



**ANALISA DAYA HAMBAT EKSTRAK DAUN LIDAH  
BUAYA (*Aloe vera L.*) TERHADAP AKTIVITAS ENZIM  
GLUKOSILTRANSFERASE *Streptococcus mutans***

**SKRIPSI**

**UNTUK MEMENUHI PERSYARATAN  
MEMPEROLEH GELAR SARJANA**

**OLEH :**

**AINUN WULANDARI  
NIM 155070401111010**

**PROGRAM STUDI SARJANA KEDOKTERAN GIGI  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
2018**



**HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI**

**ANALISA DAYA HAMBAT EKSTRAK DAUN LIDAH  
BUAYA (*Aloe vera L.*) TERHADAP AKTIVITAS ENZIM  
GLUKOSILTRANSFERASE *Streptococcus mutans***

Oleh:

**Ainun Wulandari**  
**155070401111010**

**Telah diujikan di depan Majelis Penguji pada tanggal 14 Januari  
2018 dan dinyatakan memenuhi syarat memperoleh gelar  
Sarjana dalam Bidang Kedokteran Gigi**

**Menyetujui,  
Pembimbing**

**dr. Novi Khila Firani, M. Kes., Sp.PK**  
**NIP 197611022003122001**  
**Malang,**

**Mengetahui,  
Ketua Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi  
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya**

**drg. Yuliana Ratna Kumala, Sp.KG**  
**NIP 198004092008122004**



**HALAMAN PERSETUJUAN SKRIPSI**

**ANALISA DAYA HAMBAT EKSTRAK DAUN LIDAH  
BUAYA (*Aloe vera L.*) TERHADAP AKTIVITAS ENZIM  
GLUKOSILTRANSFERASE *Streptococcus mutans***



Oleh:

**Ainun Wulandari**  
**155070401111010**

**Menyetujui untuk diuji:**

**Pembimbing**

**dr. Novi Khila Firani, M. Kes., Sp.PK**  
**NIP 197611022003122001**

**PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI**

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam naskah skripsi ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu perguruan tinggi, dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata di dalam naskah disertasi ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur plagiasi, saya bersedia skripsi ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh SARJANA dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku (UU No.20 Tahun 2003, Pasal 25 ayat 2 dan Pasal 70).

Malang, 7 Januari 2018

Yang menyatakan,

Ainun Wulandari

15507040111010

## ABSTRAK

Ainun Wulandari, 155070401111010, Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi, Universitas Brawijaya, Malang, (tanggal bulan tahun), “Analisa Daya Hambat Ekstrak Daun Lidah Buaya (*Aloe Vera L.*) Terhadap Aktivitas Enzim Glukosiltransferase *Streptococcus mutans*”, Tim Pembimbing: dr. Novi Khila Firani, M. Kes., Sp.PK

*Streptococcus mutans* merupakan bakteri yang terdapat didalam rongga mulut yang berperan sebagai agen utama penyebab karies gigi, yang memiliki enzim glukosiltransferase (GTF). Enzim GTF akan mengubah sukrosa menjadi fruktosa dan glukosa. Lidah Buaya (*Aloe vera L.*) sebagai bahan alami memiliki sifat antibakteri. Dalam hal ini memiliki kandungan tanin yang secara spesifik dapat menghambat aktivitas enzim Glukosiltransferase *Streptococcus mutans*. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun lidah buaya (*Aloe vera L.*) terhadap aktivitas enzim GTF *Streptococcus mutans*. Penelitian ini menggunakan ekstrak daun lidah buaya konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, 75% dan 100% sebagai perlakuan, dan aquades sebagai kontrol. Enzim GTF diperoleh dari hasil sentrifugasi bakteri *Streptococcus mutans*. Aktivitas enzim GTF diukur dengan menghitung kadar fruktosa menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Hasil perhitungan aktivitas enzim GTF menunjukkan perbedaan penurunan kadar fruktosa yang signifikan antara kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak daun lidah buaya dengan kelompok kontrol. Analisa data menggunakan Korelasi dan Regresi menunjukkan berpengaruh sebesar 76,1% terhadap penurunan kadar fruktosa. Berdasarkan penelitian daun lidah buaya dapat menghambat kerja dari enzim glukosiltransferase.

**Kata Kunci:** Lidah buaya, Enzim glukosiltransferase, *Streptococcus mutans*.



## ABSTRACT

Ainun Wulandari, 155070401111010, Faculty of Dentistry Brawijaya University Malang, 7 January 2019, "Analysis of Inhibitory effect of Aloe Vera Leaf Extract (*Aloe Vera L.*) on *Glucosyltransferase* enzym activity of *Streptococcus mutans*. Supervisor: dr. Novi Khila Firani, M. Kes., Sp.PK

*Streptococcus mutans* is a bacteria in the oral cavity which consists of *glucosyl transferase* (GTF) enzyme and acts as the main agent that causes dental caries. GTF enzyme will convert sucrose into fructose and glucose. Aloe vera (*Aloe vera L.*) is one of herbal plants which has a antibacterial effect. Aloe vera has active substansce such as tannin which specifically can inhibit *glucosyltransferase* (GTF) enzyme *Streptococcus mutans*. The purpose of this research is to investigate the effect of Aloe vera leaf (*Aloe vera L.*) extract to the activity of *Streptococcus mutans*'s GTF enzyme. This research used 12,5%, 25%, 50%, 75% and 100% concentration of Aloe vera extract and count as the treatment group, and aquadest as a control group. The GTF enzyme is obtained from the supernatant of *Streptococcus mutans*. The activity of GTF enzyme is measured by calculating the fructose concentration using *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). The results of calculations of enzyme activity GTF shows the difference a significant fructose levels between treatment groups given the Aloe Vera leaf extract with the control group. Data analysis using correlation and regression shows the effect of 76.1% against a decline in the levels of fructose. Based on this research, it can be concluded that leaves of the Aloe Vera can inhibit the action of the *glucosyltransferase* enzyme.

**Keywords:** *Aloe vera*, *Glucosyltransferase* enzyme, *Streptococcus mutans*



## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur hanya bagi Allah S.W.T., karena atas rahmat, karunia, serta ridho-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Analisa Daya Hambat Ekstrak Daun Lidah Buaya (*Aloe Vera L.*) Terhadap Aktivitas *Enzim Glukosiltransferase Streptococcus mutans*” dapat diselesaikan.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak dapat terselesaikan tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih tak terhingga kepada:

1. drg. R. Setyohadi, M. S. sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya Malang.
2. drg. Yuliana Ratna Kumala, Sp. KG. sebagai Kepala Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya Malang.
3. dr. Novi Khila Firani, M.Kes., Sp.PK selaku dosen pembimbing pertama dan pembimbing satu-satunya yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberikan masukan dan bimbingan kepada penulis sehingga proposal skripsi ini dapat terselesaikan.
4. drg. R. Setyohadi, M.S selaku penguji I dan drg. Viranda Sutanti, M.Si selaku penguji II yang sudah senantiasa meluangkan waktu, tenaga dan pikiran dalam menguji proposal skripsi ini.
5. Seluruh anggota Tim Pengelola Skripsi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya khususnya drg. Diena Fuadiyah, M. Si. atas segala ilmu yang telah diberikan kepada penulis.
6. Seluruh dosen dan staf Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya atas segala ilmu dan bantuan yang telah diberikan kepada penulis.
7. Keluarga penulis yang selalu memberikan doa, motivasi, serta dorongan setiap harinya, Ayah dan Ibu.
8. Teman-temanku (Agil, Yufi, Ayu, Huwa, Tiska, Bima, Adistia, Atika, Afnan, Ria, Naba, Nila,Dita) yang memberi semangat dan motivasi bagi penulis.



9. Pak Slamet dan Pak Ali laboran mikrobiologi FK UB yang telah membantu selama proses penelitian dan sangat menghibur dengan kerecehannya

10. Teman-teman kelompok proposal departemen Biokimia ( Imarida ali, Kurnia Ramadhani , Devi Puspita ) yang selalu memberikan semangat, kekompakan, masukan, serta kesetiaan.

11. Seluruh teman-teman Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya angkatan 2015.

12. Semua pihak yang telah mendukung penulis, yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu.

Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan rahmat-Nya dan membalas semua amal kebaikan mereka. Namun demikian, penulis dalam hal ini sangat menyadari, bahwa skripsi ini masih sangat jauh dari sempurna. Oleh karena itu, segala kritik dan saran yang membangun akan penulis terima. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat baik bagi penulis sendiri maupun dalam bidang kedokteran gigi.

Malang, 7 Januari 2018

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

Judul .....	i
Halaman Pengesahan .....	ii
Halaman Persetujuan .....	iii
Pernyataan Orisinalitas Skripsi .....	iv
Abstrak .....	v
Kata Pengantar .....	vii
Daftar Isi .....	xi
Daftar Gambar .....	xiii
Daftar Tabel .....	xiv
Daftar Singkatan .....	xv
Daftar Lampiran .....	xvi

**BAB I PENDAHULUAN**

1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	5
1.3 Tujuan .....	
1.3.1 Tujuan Umum .....	5
1.3.2 Tujuan Khusus .....	5
1.4 Manfaat Penelitian .....	
1.4.1 Manfaat Ilmiah .....	6
1.4.2 Manfaat Klinis .....	6

**BAB II TINJAUAN PUSTAKA**

2.1 Karies .....	7
2.1.1 Mikroorganismen .....	8
2.1.2 Substrat .....	8
2.1.3 Gigi Geligi .....	9
2.1.4 Waktu .....	9
2.2 Bakteri <i>Streptococcus mutans</i> .....	10



2.2.1 Morfologi <i>Streptococcus mutans</i> .....	11
2.2.2 Pengaruh <i>Streptococcus mutans</i> penyebab karies pada gigi .....	11
2.3 Enzim glukosiltransferase (GTF) .....	12
2.4 Lidah Buaya .....	15
2.4.1 Morfologi Lidah Buaya .....	15
2.4.2 Kandungan Lidah Buaya .....	16
2.5 Flavonoid.....	18
2.6 Saponin.....	20
2.7 Tanin.....	20
2.8 Mekanisme kerja Antibakteri .....	22

### **BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS**

3.1 Kerangka Konsep .....	23
3.2 Hipotesis.....	25

### **BAB IV METODE PENELITIAN**

4.1 Rancangan dan Desain Penelitian .....	26
4.2 Sampel Penelitian .....	26
4.2.1 Sampel Penelitian .....	26
4.2.2 Estimasi Jumlah Pengulangan .....	27
4.3 Variabel Penelitian .....	27
4.3.1 Variabel Bebas .....	27
4.3.2 Variabel Terikat .....	27
4.3.3 Variabel Terkendali .....	27
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian .....	28
4.4.1 Lokasi Penelitian.....	28
4.4.2 Waktu Penelitian.....	28
4.5 Alat dan Bahan Penelitian .....	28
4.5.1 Alat Penelitian .....	28
4.5.2 Bahan Penelitian .....	28
4.6 Definisi Operasional .....	29
4.7 Prosedur Penelitian.....	30



4.7.1	Pembuatan Ekstrak Daun Lidah Buaya .....	30
4.7.2	Identifikasi Bakteri <i>Streptococcus mutans</i> ....	32
4.7.3	Pewarnaan Gram .....	32
4.7.4	Tes Katalase .....	33
4.7.5	Tes Optochin .....	33
4.7.6	Persiapan Bakteri <i>Streptococcus mutans</i> .....	34
4.7.7	Pembuatan enzim GTF <i>Streptococcus mutans</i> .....	34
4.7.8	Pengujian aktivitas enzim GTF .....	34
4.8	Alur Penelitian.....	37
4.9	Analisa Data .....	38
<b>BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN</b>		
5.1	Hasil Penelitian	
5.1.1	Identifikasi Bakteri <i>Streptococcus mutans</i> .....	39
5.1.2	Hasil pembacaan dan perhitungan kadar fruktosa .....	41
5.2	Analisa Data .....	42
5.2.1	Uji Normalitas .....	42
5.2.2	Uji Homogenitas .....	43
5.2.3	<i>One way ANOVA</i> .....	44
5.2.4	Uji <i>Post Hoc Tukey HSD</i> .....	45
5.2.5	Uji Korelasi <i>Pearson</i> dan Regresi.....	46
5.3	Pembahasan.....	48
<b>BAB VI PENUTUP</b>		
6.1	Kesimpulan.....	53
6.2	Saran .....	53
Daftar Pustaka .....		55
Lampiran .....		63
Lampiran 1. Surat Keterangan Bakteri .....		63
Lampiran 2. Surat Keterangan Determinasi Tanaman .....		64
Lampiran 3. Surat Keterangan Ekstrak.....		65

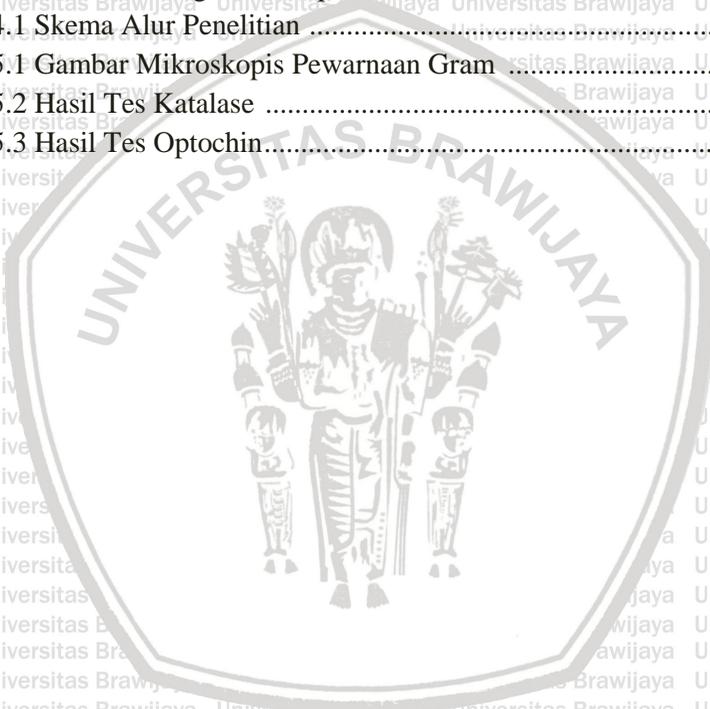


Lampiran 4. Surat Skrining Fitokimia .....	66
Lampiran 5. Surat Cara Kerja HPLC .....	67
Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian .....	68



## DAFTAR GAMBAR

No.	Judul Gambar	Hal.
2.1	Empat Lingkaran Faktor Penyebab Karies	7
2.2	Bakteri <i>Streptococcus mutans</i>	10
2.3	Lidah Buaya	16
2.4	Struktur Kimia Dasar Flavonoid	18
2.5	Struktur Kimia Dasar Tanin	21
3.1	Skema Kerangka Konsep	23
4.1	Skema Alur Penelitian	37
5.1	Gambar Mikroskopis Pewarnaan Gram	39
5.2	Hasil Tes Katalase	40
5.3	Hasil Tes Optochin	41



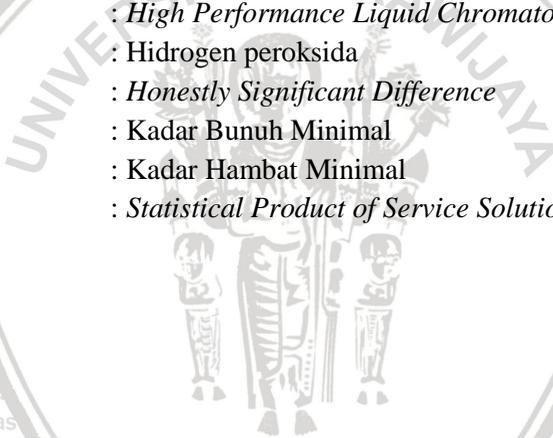
DAFTAR TABEL

No.	Judul Tabel	Hal.
2.1	Hasil Fitokimia pada Daun Lidah Buaya	17
4.1	Kelompok Sampel dan Jenis Perlakuan	26
5.1	Rata - Rata dan Standar Deviasi	42
5.2	Uji Normalitas	42
5.3	Uji Homogenitas	43
5.4	One way ANOVA	44
5.5	Uji Post Hoc Tukey HSD	45
5.6	Uji Korelasi Pearson	46
5.7	Uji Regresi	47



## DAFTAR SINGKATAN

ANOVA	: <i>Analysis of Variance</i>
BAP	: <i>Blood Agar Plate (BAP)</i>
BHIB	: <i>Brain Heart Infusion Broth</i>
μl	: satuan microliter
μm	: satuan micrometer
CFU	: <i>Colony Forming Unit</i>
CHX	: <i>Chlorhexidine gluconate</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i>
EDTA	: <i>Ethylenediaminetetraacetic Acid</i>
FTF	: <i>fruktosiltransferase</i>
GTF	: <i>Glucosyltransferases</i>
HPLC	: <i>High Performance Liquid Chromatography</i>
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	: Hidrogen peroksida
HSD	: <i>Honestly Significant Difference</i>
KBM	: Kadar Bunuh Minimal
KHM	: Kadar Hambat Minimal
SPSS	: <i>Statistical Product of Service Solution</i>



## DAFTAR LAMPIRAN

No.	Judul Gambar	Hal.
1	Surat Keterangan Bakteri.....	63
2	Surat Keterangan Determinasi Tanaman.....	64
3	Surat Keterangan Ekstrak .....	65
4	Surat Skrining Fitokimia .....	66
5	Surat Cara Kerja HPLC.....	67
6	Dokumentasi Proses Penelitian .....	68
7	Hasil Perhitungan Statistik.....	84



## BAB I PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Kesehatan gigi dan mulut merupakan bagian yang penting dan harus diperhatikan oleh manusia karena merupakan pintu masuk utama bagi makanan. Permasalahan yang sering terjadi di rongga mulut adalah karies. Karies merupakan suatu penyakit pada jaringan keras gigi yang disebabkan oleh beberapa faktor yakni permukaan dan bentuk gigi, karbohidrat, mikroorganisme dan air ludah (Amalia *et al.*,2014). Menurut Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) tahun 2007 menunjukkan tingkat keparahan karies atau indeks DMF-T cukup tinggi yaitu 4,6 dengan nilai D-T= 1,6; M-T= 2,9; F-T= 0,08; yang berarti kerusakan gigi penduduk Indonesia 460 buah gigi per 100 orang.

Mikroorganisme yang dominan berada pada rongga mulut yang memiliki sifat *acidogenic* dan *acidophilic* yakni *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus sp*, *Actinomyces viscosus*, *Streptococcus salivarius* dan *Candida albicans*. Mikroorganisme tersebut mempunyai kemampuan untuk mengubah karbohidrat makanan menjadi asam dan dapat menurunkan pH didalam rongga mulut sehingga dapat menyebabkan terjadinya demineralisasi email gigi sehingga menyebabkan karies (Thaweboon *et al.*,2011). *Streptococcus mutans* merupakan salah satu mikroorganisme penyebab terjadinya karies pada gigi. *Streptococcus mutans* memiliki kemampuan yang sangat tinggi untuk melekat pada



2

permukaan gigi. Bakteri ini memiliki sifat-sifat virulensi spesifik yang terlibat dalam pembentukan biofilm pada permukaan gigi, yaitu sintesis polisakarida ekstraseluler (glukan) yang dikatalisis oleh *enzim glukosiltransferase* (GTF). Bakteri tersebut dapat mengubah glukosa dan karbohidrat pada makanan menjadi asam melalui proses fermentasi (Pratiwi, 2005). *Enzim glukosiltransferase* dapat mengubah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa, serta mengkatalisis pembentukan *soluble* dan *insoluble* glukan dari sukrosa dan berkontribusi signifikan terhadap komposisi matriks polisakarida plak gigi (Forsten *et al.*, 2010).

*Enzim glukosiltransferase* (GTF) diproduksi oleh *Streptococcus mutans* yang merupakan faktor virulensi dalam patogenesis karies gigi (Koo *et al.*, 2002). GTF yang diproduksi oleh *Streptococcus mutans* ada 3 yaitu GTF B, GTF C dan GTF D, Glukan mendukung adanya perlekatan dan akumulasi dari bakteri *Streptococcus mutans* yang bersifat kariogenik pada permukaan gigi. Salah satu cara untuk mencegah terjadinya karies pada gigi yaitu dengan menghambat aktivitas *enzim Glukosiltransferase* (GTF) yang diproduksi oleh *Streptococcus mutans* (Koo *et al.*, 2002).

Pencegahan karies sendiri itu dapat dilakukan dengan dua cara yakni secara mekanis maupun kimiawi (Ristianti *et al.*, 2015). Pencegahan karies secara mekanis yaitu menggosok gigi dengan pasta gigi (Ristianti *et al.*, 2015) sedangkan pencegahan karies secara kimiawi yaitu diberikan obat kumur antiseptik, misalnya *chlorhexidine gluconate* (Shekar *et al.*, 2015). Dampak negatif yang ditimbulkan apabila menggunakan bahan kimia secara terus menerus

dalam jangka waktu panjang dapat menimbulkan terjadinya xerostomia (mulut kering), juga berbahaya apabila tertelan (Nuniek *et al.*, 2012), sehingga diperlukan bahan alternatif lain yang dapat digunakan yang tentunya mampu menghambat aktivitas *enzim Glukosiltransferase* (GTF) sehingga mampu mengontrol pembentukan plak gigi dengan efek samping yang minimal terhadap rongga mulut.

Berdasarkan penelitian sebelumnya *enzim Glukosiltransferase* (GTF) telah diuji dapat dihambat oleh ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura L*) konsentrasi 10% didapatkan hasil bahwa pada ekstrak daun kersen konsentrasi 10% memiliki kemampuan yang hampir sama dengan kemampuan *chlorhexidine* 0,12% sebagai antibakteri dalam menghambat aktivitas enzim GTF bakteri *Streptococcus mutans* (Isnarianti *et al.*,2013). Pada ekstrak Kulit Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia Swingle*) Konsentrasi 10% didapatkan hasil bahwa *chlorhexidine* 0,12% memiliki daya hambat terhadap enzim *Glukosiltransferase* (GTF) yang lebih baik daripada perlakuan ekstrak kulit jeruk nipis (Adindaputri,2013). Kandungan pada daun kersen dan kulit jeruk nipis yang dapat menghambat aktivitas enzim GTF yaitu flavonoid.

Respon daya hambat pertumbuhan mikroba yang dihasilkan dipengaruhi oleh kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam daun lidah buaya. Senyawa flavonoid mampu menghambat aktivitas *enzim Glukosiltransferase* (GTF) pada *Streptococcus mutans* hingga 90,5-95% (Ren *et al.*,2016). Sifat flavonoid dalam menghambat

*enzim Glukosiltransferase (GTF)* terdapat pada kelompok flavones dan flavonols. Flavones dan flavonols, mempunyai ikatan ganda antara posisi C-2 dan C-3 pada rantai struktur kimianya yang membuatnya mampu menghambat aktivitas enzim GTF (Koo *et al.*, 2002). Tanin dapat menghambat aktivitas enzim GTF hingga 31,93% (Sendamangalam,2010). Tanin mampu membentuk ikatan kompleks dengan protein sehingga menginaktivasi adhesi bakteri,enzim, koagulator protein bakteri, serta hambatan terhadap aktivitas enzim GTF yang menyebabkan koagulasi protoplasma (Juliantina,2009). Sedangkan saponin bersifat *emulgator* (detergen) yang dapat melarutkan bahan organik dan anorganik, serta bisa menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri (Retnowati *et al.*, 2011).

Penelitian I Gusti 2017 menunjukkan bahwa ekstrak daun lidah buaya mampu menghambat bakteri *Streptococcus mutans*. Hasil konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun lidah buaya terhadap bakteri *Streptococcus mutans* sebesar 50%.

Belum diketahui efek daun lidah buaya terhadap aktivitas enzim GTF, oleh sebab itu penulis ingin mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun lidah buaya (*Aloe vera L*) terhadap aktivitas *enzim Glukosiltransferase Streptococcus mutans* sehingga diharapkan bahan ini dapat dikembangkan sebagai alat alternatif untuk obat kumur dan pasta gigi pencegah karies.

## 1.2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak daun lidah buaya (*Aloe vera L*) dapat menghambat aktivitas enzim *Glukosiltransferase* yang dihasilkan oleh *Streptococcus mutans*?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka tujuan dari penulisan karya tulis ini antara lain:

### 1.3.1 Tujuan umum

Mengetahui pengaruh ekstrak daun lidah buaya (*Aloe vera L*) terhadap aktivitas enzim *Glukosiltransferase* dari *Streptococcus mutans*.

### 1.3.2 Tujuan khusus

1. Melihat aktivitas enzim *Glukosiltransferase* dengan menghitung kadar fruktosa dengan HPLC pada kelompok kontrol.
2. Melihat aktivitas enzim *Glukosiltransferase* dengan menghitung kadar fruktosa dengan HPLC pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak daun lidah buaya (*Aloe vera L*).
3. Menganalisa perbandingan kelompok perlakuan yang tidak diberi ekstrak daun lidah buaya (*Aloe vera L*) dan kelompok yang diberi ekstrak daun lidah buaya (*Aloe vera L*) terhadap aktivitas enzim *Glukosiltransferase* dari *Streptococcus mutans*.

4. Menganalisa pengaruh pemberian ekstrak daun lidah buaya terhadap aktivitas *enzim Glukosiltransferase Streptococcus mutans*.

## 1.4 Manfaat Penelitian

### 1.4.1 Manfaat Akademik

Menambah wawasan dan membantu untuk mendapatkan informasi yang luas mengenai bahan-bahan alami seperti daun lidah buaya (*Aloe vera L*) yang efektif dalam menghambat aktivitas *enzim Glukosiltransferase* dari *Streptococcus mutans*.

### 1.4.2 Manfaat praktis

1. Memberikan inovasi baru dan dasar ilmiah untuk penelitian lebih lanjut mengenai penggunaan ekstrak daun lidah buaya (*Aloe vera L*) yang mampu menghambat aktivitas *enzim Glukosiltransferase Streptococcus mutans* sehingga dapat digunakan sebagai bahan alternatif untuk pencegahan karies gigi alami yang aman seperti obat kumur dan pasta gigi.

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

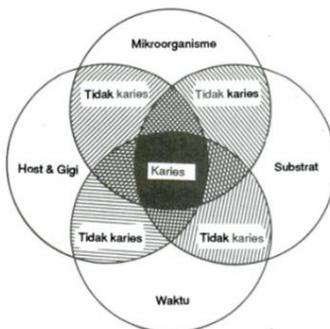
### 2.1 Karies

Karies merupakan suatu penyakit jaringan keras gigi, yaitu enamel, dentin, dan sementum, yang disebabkan oleh aktifitas suatu jasad renik dalam suatu karbohidrat yang dapat diragikan. Tandanya adalah adanya demineralisasi jaringan keras gigi yang kemudian diikuti oleh kerusakan bahan organiknya (Kidd dan Bechal, 2012).

Karies gigi merupakan kerusakan lokal pada jaringan keras gigi akibat produk asam yang dihasilkan oleh bakteri selama proses fermentasi karbohidrat. Karies umumnya bersifat kronis dan berkembang lambat sebagai hasil dari ketidakseimbangan antara mineral gigi dan biofilm (Yadav dan Prakash, 2016).

Karies disebabkan oleh empat faktor yaitu gigi, mikroorganisme, substrat dan waktu (Kidd dan Bechal, 2012)

Gambar 2.1 Empat Lingkaran Yang Menggambarkan Faktor penyebab Karies



Sumber : Kidd dan Bechal, 2012



### 2.1.1 Mikroorganisme

Mikroorganisme memiliki peran penting sebagai penyebab karies. *Streptococcus mutans* dan *Lactobacillus* merupakan 2 dari 500 bakteri yang terdapat pada plak gigi dan merupakan bakteri utama yang menyebabkan terjadinya karies pada gigi. Bakteri tersebut akan memfermentasi sukrosa menjadi asam laktat sehingga menyebabkan terjadinya demineralisasi pada gigi (Ramayanti,2013).

*Streptococcus mutans* dan *Lactobacillus sp* dapat tumbuh subur dalam suasana asam dan dapat menempel pada permukaan gigi dengan kemampuannya membuat polisakarida ekstra sel yang sangat melekat dari karbohidrat makanan, akibatnya bakteri – bakteri terbentuk untuk melekat pada gigi serta saling melekat. Plak yang semakin tebal akan menghambat fungsi saliva dalam menetralkan plak tersebut (Kidd dan Bechal,2012).

### 2.1.2 Substrat

Substrat merupakan karbohidrat yang dapat difermentasi. Karbohidrat ini merupakan bahan untuk pembuatan asam bagi bakteri dan sintesa polisakarida ekstra sel. Karbohidrat seperti sukrosa dan glukosa akan dimetabolisme cepat oleh bakteri berbeda dengan Karbohidrat kompleks seperti pati yang relatif tidak berbahaya (Kidd dan Bechal,2012).

Konsumsi karbohidrat seperti gula,roti atau makanan sejenis lemak yang mudah lengket pada gigi akan mempengaruhi pembentukan plak dimana akan membantu perkembangbiakan dan kolonisasi mikroorganisme pada permukaan gigi. Sisa makanan yang

melekat pada gigi dapat diubah oleh bakteri menjadi asam yang dapat melarutkan enamel gigi sehingga terjadi karies (Gultom,2009).

### 2.1.3 Gigi Geligi

Kidd dan Bechal (2012) menyatakan bahwa, morfologi gigi merupakan daerah yang rentan terhadap penumpukan plak yang mengandung bakteri, plak merupakan awal terbentuknya karies.

Bagian gigi yang mudah diserang karies tersebut adalah :

- a. Pit dan fisur permukaan oklusal dan premolar serta pit bukal molar dan pit palatal insisif
- b. Permukaan halus didaerah aproksimal sedikit dibawah titik kontak
- c. Email pada tepian daerah leher gigi sedikit diatas tepi gingiva
- d. Permukaan akar yang terbuka , yang merupakan daerah tempat melekatnya plak pada pasien dengan resesi gingiva karena penyakit periodontium
- e. Tepi tumpatan yang kurang atau mengemper
- f. Permukaan gigi yang berdekatan dengan gigi tiruan atau jembatan

### 2.1.4 Waktu

Proses terjadinya karies tidak terjadi dalam kurun waktu yang singkat melainkan terjadi dalam kurun waktu yang lama,berbulan - bulan bahkan bertahun - tahun. Hal ini dikarenakan adanya kemampuan saliva untuk mendepositkan kembali mineral yang

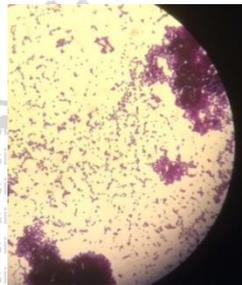
hilang selama berlangsungnya proses demineralisasi (Kidd dan Bechal,2012).

## 2.2 Bakteri *Streptococcus mutans*

*Streptococcus mutans* merupakan bakteri yang paling penting dalam proses terjadinya karies gigi (Sidarningsih,2000; Nomura dkk., 2004). Klasifikasi *Streptococuss mutans* menurut Bergey dalam Capuccino (1998) adalah :

Kingdom	: <i>Monera</i>
Divisio	: <i>Firmicutes</i>
Class	: <i>Bacilli</i>
Order	: <i>Lactobacilalles</i>
Family	: <i>Streptococcaceae</i>
Genus	: <i>Streptococcus</i>
Species	: <i>Streptococcus mutans</i>

Gambar 2.2 Bakteri *Streptococcus mutans*



*Streptococcus mutans* termasuk kelompok *Streptococcus viridans* yang merupakan anggota floral normal rongga mulut yang memiliki sifat  $\alpha$ -hemolitik dan komensal oportunistik

(Samaranayake, 2002). *Streptococcus mutans* tumbuh dalam suasana fakultatif anaerob (Nugraha,2008).

### 2.2.1 Morfologi *Streptococcus mutans*

*Streptococcus mutans* secara morfologi merupakan bakteri gram positif (+) yang tampak bewarna ungu pada saat pengecatan gram bersifat non motil (tidak bergerak), berdiameter 1-2 µm, mikroorganisme fakultatif anaerob yang tumbuh optimum pada suhu 25 - 45°, dengan pH 5,0 – 6,5. Memiliki bentuk bulat atau bulat telur, tersusun seperti rantai dan tidak membentuk spora (Samaranayake, 2002).

*Streptococcus mutans* memiliki sifat dapat bertahan hidup dalam lingkungan asam (*asidurik*) dan juga menghasilkan asam (*asidogenik*). Bakteri ini juga memanfaatkan enzim *glukosiltransferase* (GTF) dan *fruktosiltransferase* (FTF) yang berfungsi untuk merubah sukrosa menjadi glukukan (*dekstran*) dan fruktan (*levan*) (Pinkham,2005). Enzim-enzim ini bersifat spesifik untuk substrat sukrosa yang digunakan untuk sintesa glukukan dan fruktan yang berhubungan dengan pembentukan plak dan kariogenitas (Tirta, 2012). *Streptococcus mutans* biasanya ditemukan pada rongga gigi manusia dan menjadi bakteri yang paling kondusif menyebabkan karies untuk email gigi (Nugraha, 2008).

### 2.2.2 Pengaruh *Streptococcus mutans* penyebab karies pada gigi

*Streptococcus mutans* merupakan flora normal dalam rongga mulut yang dapat berubah menjadi patogen apabila terjadi

peningkatan jumlah koloni yang berlebihan. Dalam bidang kedokteran gigi, *Streptococcus mutans* memegang peranan penting dalam pembentukan (Ramadhani,2014)

*Streptococcus mutans* mempunyai peranan penting dalam pembentukan karies karena (Ramadhani,2014) :

- 1) *Streptococcus mutans* adalah bakteri anaerob yang dikenal menghasilkan asam laktat sebagai bagian dari metabolisemenya
- 2) Adanya kemampuan *Streptococcus mutans* mengikat permukaan gigi dengan sukrosa oleh pembentukan larutan glukon, suatu polisakarida yang membantu dalam mengikat bakteri untuk gigi.

### 2.3 Enzim glukosiltransferase

*Glukosiltransferase* merupakan enzim yang diproduksi oleh *Streptococcus mutans* dan merupakan faktor virulensi dalam patogenesis karies gigi. Enzim GTF yang diproduksi oleh *Streptococcus mutans* ada 3 yaitu GTF B, GTF C dan GTF D, namun yang dapat menyebabkan karies hanya 3 yakni GTFB, GTFC dan GTFD (Koo,dkk 2002). GTF B mensintesis glukon *insoluble* dengan ikatan  $\alpha(1-3)$  yang memfasilitasi agregasi sel dalam biofilm stabil dengan interaksi antar *Streptococcus mutans*. GTFC memproduksi glukon *soluble* dan *insoluble* yang menunjukkan afinitas tertinggi untuk hidroksiapatit dibanding GTF yang lain. GTFD membentuk terutama glukon *soluble* dengan ikatan  $\alpha(1-6)$  yang mengandung

gugus hidrofobik, membuat interaksi dengan protein saliva dalam pelikel (Inagaki *et al.*, 2013; Tirta, 2012; Veloz *et al.*, 2016).

Enzim GTF dapat mengubah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa, serta mengkatalisis pembentukan *soluble* dan *insoluble* glukan dari sukrosa dan berkontribusi signifikan terhadap komposisi matriks polisakarida plak gigi. Enzim ini dapat mensintesis molekul glukosa dengan berat molekul tinggi yang terdiri dari ikatan glukosa  $\alpha(1-6)$  dan  $\alpha(1-3)$ . *Insoluble* glukan  $\alpha(1-3)$  ini sangat lengket dan tidak larut dalam air (Forsten *et al.*, 2010). Hal ini dimanfaatkan oleh bakteri *Streptococcus mutans* untuk berkembang dan meningkatkan pembentukan plak yang menyebabkan terjadinya karies gigi (Jeong Lee *et al.*, 2012)

Sukrosa merupakan satu – satunya jenis gula yang dimanfaatkan oleh *Streptococcus mutans* untuk pembentukan pelikel, sedangkan glukosa, fruktosa dan laktosa dapat dicerna oleh *Streptococcus mutans* untuk menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir. Kombinasi dari kedua hal ini dapat menyebabkan terjadinya karies gigi.

Aktivitas enzim dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor. Faktor – faktor tersebut akan menentukan aktivitas kerja enzim. Beberapa faktor yang mempengaruhi diantaranya adalah (Hamid, 2010).

a. Suhu

Suhu yang terlalu tinggi akan menyebabkan enzim terdenaturasi. Pada suhu rendah, enzim menjadi tidak aktif dan dapat kembali aktif pada suhu normal.

b. Konsentrasi Enzim

Jika konsentrasi enzim banyak, maka reaksi akan lebih cepat. Jika jumlah enzim dua kali lipat, maka kecepatan reaksi akan menjadi dua kali lipat. Jadi ada hubungan linier antara kecepatan reaksi enzim dengan jumlah enzim.

c. Konsentrasi Substrat

Kecepatan reaksi enzimatik pada umumnya tergantung pada konsentrasi substrat. Kecepatan reaksi akan meningkat apabila konsentrasi substrat meningkat. Peningkatan kecepatan reaksi ini akan semakin kecil hingga tercapai suatu titik batas yang pada akhirnya penambahan konsentrasi substrat hanya akan sedikit meningkatkan kecepatan reaksi.

d. pH

Enzim mempunyai pH tertentu yang pada pH tersebut aktivitas enzim optimum. Perubahan pH lingkungan berpengaruh terhadap efektivitas bagian aktif enzim dalam membentuk kompleks enzim substrat. pH yang rendah atau tinggi dapat menyebabkan terjadinya proses denaturasi dan mengakibatkan turunnya aktivitas enzim.

## 2.4 Lidah Buaya

Menurut ilmu taksonomi tumbuhan, Lidah Buaya diklasifikasikan sebagai :

Kingdom : Plantae  
Divisi : Spermatophyta  
Kelas : Monocotyledoneae  
Bangsa : Liliiflorae  
Suku : Liliaceae  
Genus : Aloe  
Spesies : *Aloe Vera L.*

(Furnawanthi, 2005)

### 2.4.1 Morfologi Lidah Buaya

Tanaman lidah buaya (*Aloe vera L.*) termasuk dalam keluarga Liliaceae, berasal dari kepulauan canary sebelah barat Afrika dan diperkirakan masuk Indonesia pada abad ke-17. Di Indonesia lidah buaya dibudidayakan sejak beberapa tahun yang lalu dalam skala yang cukup luas di Pontianak, Kalimantan Barat. Jenis yang diusahakan di daerah tersebut adalah *Aloe sinensis* yang berasal dari Cina (Taryono, 2003).

Lidah buaya (*Aloe Vera L.*) terdiri dari batang, daun, bunga dan akar. Daun lidah buaya merupakan daun tunggal yang berbentuk lanset atau membentuk taji, yaitu ujung meruncing dan pangkal menggebu, serta memiliki daging yang cukup tebal (kurang lebih 1 - 2,5 cm untuk yang berumur 12 bulan), tidak bertulang,

berwarna hijau keabu-abuan dan memiliki lapisan lilin di permukaannya (Purbaya,2003).

Tanaman lidah buaya termasuk semak rendah, tergolong tanaman yang bersifat sukulen, dan menyukai hidup ditempat yang kering. Batang tanaman pendek, mempunyai daun yang bersap-sap melingkar (roset), panjang daun 40-90 cm, lebar 6-13 cm, dengan ketebalan lebih kurang 2,5 cm di pangkal daun, serta bunga berbentuk lonceng. Bunga lidah buaya berbentuk terompet atau tabung kecil sepanjang 2-3 cm, berwarna kuning sampai oranye, tersusun sedikit berantai melingkari ujung tangkai yang menjulang keatas sepanjang sekitar 50-100cm (Furnawanthi, 2005)

Gambar 2.3 Lidah Buaya (*Aloe vera L.*)



Sumber:[https://en.wikipedia.org/wiki/Aloe\\_vera#/media/File:Aloe\\_Vera.jpg](https://en.wikipedia.org/wiki/Aloe_vera#/media/File:Aloe_Vera.jpg)

#### 2.4.2 Kandungan Lidah Buaya

Lidah Buaya mengandung berbagai senyawa yang berfungsi sebagai antibakteri seperti flavonoid, lignin, saponin, fenol, alkaloid dan antrakuinon. Daun lidah buaya (*Aloe vera*) mengandung lignin, saponin, Kompleks Antrakuinon, Acemannan, Enzim bradykinase, Karboksipeptidase, Glukomannan, Mukopolysakarida, Tennen,

alocin A, Salisilat, Asam amino, Mineral, Vitamin A, B1,B2, B6, B12, C, E, Asam folat, (Furnawanthi, 2005).

Infusum daging lidah buaya terbukti memiliki sifat antibakteri karena mengandung senyawa fenol dan tanin (Lee, 2004).

Fenol mampu berperan sebagai bakterisidal dengan mekanisme merusak integritas membran bakteri (Dea, 2004).

Tabel 2.1 Hasil fitokimia pada Daun Lidah Buaya (Aloe Vera L.)

No	Kandungan Kimia	Pereaksi Kimia	Hasil
1	Alkaloid	Mayer LP	-
		Bouchardat LP	-
		Dragendorf LP	-
2	Glikosida	Reaksi Mollisch	+
		Serbuk Zn + HCl 2N + HCl (p)	-
		Serbuk Mg + HCl (p)	-
3	Flavonoid	Aseton + serbuk asam borat + serbuk asam oksalat + eter	+
		Kromatografi kertas	+
4	Terpen	Reaksi Liebermann-Bouchard	+
		FeCl <sub>3</sub> 1%	+
5	Tanin	Gelatin 10%	+

18

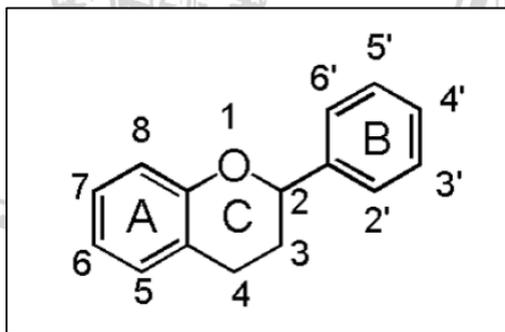
		NaCl-Gelatin	-
6	Saponin	Air panas	+
7	Antrakuinon	Wash benzen + NaOH 2N	-

Sumber : Andriani,2011

## 2.5 Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman (Redha A,2010). Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa phenolik dengan struktur kimia C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> (Redha A,2010; Maslarova, 2001). Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang memiliki 15 atom karbon, dua cincin benzene bergabung dengan tiga rantai karbon linier (Widodo, 2013).

Gambar 2.4 Struktur kimia dasar flavonoid



Sumber : Kumar dan Pandey,2013

Flavonoid dapat dibagi menjadi beberapa kelompok,yaitu flavones (apigenin,flavone, dan luteolin), flavonols (quercetin, kaempferol, myricetin, dan fisetin), flavanones (flavanone,

hesperetin, dan naringenin). Kelompok – kelompok ini dibedakan berdasarkan level oksidasi dan pola substitusi dari rantai karbon, sedangkan komponen individual dalam suatu kelompok dibedakan berdasarkan pola substitusi cincin A dan B (Kumar dan Pandey, 2013).

Flavonoid memiliki kemampuan dalam menghambat enzim GTF *Streptococcus mutans* oleh interaksi enzim dengan molekul dari flavonoid seperti karbohidrat, cincin fenil, fenol, dan cincin benzopyrone (Kumar dan Pandey, 2013). Sifat flavonoid sebagai penghambat enzim GTF terdapat pada komponen kelompok flavones dan flavonols. Flavones dan flavonols, mempunyai ikatan ganda antara posisi C-2 dan C-3 pada rantai struktur kimianya yang membuatnya mampu menghambat aktivitas enzim GTF (Koo,dkk 2002).

Manfaat dari zat aktif flavonoid yaitu anti alergi, antiinflamasi, antimikroba, anti virus serta sebagai vasodilator. Flavonoid memiliki peranan dalam efek antimikrobal yaitu pada bakteri Gram positif, gram negatif, dan fungi (Hendra *et al.*, 2011). Mekanisme flavonoid dalam menghambat aktivitas bakteri adalah hasil interaksi dengan DNA bakteri. Hal ini terjadi karena cincin B dari flavonoid dapat membuat ikatan hidrogen dengan basis asam nukleat dan menyebabkan hambatan pada sintesis DNA dan RNA (Cushnie dan Lamb, 2005).

## 2.6 Saponin

Saponin merupakan senyawa kimia kompleks dan bervariasi yang terdiri dari triterpenoid atau steroidal *aglycone* yang berikatan dengan gugus oligosakarida. Saponin bersifat emulgator (detergen) yang dapat melarutkan bahan organik dan anorganik, serta bisa menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri (Retnowati *et al.*, 2011). 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 (Zahro dan Rudiana, 2013).

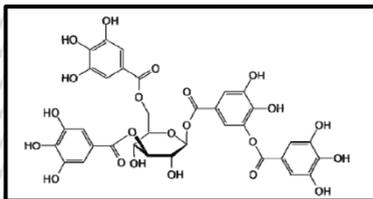
Saponin bekerja dengan mengganggu permeabilitas membran sel bakteri karena memiliki ujung hidrofobik yang akan berikatan pada protein membran sel melalui ikatan gugus polar, sedangkan gugus nonpolar saponin akan berikatan dengan lemak membran sel. Selanjutnya, hal tersebut akan mengakibatkan kerusakan membran sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat dan nukleotida (Charyadie *et al.*, 2014).

## 2.7 Tanin

Tanin merupakan golongan senyawa aktif tumbuhan yang bersifat fenol, mempunyai rasa sepat dan memiliki aktivitas

antibakteri (Noer *et al* ,2018). struktur senyawa tanin terdiri dari cincin benzena (C6) yang berikatan dengan gugus hidroksil (-OH).

Gambar 2.5 Struktur kimia dasar tanin



Sumber : Kabera *et al*,2014

Tanin dapat menghambat pertumbuhan dan membunuh bakteri dengan cara bereaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim – enzim esensial serta destruksi atau inaktivasi fungsi dan materi genetik (Cynthia,2015). Tanin dapat menghambat aktivitas enzim GTF hingga 31,93% (Sendamangalam,2010). Tanin mampu membentuk ikatan kompleks dengan protein sehingga menginaktivasi adhesi bakteri,enzim, koagulator protein bakteri, serta hambatan terhadap aktivitas enzim GTF yang menyebabkan koagulasi protoplasma (Juliantina,2009). Senyawa ini memiliki kemampuan untuk menghambat enzim ekstraseluler bakteri,mengambil alih substrat yang dibutuhkan pada pertumbuhan bakteri, atau bekerja secara langsung pada metabolisme dengan cara menghambat fosforilasi oksidasi (Isnarianti,2013).

## 2.8 Mekanisme kerja Antibakteri

Terdapat beberapa mekanisme senyawa antibakteri dalam mengendalikan bakteri (Pelczar dan Chan,2005) :

- a. Kerusakan pada dinding sel. Bakteri memiliki lapisan luar yang disebut dinding sel yang dapat mempertahankan bentuk bakteri dan melindungi membran protoplasma dibawahnya.
- b. Perubahan permeabilitas sel. beberapa antibiotik mampu merusak atau memperlemah fungsi ini yaitu memelihara integritas komponen komponen seluler.
- c. Perubahan molekul protein dan asam nukleat. Suatu antibakteri dapat mengubah keadaan ini dengan mendenaturasikan protein dan asam asam nukleat sehingga merusak sel tanpa dapat diperbaiki lagi.
- d. Penghambatan kerja enzim. setiap enzim yang ada didalam sel merupakan sasaran potensial bagi bekerjanya suatu penghambat. penghambatan ini dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme atau matinya sel.

Menurut Tjay dan Rahardja,2002 Suatu zat dapat digunakan sebagai antibakteri yang ideal jika memenuhi kriteria berikut :

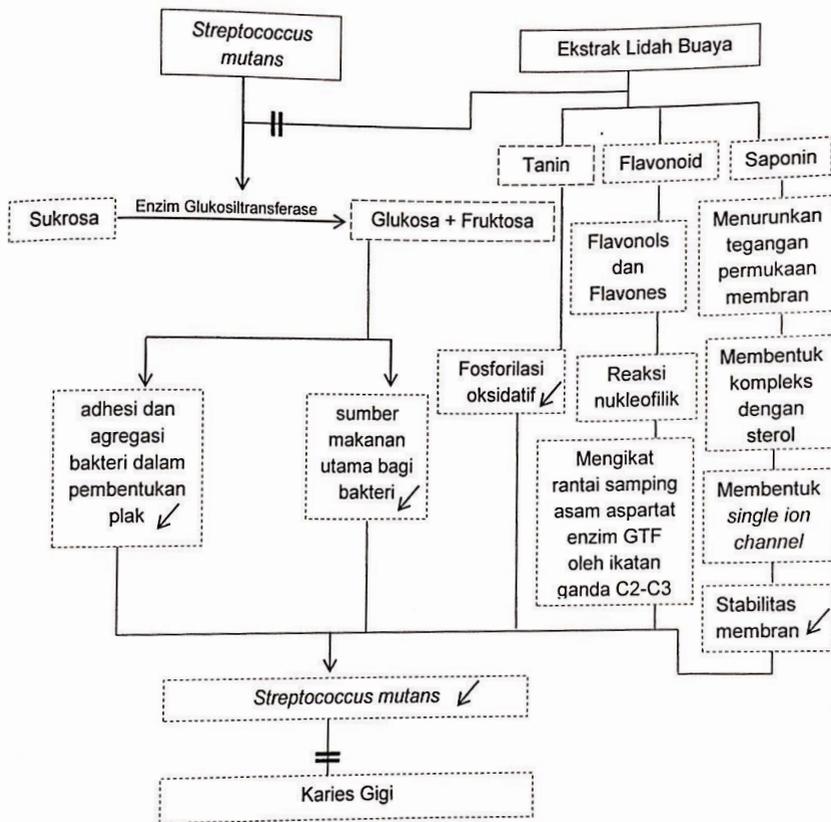
1. Kerjanya cepat dan tahan lama
2. Bersifat mikrobiosida yang luas
3. Toksisitas dan daya absorbsinya rendah
4. Tidak merangsang kulit dan mukosa
5. Daya kerjanya tidak dipengaruhi oleh eksudat.





## BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

### 3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Skema Kerangka Konsep

Keterangan :

⋯ = Tidak diteliti

□ = Diteliti

—||— = menghambat

Daun Lidah Buaya memiliki beberapa kandungan antibakteri yang dapat menghambat aktivitas enzim *glukosiltransferase* pada *Streptococcus mutans*. Pada penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa daun lidah buaya mengandung senyawa seperti flavonoid, saponin dan tanin. Kandungan tersebut memiliki kemampuan untuk menghambat enzim GTF *Streptococcus mutans*.

Mekanisme antibakteri dari flavonoid adalah menembus dinding sel bakteri, kemudian menghambat sintesis asam nukleat dan protein sel (Slobodnikova, 2016). Flavonoid dapat menghambat enzim GTF hingga 90,5 - 95% (Ren *et al.*, 2016). Flavonoid dapat menghambat sintesis DNA dan RNA dengan cara menghambat *intercalation* atau perlekatan hydrogen terhadap asam nukleat karena cincin B yang dimiliki flavonoid, sehingga menyebabkan sintesis asam nukleat dan protein sel terhambat (Sisa *et al.*, 2010). Enzim *Glukosiltransferase* tersusun atas protein sehingga dengan terhambatnya sintesis protein sel, maka sintesis enzim GTF akan terhambat. Jumlah enzim yang menurun akan menurunkan aktivitas enzim dalam mengkatalis substrat.

Flavonoid terbagi menjadi 3 kelompok yaitu flavones, flavonols dan flavanones. Sifat flavonoid yang dapat menghambat aktivitas enzim GTF terdapat pada komponen flavones dan flavonols. Flavones dan flavonols memiliki ikatan ganda antara

posisi C-2 dan C-3 pada rantai struktur kimianya yang membuatnya mampu menghambat aktivitas enzim GTF (Koo, *et al.*, 2002).

Tanin dapat menghambat aktivitas enzim GTF hingga 31,93% (Sendamangalam, 2010). Tanin mampu membentuk ikatan kompleks dengan protein sehingga mengaktivasi adhesi bakteri, enzim, koagulator protein bakteri, dan hambatan terhadap aktivitas enzim GTF yang menyebabkan koagulasi protoplasma (Juliantina, 2009). Tanin memiliki kemampuan untuk dapat menghambat enzim ekstraseluler bakteri, mengambil alih substrat yang dibutuhkan pada pertumbuhan bakteri, atau bekerja langsung pada metabolisme dengan cara menghambat *fosforilasi oksidasi* (Isnarianti, 2013).

Saponin mampu menurunkan tegangan permukaan dinding sel karena adanya 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 (Zahro dan Rudiana, 2013).

### 3.2 Hipotesis Penelitian

Hipotesa dari penelitian ini adalah Ekstrak daun lidah buaya efektif menghambat enzim *glukosiltransferase* *Streptococcus mutans*.

## BAB IV METODOLOGI PENELITIAN

### 4.1 Rancangan dan Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium. Desain penelitian ini adalah *True Experimental Posttest Control Group design*. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui daya hambat ekstrak etanol Daun Lidah Buaya terhadap aktivitas enzim *Glukosiltransferase* dari *Streptococcus mutans*.

### 4.2 Sampel Penelitian

#### 4.2.1 Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini adalah enzim GTF dari bakteri *Streptococcus mutans*. *Streptococcus mutans* diperoleh dari stok dilaboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.

Tabel 4.1 Kelompok Sampel dan Jenis Perlakuan

Kelompok Sampel	Jenis Perlakuan
Kontrol Negatif	Supernatan + aquades steril + sukrosa + buffer fosfat
Perlakuan 1	Supernatan + ekstrak etanol daun lidah buaya 12,5% + sukrosa + buffer fosfat
Perlakuan 2	Supernatan + ekstrak etanol daun lidah buaya 25% + sukrosa + buffer fosfat
Perlakuan 3	Supernatan + ekstrak etanol daun lidah buaya 50% + sukrosa + buffer fosfat
Perlakuan 4	Supernatan + ekstrak etanol daun lidah buaya 75% + sukrosa + buffer fosfat
Perlakuan 5	Supernatan + ekstrak etanol daun lidah buaya 100% + sukrosa + buffer fosfat



## 4.2.2 Estimasi Jumlah Pengulangan

Jumlah estimasi pengulangan dihitung menggunakan rumus

Federer 1963 adalah sebagai berikut (Supranto J. 2007) :

Dalam penelitian ini digunakan 4 macam perlakuan maka :

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

$$(6-1)(n-1) \geq 15$$

$$5(n-1) \geq 15$$

$$n-1 \geq 3$$

$$n \geq 3$$

jadi jumlah pengulangan yang harus dilakukan untuk mendapatkan jumlah sampel yang dipercaya adalah sebanyak 3 kali pengulangan.

## 4.3 Variabel Penelitian

### 4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak etanol daun lidah buaya dengan berbagai konsentrasi.

### 4.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah Aktivitas enzim glukosiltransferase (GTF) *Streptococcus mutans*.

### 4.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah :

1. Media pertumbuhan bakteri
2. Suhu dan lama waktu inkubasi
3. Peralatan yang digunakan selama penelitian

4. Jenis daun lidah buaya
5. Metode ekstraksi daun lidah buaya

#### 4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

##### 4.4.1 Lokasi Penelitian

1. Pembuatan ekstrak daun lidah buaya dilakukan di Laboratorium Fitokimia UPT Materia Medica Batu Malang.
2. Identifikasi bakteri *Streptococcus mutans* dan pembuatan ekstrak enzim *GTF Streptococcus mutans* dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
3. Pengujian aktivitas enzim GTF dan pembacaan hasil uji HPLC dilakukan di Unit Layanan Pengujian Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.

##### 4.4.2 Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilakukan pada Agustus-Desember 2018.

#### 4.5 Alat dan Bahan Penelitian

##### 4.5.1 Alat Penelitian

1. Shaker digital
2. Ose
3. Lampu spiritus
4. Tabung reaksi 15ml
5. Rak tabung reaksi
6. Tube appendorf 2ml
7. Gelas ukur

8. Petridish
9. Timbangan digital
10. Inkubator
11. Mikropipet
12. Centrifuge
13. Kertas saring filter milipore 0,45  $\mu\text{m}$
14. Water bath
15. Thermoshaker
16. HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*)
17. Evaporator vakum
18. Beaker glass

#### 4.5.2 Bahan Penelitian

1. Daun Lidah Buaya
2. Etanol 96%
3. Aquades steril
4. Bakteri *Streptococcus mutans*
5. Media *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB)
6. Sukrosa 0,25M
7. Buffer Fosfat 0,2M Ph 7
8. Larutan standar fruktosa dan sukrosa
9. Supernatan enzim *glukosiltransferase*

#### 4.6 Definisi Operasional

##### a. Daun Lidah Buaya

Daun Lidah Buaya adalah batang dan daun lidah buaya yang berwarna hijau keabu-abuan dengan panjang daun 40-

90 cm yang diperoleh dan diidentifikasi di Laboratorium Fitokimia UPT Materia Medica Batu Malang yang diperoleh melalui proses ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%.

b. *Enzim Glukosiltransferase*

*Enzim Glukosiltransferase* adalah enzim ekstraselular yang dihasilkan oleh *Streptococcus mutans*, yang berfungsi sebagai pengkatalis sintesis glukana dari sukrosa. Dalam penelitian ini pembuatan *enzim Glukosiltransferase* dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

c. *Aktivitas enzim Glukosiltransferase*

Aktivitas enzim GTF adalah aktivitas enzim yang diukur melalui kadar fruktosa yang merupakan hasil katalisis sukrosa menjadi fruktosa dan glukosa. Konsentrasi fruktosa diuji dengan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) kolom NH3.

## 4.7 Prosedur Penelitian

### 4.7.1 Pembuatan Ekstrak Daun Lidah Buaya

Ekstrak Daun Lidah Buaya ini dibuat dengan menggunakan pelarut etanol 96% dengan metode maserasi.

1. Daun Lidah Buaya dicuci terlebih dahulu sampai bersih dan dilakukan proses perajangan dengan menggunakan slicer yang akan menghasilkan potongan-potongan

- Lidah Buaya. Proses perajangan dilakukan untuk mempercepat proses pengeringan.
2. Setelah proses perajangan dan pengeringan selesai dilakukan ekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% dengan metode maserasi. Penggunaan etanol bertujuan agar senyawa kimia baik polar maupun kurang polar dapat terekstraksi semaksimal mungkin.
  3. Serbuk simplisia yang telah diblender dimasukkan kedalam ekstraktor kemudian ditambahkan pelarut etanol 96% dengan perbandingan serbuk dengan etanol 1:2.
  4. Selanjutnya diaduk dengan menggunakan shaker selama 2x24 jam.
  5. Setelah itu, disaring sehingga diperoleh filtrat kemudian diuapkan menggunakan evaporator vakum pada suhu 60°C selama 4 jam kemudian diuapkan kembali diatas water bath selama 2 jam sampai larutan etanol terpisah sehingga didapatkan ekstrak daun lidah buaya.
  6. Untuk mendapatkan ekstrak daun lidah buaya konsentrasi 12,5%,25%,50%,75% dan 100% dilakukan pengenceran dengan aquadest murni yang menggunakan rumus sebagai berikut :

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

Keterangan :

M1 = Konsentrasi awal

M2 = Konsentrasi akhir

V1 = Volume awal

V2 = Volum akhir

#### 4.7.2 Identifikasi Bakteri *Streptococcus mutans*

Untuk membuktikan bahwa koloni yang tumbuh adalah *Streptococcus mutans* maka dilakukan serangkaian tes, antara lain tes pewarnaan gram untuk menentukan bakteri tersebut termasuk kedalam kategori gram positif kokus dengan hasil positif ungu, tes katalase untuk membedakan *Streptococcus mutans* dengan *Staphylococcus aureus* yaitu dengan hasil negatif tidak terdapat gelembung udara, dan tes optochin untuk membedakan *Streptococcus mutans* dengan *Streptococcus pneumoniae* dengan hasil negatif (Chielwin,2011).

#### 4.7.3 Pewarnaan Gram

1. Gelas objek dibersihkan dengan kapas, kemudian dilewatkan diatas api untuk menghilangkan lemak dan dibiarkan dingin.
2. Satu ose (1 $\mu$ l) aquades steril ditetaskan pada gelas objek ditambah sedikit biakan bakteri yang diambil menggunakan ose, selanjutnya disuspensikan dengan aquades pada gelas objek dan diratakan. Untuk sediaan cair tidak perlu disuspensikan dengan aquades.
3. Sediaan dikeringkan di udara, kemudian dilakukan fiksasi dengan cara melewatkan sediaan diatas api.

4. Sediaan pada gelas objek ditetesi dengan kristal violet selama 1 menit. Sisa kristal violet dibuang dan dibilas dengan air.
5. Sediaan ditetesi dengan lugol selama 1 menit. Sisa lugol dibuang dan dibilas dengan air.
6. Sediaan ditetesi dengan alkohol 96% selama 5-10 detik atau sampai warna cat luntur. Sisa alkohol dibuang dan dibilas dengan air.
7. Sediaan ditetesi safranin selama ½ menit (30 detik). Sisa safranin dibuang dan dibilas dengan air.
8. Sediaan dikeringkan dengan kertas penghisap. Ditetesi minyak emersi
9. Sediaan dilihat di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000x.
10. Hasil positif, *Streptococcus mutans* tercat ungu (Gram positif). (Chielwin,2011).

#### 4.7.4 Tes Katalase

Tes katalase dilakukan dengan menyediakan pembenihan cair bakteri *Streptococcus mutans* pada gelas objek. Setelah itu tetesi dengan larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%. Perhatikan ada tidaknya gelembung udara yang terjadi. Hasil untuk *Streptococcus mutans* adalah tidak ada gelembung udara (tes katalase negatif) (Chielwin,2011).

#### 4.7.5 Tes Optochin

Tes optochin dilakukan dengan melakukan streaking bakteri sebanyak 1 ose pada *Blood Agar Plate* (BAP). Letakkan optochin disk pada tengah inokulum dengan penjepit steril. Kemudian posisi

disk diatur dengan menekan disk pelan – pelan pada permukaan agar, tetapi tidak membenamkan disk dalam agar. Setelah itu inkubasi selama 24 jam pada suhu 37° dalam inkubator. Setelah itu amati zona hambat disekeliling disk. Jika terdapat zona  $\leq 14$  mm yang mengelilingi disk dengan diameter 6mm atau zona  $\leq 16$  mm yang mengelilingi disk dengan diameter 10 mm, hasil tes adalah negatif dan diidentifikasi sebagai *Streptococcus mutans* (Chielwin,2011).

#### 4.7.6 Persiapan Bakteri *Streptococcus mutans*

Bakteri pada penelitian ini diambil dari stok *Streptococcus mutans* dan diinokulasikan ke dalam media BHIB cair. Sesudah kultivasi selama 24 jam, dibuat tabung sediaan yang berisi *Streptococcus mutans* dalam 10ml BHIB dan dilakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan digetarkan pada 150 rpm dengan menggunakan thermoshaker. (Fujiwara *et al.*,2000).

#### 4.7.7 Pembuatan enzim GTF *Streptococcus mutans*

Media kultur disentrifugasi dengan kecepatan 1500 rpm selama 10 menit sehingga diperoleh supernatan yang mengandung enzim GTF (Fujiwara *et al.*,2000).

#### 4.7.8 Pengujian aktivitas enzim GTF

Pengujian aktivitas enzim dilakukan di Unit Layanan Pengujian Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. 48 tabung reaksi disediakan pada penelitian ini, tiga tabung pertama untuk kelompok kontrol negatif, tiga tabung kedua untuk perlakuan dengan ekstrak daun lidah buaya konsentrasi 12,5%, tiga tabung ketiga untuk perlakuan dengan ekstrak daun lidah buaya 25%, tiga tabung keempat untuk perlakuan dengan ekstrak daun lidah buaya 50%, tiga

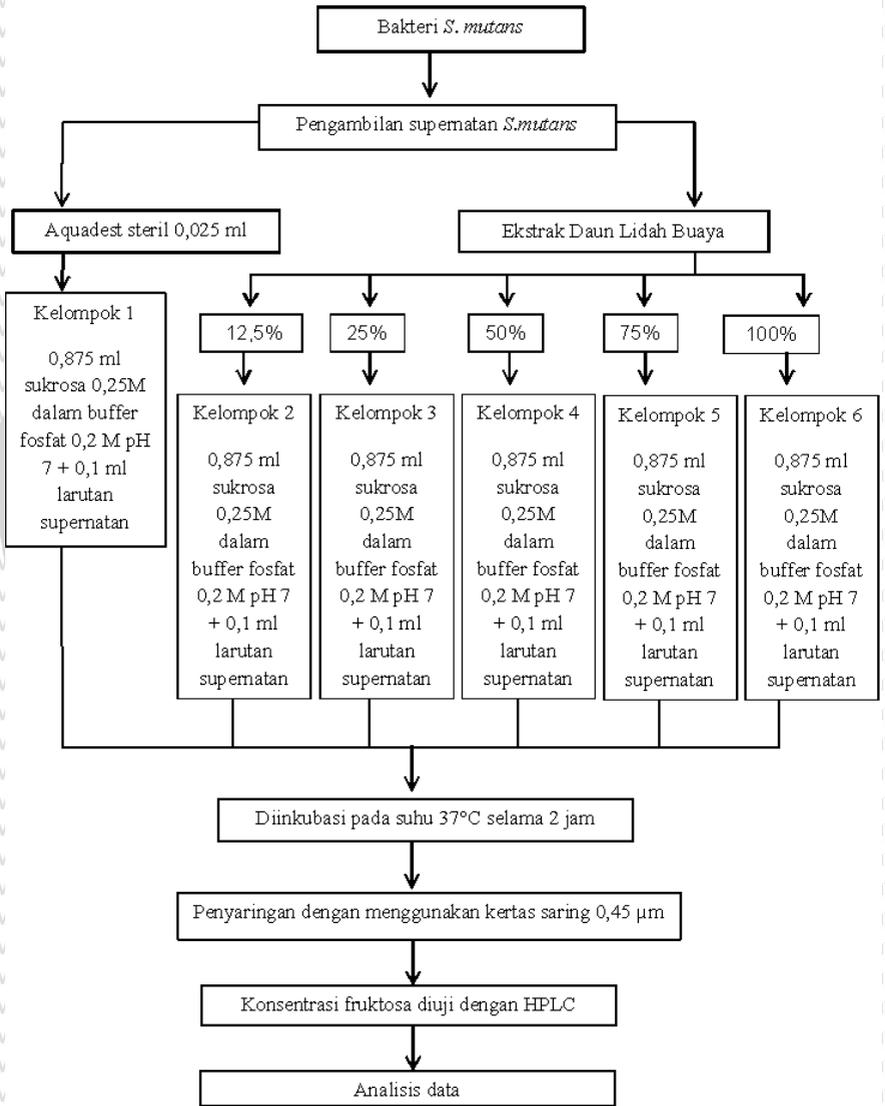
tabung kelima untuk perlakuan dengan ekstrak daun lidah buaya 75% dan tiga tabung terakhir untuk perlakuan dengan ekstrak daun lidah buaya 100%.

1. Kontrol negatif (kelompok 1) : 0,875 ml sukrosa 0,25 M dalam buffer fosfat 0,2 M pH 7, ditambahkan dengan 0,025 ml aquades steril, ditambahkan 0,1 ml larutan supernatan
2. Kelompok perlakuan I (kelompok 2) : 0,875 ml sukrosa 0,25 M dalam buffer fosfat 0,2 M pH 7, ditambahkan dengan 0,025 ml ekstrak daun lidah buaya konsentrasi 12,5%, ditambahkan 0,1 ml larutan supernatan
3. Kelompok perlakuan II (kelompok 3) : 0,875 ml sukrosa 0,25M dalam buffer fosfat 0,2 M pH 7, ditambahkan dengan 0,025 ml ekstrak daun lidah buaya konsentrasi 25%, ditambahkan 0,1 ml larutan supernatan.
4. Kelompok perlakuan III (kelompok 4) : 0,875 ml sukrosa 0,25 M dalam buffer fosfat 0,2 M pH 7, ditambahkan dengan 0,025 ml ekstrak daun lidah buaya konsentrasi 50%, ditambahkan 0,1 ml larutan supernatan.
5. Kelompok perlakuan III (kelompok 5) : 0,875 ml sukrosa 0,25 M dalam buffer fosfat 0,2 M pH 7, ditambahkan dengan 0,025 ml ekstrak daun lidah buaya konsentrasi 75%, ditambahkan 0,1 ml larutan supernatan.
6. Kelompok perlakuan III (kelompok 6) : 0,875 ml sukrosa 0,25 M dalam buffer fosfat 0,2 M pH 7, ditambahkan dengan 0,025 ml ekstrak daun lidah buaya konsentrasi 100%, ditambahkan 0,1 ml larutan supernatan. (Wicaksono,2015)

Semua bahan perlakuan dan kontrol tersebut diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 2 jam. Setelah diinkubasi dan disaring dengan kertas saring  $0,45\ \mu\text{m}$ , konsentrasi fruktosa diuji dengan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC), yaitu dengan cara menyuntikkan  $20\ \mu\text{l}$  larutan perlakuan atau larutan kontrol, kemudian dilihat waktu retensinya. Kadar fruktosa dihitung melalui pembacaan luas area fruktosa.



## 4.8 Alur Penelitian



### 4.1 Skema Kerangka Konsep



#### 4.9 Analisa Data

Data yang diperoleh berdasarkan jumlah perhitungan fruktosa dilakukan analisis statistika menggunakan program *Statistical Product of Service Solution* (SPSS). Uji normalitas untuk mengetahui data berdistribusi normal atau tidak dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* karena besar sampel  $\leq 50$ . Uji homogenitas ragam untuk mengetahui homogenitas variasi data masing-masing kelompok menggunakan *Levene's test*, uji One way Anova untuk mengetahui perbedaan antar kelompok. Setelah itu dilanjutkan uji Uji analisis Post-Hoc Tukey HSD (*Honestly Significant Difference*), untuk mengetahui perbedaan antar kelompok. kemudian dilanjutkan uji korelasi *Pearson* untuk menguji hipotesis hubungan antara 2 variabel dan melihat kuat atau lemahnya kuat atau lemahnya hubungan antara 2 variabel tersebut, maka dalam penelitian ini uji korelasi *Pearson* digunakan untuk mengetahui kekuatan hubungan antara konsentrasi ekstrak daun lidah buaya terhadap aktivitas enzim *glukosiltransferase Streptococcus mutans*.



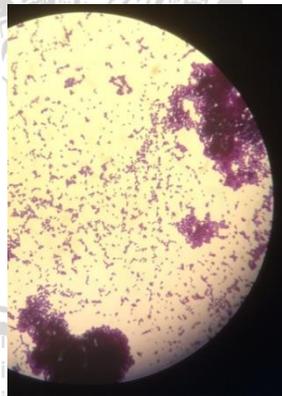
## BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN

### 5.1 Hasil Penelitian

#### 5.1.1 Identifikasi Bakteri *Streptococcus mutans*

Identifikasi Bakteri *Streptococcus mutans* dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi FKUB dengan pewarnaan gram, tes *katalase*, dan tes *optochin*. Hasil dari pewarnaan gram serta pengamatan dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x didapatkan bakteri berbentuk bulat (*coccus*) bergerombol dan berwarna ungu, hal ini menunjukkan bahwa bakteri *Streptococcus mutans* merupakan bakteri Gram positif seperti yang terlihat pada Gambar 5.1

Gambar 5.1 Gambar Mikroskopis Pewarnaan Gram *Streptococcus mutans*.



Keterangan : Tampak bentuk *coccus*, berwarna ungu, gram positif, berantai kemudian dilakukan tes *katalase* dan tes *optochin*. Tes *katalase* dilakukan dengan menyediakan pembedihan cair bakteri



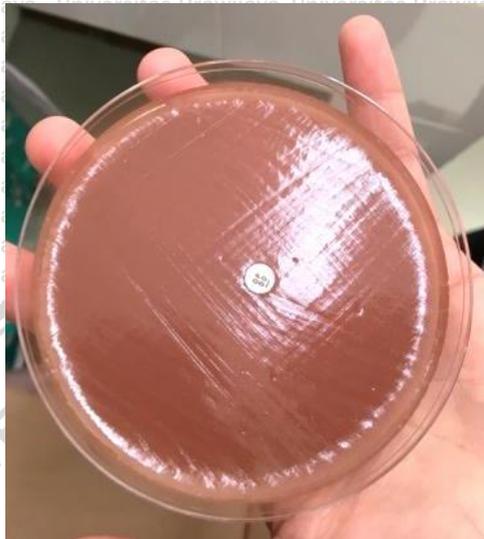
*Streptococcus mutans* pada gelas objek kemudian ditetesi dengan larutan  $H_2O_2$  3%. Hasil dari tes *katalase* yaitu tidak terdapat gelembung udara, maka tes *katalase* negatif seperti yang terlihat pada Gambar 5.2 Pada tes optochin, tidak terbentuk zona hambatan di sekeliling disk optochin, hal ini menunjukkan bahwa bakteri *streptococcus mutans* resisten terhadap optochin, maka tes optochin negatif seperti yang terlihat pada Gambar 5.3 Berdasarkan hasil tes identifikasi yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa bakteri yang digunakan dalam penelitian ini merupakan *Streptococcus mutans*.

Gambar 5.2 Hasil Tes *Katalase Streptococcus mutans*.



Keterangan : tidak terbentuk gelembung udara (negatif)

Gambar 5.3 Hasil tes optochin *Streptococcus mutans*.



Keterangan : tidak terbentuk zona hambat (negatif), ditandai dengan tidak terbentuknya zona bening disekitar disk optochin.

### 5.1.2 Hasil pembacaan dan perhitungan kadar fruktosa

Berdasarkan hasil pembacaan dan penghitungan kadar fruktosa dengan alat *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) yang terbagi atas kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak daun lidah buaya dengan konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, 75%, dan 100%. Hasil penghitungan kadar fruktosa pada masing-masing kelompok penelitian adalah sebagai berikut (Tabel 5.1).

Tabel 5.1 Rata-rata dan standar deviasi kadar fruktosa pada setiap kelompok penelitian.

Kelompok Penelitian	N	Rata-rata (ng/ul)	Standar Deviasi
Aquades steril	3	519,2219	28,81
Aloe vera 12,5%	3	348,6183	70,30
Aloe vera 25%	3	195,6373	45,0
Aloe vera 50%	3	0	0
Aloe vera 75%	3	0	0
Aloe vera 100%	3	0	0

Pada tabel 5.1 menunjukkan bahwa kadar fruktosa kelompok perlakuan konsentrasi 12,5% dan 25% lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol. Kelompok perlakuan dengan konsentrasi ekstrak lidah buaya 50%,75% dan 100% tidak terdeteksi kadar fruktosanya.

## 5.2 Analisa Data

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik untuk mengetahui efektifitas hambatan ekstrak daun lidah buaya (*Aloe vera L*) terhadap aktivitas *Enzim Glukosiltransferase Streptococcus mutans*. Sebelum dilakukan uji statistik untuk mengetahui perbedaan antar kelompok penelitian, terlebih dahulu dilakukan uji normalitas dan homogenitas.

### 5.2.1 Uji Normalitas

Hasil uji normalitas yang didapatkan sebagai berikut. Uji normalitas menggunakan Shapiro-wilk untuk mengetahui apakah data yang diperoleh berdistribusi normal. Uji Shapiro-wilk digunakan karena jumlah sampel yang digunakan <50. Hasil uji pada seluruh kelompok penelitian

memiliki nilai  $p > 0,05$ , hal ini menunjukkan bahwa data yang diperoleh berdistribusi normal. Hasil uji normalitas yang didapatkan sebagai berikut.

Tabel 5.2 Uji Normalitas

Kelompok Penelitian	N	Rata-rata (ng/ul)	Uji <i>Shapiro-wilk</i>	
			Angka	Signifikansi
Aquades steril	3	519,2219	0,210	
Aloe vera 12,5%	3	348,6183		
Aloe vera 25%	3	195,6373		
Aloe vera 50%	3	0		
Aloe vera 75%	3	0		
Aloe vera 100%	3	0		

Berdasarkan tabel, nilai signifikansi menggunakan uji Shapiro- Wilk yaitu 0,210 sehingga data dinyatakan berdistribusi normal.

### 5.2.2 Uji Homogenitas

Uji homogenitas menggunakan Levene's test untuk mengetahui apakah data yang diperoleh bersifat homogen.

Uji homogenitas terpenuhi apabila nilai signifikansi hasil penghitungan  $p > 0,05$ .

Tabel 5.3 Uji Homogenitas Ragam

Kelompok Penelitian	N	Rata-rata (ng/ul)	Uji <i>Levene Test</i>	
			Angka	Signifikansi
Aquades steril	3	519,2219		
Aloe vera 12,5%	3	348,6183		
Aloe vera 25%	3	195,6373		



Aloe vera 50%	3	0	0,083
Aloe vera 75%	3	0	
Aloe vera 100%	3	0	

Berdasarkan tabel, nilai signifikansi menggunakan Levene's test yaitu 0,083 sehingga uji homogenitas terpenuhi dan data tersebut homogen.

### 5.2.3 Uji One Way Anova

Uji signifikansi menggunakan ANOVA untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang signifikan pada seluruh kelompok perlakuan. Uji Anova terpenuhi apabila nilai signifikansi  $< 0,05$ , hasilnya  $\text{sig} = 0,000 < 0,05$ .

Tabel 5.4 Uji Anova

Kelompok Penelitian	N	Rata-rata (ng/ul)	Uji Anova
			Angka Signifikansi
Aquadess steril	3	519,2219	0,000
Aloe vera 12,5%	3	348,6183	
Aloe vera 25%	3	195,6373	
Aloe vera 50%	3	0	
Aloe vera 75%	3	0	
Aloe vera 100%	3	0	

Berdasarkan tabel, nilai signifikansi menggunakan Anova yaitu 0,000 sehingga uji anova terpenuhi ada perbedaan daya hambat akibat pemberian perlakuan.



**5.2.4 Uji analisis Post-Hoc Tukey HSD (Honestly Significant Difference)**

Uji analisis Post-Hoc Tukey HSD (Honestly Significant Difference), untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan.

Tabel 5.5 Uji Post-Hoc Tukey

Konsentrasi	Aquades steril	12,5%	25%	50%	75%	100%
Aquades steril	-	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000
12,5%	0.001	-	0.002	0.000	0.000	0.000
25%	0.000	0.002	-	0.000	0.000	0.000
50%	0.000	0.000	0.000	-	1.000	1.000
75%	0.000	0.000	0.000	1.000	-	1.000
100%	0.000	0.000	0.000	1.000	1.000	-

Berdasarkan tabel 5.5 tersebut, disimpulkan bahwa terdapat perbedaan signifikan pada perbandingan aquades steril dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%. Hal ini dapat disimpulkan bahwa konsentrasi efektif ekstrak daun lidah buaya terhadap penurunan kadar fruktosa adalah 12,5% dan 50%.



### 5.2.5 Uji Korelasi Pearson dan Uji Regresi

Uji Korelasi Pearson digunakan untuk mengetahui ada atau tidaknya korelasi antara pemberian ekstrak daun Lidah buaya (*Aloe vera L*) terhadap penurunan kadar fruktosa. Uji regresi digunakan untuk mengetahui seberapa besar pengaruh variabel bebas terhadap variabel terikat. Hasil perhitungan analisa data didapatkan sebagai berikut :

Tabel 5.6 Uji Korelasi Pearson pada Kelompok Perlakuan

Kelompok Penelitian	N	Rata-rata (ng/ul)	Uji Korelasi <i>Pearson</i>	
			Angka Signifikansi	Hubungan Korelasi
Aquades steril	3	519,2219	0,000	0,872
Aloe vera 12,5%	3	348,6183		
Aloe vera 25%	3	195,6373		
Aloe vera 50%	3	0		
Aloe vera 75%	3	0		
Aloe vera 100%	3	0		

Berdasarkan tabel tersebut menunjukkan bahwa terdapat hubungan (korelasi) antara pemberian ekstrak daun lidah buaya terhadap penurunan kadar fruktosa dengan nilai signifikansi 0.000 ( $p < 0,05$ ). Adapun kekuatan korelasi yaitu  $r = 0,872$  merupakan kategori sangat tinggi, dengan arah negatif. Sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak lidah buaya (*Aloe vera L*) jika konsentrasi bertambah maka akan diikuti menurunnya kadar fruktosa.



Interpretasi koefisien korelasi menurut Ridwan (2003) adalah sebagai berikut.

Tabel 5.7 Interpretasi Koefisien Korelasi

Interval koefisien	Tingkat Hubungan
0.800 – 1.000	Sangat tinggi
0.600 – 0.800	Kuat
0.400 – 0.600	Cukup
0.200 – 0.400	Rendah
0.000 – 0.100	Sangat Rendah

Dilakukan uji regresi untuk mengetahui seberapa besar pengaruh pemberian ekstrak daun lidah buaya terhadap penurunan kadar fruktosa. Uji regresi didapatkan pada tabel 5.8 sebagai berikut.

Tabel 5.8 Uji Regresi pada Kelompok Perlakuan

Kelompok Penelitian	N	Rata-rata (ng/ul)	Uji Regresi
			<i>R Square</i>
Aquades steril	3	519,2219	0,761
Aloe vera 12,5%	3	348,6183	
Aloe vera 25%	3	195,6373	
Aloe vera 50%	3	0	
Aloe vera 75%	3	0	
Aloe vera 100%	3	0	

Pada tabel 5.8 menunjukkan koefisien determinasi *R square* yaitu 0,761 sehingga dinyatakan bahwa pemberian pemberian ekstrak ekstrak lidah buaya (*Aloe vera L*) berpengaruh sebesar 76,1% terhadap penurunan kadar fruktosa



### 5.3 Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui daya hambat ekstrak Lidah Buaya (*Aloe Vera L.*) terhadap aktivitas enzim *Glukosiltransferase Streptococcus mutans*. Enzim

*Glukosiltransferase* didapatkan dari supernatan hasil sentrifugasi bakteri *Streptococcus mutans* dalam media cair yaitu *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB). Isolat bakteri *Streptococcus mutans* Research Center Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya. Sebelum digunakan untuk penelitian, bakteri *Streptococcus mutans* diidentifikasi terlebih dahulu untuk memastikan bahwa bakteri tersebut adalah benar *Streptococcus mutans*. Tes yang dilakukan untuk identifikasi adalah tes pewarnaan Gram, tes *katalase* dan tes *optochin*.

Pada pengecatan Gram, Hasilnya menunjukkan bahwa *Streptococcus mutans* berbentuk coccus dan berwarna ungu. Warna ungu tersebut menunjukkan bahwa *Streptococcus mutans* adalah bakteri gram positif karena kemampuannya untuk mempertahankan warna kristal violet yang ditetaskan pada pewarnaan gram. Hal ini dikarenakan dinding sel kelompok bakteri ini tersusun oleh sebagian besar peptidoglikan, yang mampu mengikat zat warna dan tidak rusak saat dicuci dengan alkohol (Lestari,2012).

Pada tes *katalase* hasil yang didapat adalah negatif, yaitu *Streptococcus mutans* tidak menimbulkan gelembung udara. *Streptococcus* tidak memiliki enzim *katalase* sehingga tidak dapat mengubah  $H_2O_2$  menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$  (Prepinida,2011). Hasil tes *katalase* dikatakan positif apabila terdapat gelembung udara.



Tes optochin fungsinya untuk membedakan *Streptococcus mutans* dengan *Streptococcus pneumoniae*. Tes optochin dilakukan pada media agar darah menggunakan prinsip disk diffusion. Media agar darah yang telah diberi disk optochin diinkubasi dan diamati setelah 24 jam. Berdasarkan hasil tes optochin yang didapat adalah negatif dengan tidak terbentuk zona bening disekitar disk optochin.

Spesies bakteri yang paling berpengaruh pada proses karies awal yaitu *Streptococcus mutans* (Karpinski *et al.*, 2013). *Streptococcus mutans* menghasilkan enzim glukosiltransferase yang memiliki peran dalam penyediaan tempat untuk perlekatan bakteri, sehingga memodulasi formasi biofilm yang lebih padat dan menjadi prekursor dari proses terjadinya karies gigi. Polimer glukon ikatan  $\alpha$ -(1-3) dan  $\alpha$ -(1-6) dikode oleh gen gtfB, gtfC, dan gtfD. Menurut penelitian yang dilakukan (Koo *et al.*, 2010) menunjukkan bahwa enzim gtfB dan gtfC memiliki peran penting dalam proses perlekatan bakteri pada permukaan karies gigi melalui sintesis sukrosa (Koo *et al.*, 2010).

Virulensi bakteri *Streptococcus mutans* dalam proses pembentukan karies berasal dari biofilm yang dibentuknya. Biofilm yang dibentuk berasal dari sisa sisa makanan berupa sukrosa yang digunakan sebagai sumber metabolisme yang kemudian diubah menjadi glukosa dan fruktosa melalui reaksi enzimatik oleh enzim Glukosiltransferase. Hasil berupa glukosa yang dihasilkan akan diubah menjadi glukon yang berperan sebagai sumber perlekatan biofilm. Sedangkan fruktosa akan diubah menjadi fruktan. Fruktan

sendiri berperan sebagai cadangan makanan bakteri. Fruktosa diubah menjadi fruktan melalui reaksi enzimatik oleh enzim *Fruktosiltransferase* (FTF) (Rozen *et al.*, 2001).

*Enzim glukosiltransferase* merupakan katalisator dari proses pemecahan sukrosa menjadi fruktosa dan glukosa. Pada reaksi katalitik ini fruktosa dihasilkan dalam bentuk bebas sehingga dapat dibaca menggunakan HPLC, sedangkan glukosa akan diikat kembali oleh enzim *Glukosiltransferase* menjadi glukan yang tidak dapat dibaca menggunakan HPLC (Isnarianti *et al.*, 2013).

Aktivitas enzim *Glukosiltransferase* diukur dengan menghitung kadar fruktosa dengan menggunakan alat *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Semakin rendah kadar fruktosa yang terbaca pada HPLC, menunjukkan bahwa enzim GTF yang dihambat lebih besar. Menurut Hames dan Hooper (2005) Aktivitas enzim dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor. Faktor – faktor tersebut menentukan aktivitas kerja satu enzim. Apabila faktor pendukung tersebut berada pada kondisi yang optimum, maka kerja enzim akan maksimal. Beberapa faktor yang mempengaruhi diantaranya adalah pH (keasaman) yang berpengaruh terhadap kecepatan aktivitas enzim dalam mengkatalisis suatu reaksi, suhu, aktivator dan inhibitor, serta konsentrasi enzim dan substrat.

Berdasarkan hasil penelitian ini menunjukkan adanya perbedaan aktivitas enzim *Glukosiltransferase* dari masing-masing kelompok. Pada kelompok kontrol negatif menunjukkan kadar fruktosa yang paling tinggi. Hal ini disebabkan aquades steril tidak

dapat menghambat aktivitas enzim *Glukosiltransferase*. Aquades steril tidak memiliki sifat antibakteri.

Sedangkan pada kelompok perlakuan yakni ekstrak lidah buaya (*Aloe vera L.*) dengan konsentrasi 12,5% dan 25% dapat menghambat aktivitas enzim *Glukosiltransferase* dikarenakan pada konsentrasi tersebut terjadi penurunan kadar fruktosa yang signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol yakni aquades steril. Sedangkan pada konsentrasi 50%, 75% dan 100% tidak terdeteksi kadar fruktosanya.

Lidah buaya (*Aloe Vera L.*) yang meliputi batang, daun, bunga dan akar mengandung senyawa kimia diantaranya flavonoid, saponin dan tanin (Furnawanthi, 2005). Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dengan pelarut etanol 96%. Metode maserasi dipilih karena pengerjaannya lebih mudah dan peralatan yang digunakan sederhana. Etanol ini dipilih karena merupakan pelarut pengekstraksi senyawa dengan berat molekul rendah seperti saponin, tanin dan flavonoid (Ariviati, 2014).

Ekstrak Lidah buaya (*Aloe vera L.*) memiliki daya hambat terhadap aktivitas enzim *Glukosiltransferase Streptococcus mutans* diduga karena kandungan bahan aktif yang bertindak sebagai inhibitor reaksi enzimatik. Tanin dapat menghambat aktivitas enzim *Glukosiltransferase* (GTF) hingga 31,93% (Sendamangalam, 2010).

Berdasarkan penelitian ini hasil ekstrak lidah buaya mengandung bahan aktif yakni tanin (Lampiran 4). Senyawa ini memiliki kemampuan untuk menghambat enzim ekstraseluler

bakteri, mengambil alih substrat yang dibutuhkan pada pertumbuhan bakteri, atau bekerja secara langsung pada metabolisme dengan cara menghambat *fosforilasi oksidasi* (Isnarianti *et al.*, 2013).

Keterbatasan penelitian ini adalah keadaan penelitian *in vitro* sehingga tidak sesuai dengan pemakaian pada kehidupan sehari – hari seperti waktu aplikasi ekstrak serta volume ekstrak yang diperlukan untuk mencapai daya antibakteri yang efektif, pada penelitian ini tidak mengukur jumlah koloni bakteri sehingga tidak diketahui konsentrasi hambat minimum dan kadar bunuh minimal. Penelitian yang dilakukan Russell tahun 1979 mengatakan bahwa kadar enzim dalam supernatan bakteri dapat diukur dengan metode elektroforesis. Sedangkan dalam penelitian, tidak dilakukan pengukuran kandungan dalam supernatan sehingga menyebabkan hasil yang tidak konsisten. Hal ini dapat disebabkan karena fruktosa sebagai hasil pemecahan sukrosa oleh enzim GTF telah sebagian diubah menjadi fruktan oleh enzim FTF bakteri *Streptococcus mutans*.

## BAB VI PENUTUP

### 6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat diambil kesimpulan bahwa:

1. Terdapat pengaruh antara konsentrasi ekstrak daun lidah buaya terhadap aktivitas *enzim glukosiltransferase Streptococcus mutans*.
2. Terdapat perbedaan jumlah kadar fruktosa pada kelompok yang tidak diberi ekstrak daun lidah buaya (*Aloe vera L*) dan kelompok yang diberi ekstrak daun lidah buaya (*Aloe vera L*).
3. Terdapat hubungan antara konsentrasi ekstrak daun lidah buaya terhadap penurunan kadar fruktosa.

### 6.2 Saran

1. Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai efek antibakteri lidah buaya (*Aloe vera L*) secara *in vivo* pada berbagai hewan coba maupun *clinical trial* untuk melihat farmakodinamik, farmakokinetik dan toksisitas ekstrak lidah buaya (*Aloe vera L*).
2. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui batas dosis dan lama pemberian ekstrak yang dapat bersifat toksik agar pemanfaatan ekstrak ini dapat diaplikasikan



pada manusia khususnya sebagai bahan pasta gigi, bahan pasta saluran akar, dan bahan sterilisasi saluran akar.

