

Inhibitor of green okra fruit (*Abelmoschus esculentus*) extract against *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 root canals of teeth

Daya hambat ekstrak buah okra hijau (*Abelmoschus esculentus*) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 saluran akar gigi

¹Oktavia Nur Vitasari, ²Raditya Nugroho, ³Sri Lestari

¹Mahasiswa Kedokteran Gigi

²Bagian Konservasi Gigi

Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember
Jember, Indonesia

Corresponding author: **Oktavia Nur Vitasari**, e-mail: **oktaviavitasari@gmail.com**

ABSTRACT

Staphylococcus aureus is bacteria identified in the root canal of infected teeth by 20%, resistant and isolated from secondary root canal treatment. NaOCl 2.5% has toxic properties and causes irritation when pushed into periapical tissue. Green okra fruit (GOF) extract has antibacterial secondary metabolite compound i.e. flavonoids, alkaloids, saponins, tannins and terpenoids. This research was carried out to determine inhibition of GOF extract against *S. aureus*. Inhibition test used disc diffusion method which consisted of 5 research groups, i.e. GOF with concentration of 1.563%, 3.125%, 6.25%, and 12.5%, and 2.5% NaOCl; the average diameter of the inhibition zone of the concentration of GOF extract were 0 mm, 0 mm, 14.51 mm, 17.95 mm, and 24.56 mm, respectively. It was concluded that GOF extract has inhibition against of *S. aureus* starting from concentration of 6.25%. Green okra fruit extract has inhibition close to NaOCl 2.5% against *S. aureus* at concentration of 12.5%.

Keywords: green okra fruit, *Staphylococcus aureus*, NaOCl, inhibition

ABSTRAK

Staphylococcus aureus adalah bakteri yang diidentifikasi di saluran akar gigi terinfeksi sebesar 20%, resisten dan diisolasi dari perawatan saluran akar sekunder. NaOCl 2,5% menyebabkan iritasi ketika terdorong ke jaringan periapikal. Ekstrak buah okra hijau (BOH) memiliki metabolit sekunder bersifat antibakteri seperti flavonoid, alkaloid, saponin, tanin dan terpenoid. Penelitian dilakukan untuk mengetahui daya hambat ekstrak BOH terhadap *S. aureus*. Uji daya hambat menggunakan metode difusi cakram terdiri 5 kelompok penelitian, yaitu ekstrak BOH konsentrasi 1,563%, 3,125%, 6,25%, 12,5% dan NaOCl 2,5%; diameter rata-rata zona hambat konsentrasi ekstrak BOH berturut-turut adalah 0 mm, 0 mm, 14,51 mm, 17,95 mm dan 24,56 mm. Disimpulkan bahwa ekstrak BOH memiliki daya hambat terhadap *S. aureus* dimulai dari konsentrasi 6,25%. Ekstrak buah okra hijau yang memiliki daya hambat mendekati NaOCl 2,5% terhadap *S. aureus* adalah konsentrasi 12,5%.

Kata kunci: buah okra hijau, *Staphylococcus aureus*, NaOCl, daya hambat

Received: 10 September 2022

Accepted: 22 October 2022

Published: 1 December 2022

PENDAHULUAN

Masalah terbesar kesehatan gigi dan mulut di Indonesia tahun 2018 adalah karies (45,3%). Karies yang tidak dirawat akan menyebabkan infeksi yang lebih dalam hingga menyebabkan nekrosis pulpa.¹ *Staphylococcus aureus* adalah salah satu bakteri yang teridentifikasi di saluran akar gigi terinfeksi sebesar 20%.² *S. aureus* merupakan salah satu bakteri anaerob fakultatif gram positif yang bersifat resisten dan sering diisolasi dari perawatan saluran akar sekunder. Bakteri *S. aureus* merupakan bakteri penyebab utama (75%) osteomielitis apabila masuk ke dalam pembuluh darah yang disebabkan oleh infeksi gigi sisa akar. Kurang lebih 70-85% kasus *ludwig's angina* disebabkan oleh *S. aureus* yang berasal dari infeksi molar dua dan tiga rahang bawah.³

Infeksi saluran akar gigi membutuhkan suatu perawatan khusus yakni perawatan saluran akar (PSA) yang terdiri atas tiga tahap yakni preparasi, sterilisasi dan obturasi. Preparasi dan sterilisasi membutuhkan bahan irigasi saluran akar; NaOCl atau sodium hipoklorit 2,5% merupakan larutan irigasi yang paling sering

digunakan dalam prosedur PSA karena bersifat antibakteri, mampu melarutkan jaringan pulpa vital dan nekrotik. Namun, NaOCl memiliki kekurangan yakni menyebabkan iritasi bila terdorong ke jaringan periapikal, toksisitas tinggi dan memiliki aroma tidak enak.^{5,6}

Tanaman-alam alternatif sebagai bahan irigasi saluran akar alami yang diharapkan dapat memperbaiki kekurangan NaOCl adalah buah okra hijau (*Abelmoschus esculentus*). Buah okra hijau (BOH) merupakan salah satu tanaman yang diproduksi tinggi di Kabupaten Jember dan produksinya telah menembus pasar ekspor ke Jepang, Amerika Serikat hingga Thailand. Sebagian besar masyarakat mengonsumsi BOH muda sebagai penyedap rasa dan sayuran untuk dimakan. Pemanfaatan BOH di bidang kedokteran gigi masih jarang diketahui.⁶

Produk BOH merupakan salah satu buah yang memiliki banyak manfaat, salah satunya sebagai antibakteri. Berdasarkan uji fitokimia, ekstrak BOH memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, saponin, tanin dan terpenoid.⁷ Senyawa tersebut masing-masing memiliki mekanisme kerja yang

berbeda sebagai antibakteri, sehingga diharapkan dapat menghambat pertumbuhan *S.aureus*.

Berdasarkan kekurangan bahan irigasi sintesis tersebut, NaOCl 2,5%, dan kandungan BOH sebagai antibakteri, perlu diketahui daya hambat ekstrak BOH dalam menghambat pertumbuhan *S.aureus* dibandingkan dengan NaOCl 2,5%.

METODE

Penelitian laboratorium eksperimen didesain dengan rancangan penelitian *posttest only control group* menurut kode etik penelitian No. 1498/UN25.8/KEPK/DL/2021 oleh Komite Etik Penelitian Medis, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember.

S.aureus ATCC 6538 dikultur dalam *brain heart infusion broth* (BHI-B). Media BHI-B yang mengandung *S.aureus* diinkubasi selama 24 jam suhu 37°C, distandardisasi sesuai McFarland 0,5 (1,5x10⁸ CFU/mL) kemudian bakteri siap untuk diuji.

Pembuatan ekstrak buah okra hijau

Sediaan BOH segar dari kebun okra PT. Mitra Tani Dua Tujuh, Jember; BOH beserta bijinya dipotong menjadi kecil kemudian dikeringkan tanpa terkena sinar matahari langsung dan dilanjutkan dengan pengovenan. BOH dihaluskan menjadi serbuk halus, lalu simplisia sebanyak 374 g ditempatkan pada toples maserasi, ditambahkan 1.800 mL larutan etanol 70% dan dimaserasi selama 3x24 jam pada suhu kamar. Setelah itu, larutan tersebut disaring menggunakan kertas saring, hasilnya diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak BOH 100% yang diencerkan dengan penipisan seri dengan menambahkan akua-des hingga diperoleh variasi konsentrasi 12,5%, 6,25%, 3,125%, dan 1,56%.⁸⁻¹⁰

Uji antibakteri menggunakan metode difusi cakram

S.aureus ATCC 6538 yang telah dikultur dalam media BHI-B dan diambil menggunakan *cotton swab* steril lalu diinokulasi pada media BHI-A dengan metode *streaking plate*. Kertas cakram direndam pada masing-masing ekstrak BOH 1,56%, 3,125%, 6,25%, 12,5%, dan NaOCl 2,5% selama 30 detik; berturut-turut pada daerah yang berlabel E1, E2, E3, E4 dan Kp. Untuk setiap perlakuan dilakukan 5 kali pengulangan. 5 petridish dimasukkan ke dalam desicator dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 2x24 jam. Setelah itu, dilakukan pengukuran zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram menggunakan jangka sorong.¹¹

Analisis data

Data dianalisis menggunakan program *Statistic*

and Public Service Solutions (SPSS). Data terdistribusi normal menurut uji normalitas *shapiro wilk* tetapi tidak homogen menurut *levene test* sehingga dilakukan uji statistik non parametrik menggunakan uji *kruskal wallis* dilanjutkan dengan uji *mann-whitney*.

HASIL

Rata-rata diameter zona hambat ekstrak BOH dan NaOCl 2,5% terhadap *S.aureus* ATCC 6538 terlihat pada tabel 1. Ekstrak BOH 1,56% dan 3,125% tidak memiliki zona hambat (0 mm); meningkat pada konsentrasi 6,25% (14,51 mm), 12,5% (17,95 mm) dan yang terbesar NaOCl 2,5% (24,56 mm).

Uji normalitas *shapiro wilk* menunjukkan nilai signifikansi $\alpha > 0,05$ artinya data berdistribusi normal. Uji homogenitas *levene test* menunjukkan nilai signifikansi $\alpha < 0,05$ artinya data bersifat tidak homogen. Uji *kruskal wallis* menunjukkan nilai signifikansi 0,000 ($\alpha < 0,05$) artinya terdapat perbedaan daya hambat pada seluruh kelompok. Uji statistik *mann-whitney* menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok ($\alpha < 0,05$), kecuali kelompok perlakuan ekstrak BOH 1,56% dengan 3,125%.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan ekstrak BOH memiliki daya hambat terhadap *S.aureus*. Ekstrak BOH 1,56% dan 3,125% tidak menunjukkan kemampuan menghambat pertumbuhan *S.aureus*. Hal tersebut mungkin karena kandungan senyawa aktifnya terlalu sedikit sehingga tidak dapat menghambat pertumbuhan *S.aureus*.

Penelitian ini juga tidak menunjukkan bahwa ekstrak BOH 3,125% adalah konsentrasi yang efektif mendekati kelompok pembanding NaOCl 2,5% terhadap *S.aureus*. Hal tersebut mungkin karena bakteri yang dapat dihambat oleh ekstrak BOH 3,125% berasal dari golongan gram negatif yakni *Porphyromonas gingivalis* dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* sedangkan bakteri yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari golongan gram positif yakni *S.Aureus*.^{10,12}

Hasil ini selaras dengan Pujiastuti dan Lestari¹³ yang menyatakan bahwa bakteri gram positif memiliki daya hambat lebih kecil daripada gram negatif karena dinding sel bakteri gram positif memiliki lapisan peptidoglikan lebih tebal (30-50 nm) daripada bakteri gram negatif (3-5 nm). Bakteri gram negatif lebih rentan terhadap senyawa antibakteri karena lapisan peptidoglikan yang tipis serta tidak memiliki asam teikoat.¹⁶

Ekstrak BOH 6,25% dan 12,5% memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *S.aureus* karena adanya kandungan senyawa metabolit sekunder yang ber-

Tabel 1 Rata-rata diameter zona hambat ekstrak BOH dan NaOCl 2,5% terhadap *S.aureus* ATCC 6538

	Ekstrak 1,56%	Ekstrak 3,125%	Ekstrak 6,25%	Ekstrak 12,5%	NaOCl 2,5%
Rata-rata	0	0	14,51 mm	17,95 mm	24,56 mm

sifat antibakteri, antara lain flavonoid, saponin, alkaloid, tanin dan terpenoid. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka, semakin tinggi kandungan senyawa bahan aktif antibakterinya.¹⁵

Flavonoid memiliki struktur residu polar dan non-polar yang dapat menyerang gugus hidrofilik (fosfat) dan hidrofobik (lipid) pada permukaan membran sel,¹⁶ yang mengakibatkan fosfolipid terurai dan tidak mampu mempertahankan bentuk membran sel. Aktivitas antibakteri senyawa saponin menyebabkan penurunan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan meningkatkan permeabilitas sehingga membran sel rusak.¹⁷ Tanin dan alkaloid merupakan senyawa antimikroba yang mengganggu terbentuknya jembatan silang komponen penyusun peptidoglikan pada dinding sel bakteri, mengakibatkan lapisan dinding sel tidak terbentuk utuh.¹⁸ Terpenoid berinteraksi dengan protein transmembran pada membran sel bakteri yang mengakibatkan ikatan polimer yang sangat kuat sehingga struktur porin rusak; mengakibatkan berkurangnya kestabilan membran sel sehingga bakteri akan kekurangan nutrisi, pertumbuhan terhambat dan terjadi kematian sel.¹⁹

Kelompok NaOCl 2,5% memiliki diameter zona hambat lebih besar daripada keempat kelompok ekstrak BOH karena terdapat senyawa sodium hidroksi (NaOH) dan asam hipoklorus (HOCl) yang dapat merusak jaringan organik. Reaksi NaOCl dengan air (H₂O) adalah $\text{NaOCl} + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{NaOH} + \text{HOCl} \leftrightarrow \text{Na}^+ + \text{OH}^- + \text{H}^+ + \text{OCl}^-$. Larutan NaOCl bereaksi dengan jaringan organik melalui tiga cara, yaitu saponifikasi, kloraminasi dan netralisasi. Senyawa NaOH akan bereaksi dengan asam lemak (fosfolipid) pada membran sel bakteri. Reaksi tersebut dinamakan reaksi saponifikasi. Senyawa HOCl akan bereaksi dengan asam amino pada lapisan pepti-

doglikan. Reaksi ini akan merusak struktur asam amino peptidoglikan sel sehingga dinding sel bakteri akan hancur dan terjadi kebocoran sel. Penggunaan NaOCl bersifat iritatif karena adanya reaksi antara senyawa NaOH dengan asam amino bakteri. Hal tersebut menimbulkan penurunan pH (asam) dan bersifat iritatif.²⁰

Senyawa NaOCl dan metabolit sekunder ekstrak BOH memiliki mekanisme kerja yang serupa sebagai bahan antibakteri. Larutan NaOCl dapat mengurai lipid pada dinding sel bakteri melalui proses saponifikasi. Mekanisme tersebut serupa dengan cara kerja saponin yang terkandung dalam ekstrak BOH. Perbedaan diameter zona hambat NaOCl dengan keempat ekstrak BOH terjadi karena beberapa hal. Larutan NaOCl telah melalui berbagai proses tahapan terkait fungsinya dalam membunuh bakteri di saluran akar sehingga dapat secara efektif bekerja sebagai antibakteri. NaOCl hanya terdiri dari sedikit unsur kimia, yaitu natrium, oksida dan klorin sehingga memiliki daya antibakteri yang maksimal.²¹ Ekstrak kasar BOH yang menggunakan pelarut organik (etanol) dalam proses ekstraksi seringkali mengandung senyawa yang tidak diinginkan seperti zat warna (klorofil a dan b, karotenoid, antosianin), karbohidrat, lilin, resin.²² Keberadaan semua senyawa tersebut menyebabkan ketidakstabilan sifat fisika ekstrak ketika akan diformulasikan serta dapat mengurangi kadar senyawa aktif dalam ekstrak. Berbagai macam kandungan tersebut diduga dapat menjadi penyebab berkurangnya efektifitas ekstrak BOH sebagai antibakteri.

Disimpulkan bahwa ekstrak buah okra hijau memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *S.aureus* ATCC 6538 dimulai dari konsentrasi 6,25%. Ekstrak BOH yang memiliki daya hambat mendekati NaOCl 2,5% terhadap *S.aureus* ATCC 6538 adalah konsentrasi 12,5%.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ariwibowo T, Wangidjaja B, Amin MF. Perbedaan jumlah porphyromonas endodontalis pada diagnosis pulpitis ireversibel dan nekrosis pulpa. Jurnal Kedokteran Gigi Terpadu 2019; 1(2): 41-5.
2. Yamin IF, Natsir N. Bakteri dominan di dalam saluran akar gigi nekrosis. Journal Dentofasial 2014; 13(2): 113-6.
3. Samaranayake L. Essential microbiology for dentistry. 5th ed. China: Elsevier; 2018.p.
4. Abadhia FF, Lestari S, Setyorini D. Uji antibakteri secara klinik ekstrak kulit manggis (*garcinia mangostana* l.) dalam saluran akar gigi tikus (*rattus norvegicus*). E-Jurnal Pustaka Kesehatan 2017; 5(2): 356-64.
5. Sulaiman AY, Astuti P, Shita ADP. Uji antibakteri ekstrak daun kersen (*muntingia calabura* l.) terhadap koloni streptococcus viridans. Indonesians J Health Sci 2017; 1(2): 1-6.
6. Afiat RS, Winarti Syahid A. Pertumbuhan dan hasil tanaman okra (*abelmoschus esculentus*) yang diberi bokashi kayambang (*salvinia molesta*) dan pupuk fosfor pada tanah gambut pedalaman. Jurnal AGRI PEAT 2017; 18(2): 91-7.
7. Tandi J, Melinda B, Purwantari A, Widodo A. Analisis kualitatif dan kuantitatif metabolit sekunder ekstrak etanol buah okra (*abelmoschus esculentus* l. moench) dengan metode spektrofotometri uv-vis kovalen. Jurnal Riset Kimia 2020; 6(1): 74-80
8. Salim M, Ismail R, Mardiah E. Pengaruh ekstrak buah okra (*abelmoschus esculentus*) pada mencit putih jantan penderita diabetes melitus setelah diinduksi aloksan. Jurnal Kimia Unand 2018; 7(1): 7-12.
9. Septianingrum NMAN, Hapsari WS, Syarifuddin A. Identifikasi kandungan fitokimia ekstrak okra merah (*abelmoschus esculentus*) dan uji aktivitas antibiotik terhadap bakteri *escherichia coli*. Jurnal Insan Farmasi Indonesia 2018; 1(2): 170-7
10. Yulianti, Luthfi M, Rachmadi P, Cida BP, Wijayanti, EH. Potency of okra fruit extract (*abelmoschus esculentus*) against *porphyromonas gingivalis* as the cause of chronic periodontitis. J Int Dent Med Res 2020; 13(2): 519-24.
11. Hudzieki J. Kirby-bauer disk diffusion susceptibility test protocol. Am Soc Microbiol 2016; 15: 55-63.
12. Luthfi M, Yulianti, Oki, Aqsa S, Sosiawan A, Cida BP. Effectiveness of okra fruit (*abelmoschus esculentus*) extract against

- aggregatibacter actinomycetemcomitans (aa) as a bacterium that causes aggressive periodontitis. J Int Oral Health 2020; 12(6): 556-60.
13. Pujiastuti P, Lestari S. Perbedaan efektifitas antibakteri ekstrak daun sirih merah (*piper crocatum*) pada *porphyromonas gingivalis* dan *streptococcus viridans*. Stomatognathic Jurnal Kedokteran Gigi 2015; 12(1):1-4.
 14. Nugraha AC, Prasetya AT, Mursiti S. Isolasi, identifikasi, uji aktivitas senyawa flavonoid sebagai antibakteri dari daun mangga. Indonesian J Chem Sci 2017; 6(2): 91-6.
 15. Lingga AR, Pato U, Rossi E. Uji antibakteri ekstrak batang kecombrang (*nicotiana glauca*) terhadap *staphylococcus aureus* dan *escherichia coli*. JOM Faperta 2016; 1(3): 1-15.
 16. Biharee A, Sharma A, Kumar A, Jaitak V. Antimicrobial flavonoids as a potential substitute for overcoming antimicrobial resistance. Fitoterapia 2020; 146(104270): 1-22.
 17. Sapara TU, Waworuntu O, Juliatri. Efektivitas antibakteri ekstrak daun pacar air (*impatiens balsamina* L.) terhadap pertumbuhan *porphyromonas gingivalis*. Jurnal Ilmiah Farmasi 2016; 5(4): 10-7.
 18. Marfuah I, Dewi EN, Rianingsih L. Kajian potensi ekstrak anggur laut (*caulerparacemosa*) sebagai antibakteri terhadap bakteri *escherichia coli* dan *staphylococcus aureus*. Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan 2018; 7(1): 7-14
 19. Anggraini W, Nisa SC, Ramadhani RDA, Ma'arif BZA. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol 96% buah blewah (*cucumis melo* L. Var. *Cantalupensis*) terhadap pertumbuhan bakteri *escherichia coli*. Pharmaceu J Indonesia 2019; 5(1): 61-6
 20. Pal S, Galui S, Sarkar S. Deproteinizing agent, a fore step to better bonding: a literature review. Int J Pedod Rehabil 2021; 6(1): 1-5.
 21. Kusumawardhani T, Sukaton, Sudirman A. Perbedaan khasiat antibakteri bahan irigasi larutan propolis dan sodium hypochlorite terhadap bakteri *streptococcus viridans*. Conserv Dent J 2018; 8(1): 42-8.
 22. Aplugi DMA, Melati M, Kurniawati A, Faridah DN. Keragaman kualitas buah pada dua varietas okra (*abelmoschus esculentus* L. Moench) dari umur panen berbeda. J Agron Indonesia 2019; 47(2): 196-202.