacterial Activity of Iranian Green and Black Tea on Streptococcus mutans : An In Vitro Study, *Jour. Dentistry*, Vol. 8, No. 2
10. Simon, Lisa, 2007, The Role of S. mutans and Oral Ecologi In The Formation Of dental Caries, *LethBridge Under Grad. research Jour.*, Vol. 2
11. Se e ma, Tiwari, 2010, Stevia rebaudiana: A medical and nutraceutical plant and sweet gold for diabetic patients, *IJPLS*, 1 (8):451-457

12. Aziz, Syaiful, 2010, *Uji Aktivitas Anti Bakteri Ekstrak Etanol Daun dan Umbi Bakung Putih (Crinum asiaticum L) Terhadap Bakteri Penyebab Jerawat*, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Skripsi
13. Elya, B., Soemiati, A., Farida, 2009, Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Manggis Hutan (*Garcinia rigida* MIQ), *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol.6, No.1, h.09-17
14. Preethi, D., Sridhar, T.M., Josthna, P.C., Naidu, C.V., 2011, Studies on Bacterial Activity, Phytochemical Analysis of *Stevia rebaudiana* (Bert) An Important Calories Free Bio Sweetners, *JEFT*,3(7) h. 05-10
15. Lamonthe, R.G., Mitchell, G., Gattuso, M., Diarra, M.S., Malouin, F., Bouarab, K., 2009, Plant Antimicrobial Agent and Their Effect on Plant and Human Pathogens, *Int.J.Mol.Sci.*, 10 : 3400-3419
16. Palezar, M.J., Chan, E.C.S, 1986, *Dasar-dasar Mikrobiologi, Jilid I*, Jakarta : UI Press
17. Poeloengan, M., Praptiwi, 2010, Antibacterial Activity Test Of Mangos Teen (*Garcinia mangostana* Linn) Peel, *Media Litbang Kes.*, Vol. 20 No. 2 hal. 65-69
18. Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, E.A., 2007, *Medical Biology, Twenty Fourth Edition*, Mc. Graw-Hill Company, United States of America