

AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIBIOFILM EKSTRAK KELOPAK BUNGA ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa*) TERHADAP *Streptococcus mutans*

Masitah Ridwan, Rio Risandiansyah, Arif Yahya*
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan : Karies merupakan penyakit infeksi gigi oleh mikroorganisme *S. Mutant*. Kelopak bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) memiliki senyawa aktif yang mampu menghambat terbentuknya biofilm dan antibakteri. Belum banyak penelitian mengenai pemanfaatan herbal ini sebagai obat kumur. Penelitian ini bertujuan agar ekstrak Kelopak bunga Rosella dapat menjadi alternatif obat kumur herbal dalam mencegah karies.

Metode : Pada penelitian ini metode UAE digunakan untuk mengekstraksi *Hibiscus sabdariffa* tanpa alkohol. Pada penelitian in vitro ini dilakukan uji antibakteri menggunakan metode Kirby-Bauer dan uji antibiofilm terhadap *S. mutans* dibandingkan dengan obat kumur X yang dihitung menggunakan metode tabung dengan mengukur nilai absorbansi kristal violet pada panjang gelombang tertentu 570 nm. Analisis statistik menggunakan T-test dan one way ANOVA dengan tingkat signifikansi $p < 0,05$.

Hasil : Skrining fitokimia ekstrak *Hibiscus sabdariffa* menunjukkan adanya kandungan Flavonoid, Tanin, Fenol, dan Saponin. Hasil diameter zona hambat *S. mutans* pada kelompok obat kumur X, *Hibiscus sabdariffa* dengan konsentrasi 500.000 ppm, 50.000 ppm dan 5.000 ppm berturut-turut yaitu $22,8 \pm 0,52$, $7,86 \pm 0,46$, $0,0 \pm 0,0$ dan $0,0 \pm 0,0$ mm. Hasil antibiofilm *S. mutans* yang diuji berdasarkan OD_{570nm} adalah pada kelompok kontrol PBS, obat kumur X dan *Hibiscus sabdariffa* konsentrasi 500.000 ppm berturut-turut yaitu $0,458 \pm 0,03$, $0,017 \pm 0,008$ dan $0,31 \pm 0,04$. Ekstrak *Hibiscus sabdariffa* berpotensi untuk mendegradasi biofilm dibandingkan dengan kelompok obat kumur X.

Kesimpulan : Ekstrak *Hibiscus sabdariffa* tanpa pelarut alkohol tidak berpotensi menghambat pertumbuhan *S. mutans* namun dapat mendegradasi biofilm sebesar $31,58 \pm 13,5\%$ secara signifikan.

Kata Kunci : *Hibiscus sabdariffa*, daya hambat bakteri, antibiofilm.

*Penulis Korespondensi :

Arif Yahya

JL MT Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65145, Telp. 0341 578920

e-mail: arifyahya@unisma.ac.id

ANTIBACTERIAL AND ANTIBIOFILM ACTIVITY OF ROSELLA FLOWER (*Hibiscus sabdariffa*) EXTRACT AGAINST *Streptococcus mutans*

Masitah Ridwan, Rio Risandiansyah, Arif Yahya*
Faculty of Medicine, Universitas Islam Malang

ABSTRACT

Introduction : Caries is a dental infection disease caused by a *S. Mutant* microorganism. Rosella flower petals (*Hibiscus sabdariffa*) have active compounds that can inhibit the formation of biofilms and are antibacterial. Not much research has been done on the use of this herb as a mouthwash. This study aims to make Rosella petal extract an alternative to herbal mouthwash for preventing caries.

Methods: In this study, the UAE method was used to extract *Hibiscus sabdariffa* without alcohol. In this in vitro study, an antibacterial test was carried out using the Kirby-Bauer method and an antibiofilm test against *S. mutans* compared to mouthwash X, which was calculated using the tube method by measuring the absorbance value of crystal violet at a wavelength of 570 nm. Statistical analysis using the T-test and one way ANOVA with a significance level of $p < 0.05$.

Results: Phytochemical screening of *Hibiscus sabdariffa* extract showed the presence of Flavonoids, Tannins, Phenol, and Saponins. The results of the inhibition zone diameters of *S. mutans* in the mouthwash X group, *Hibiscus sabdariffa* concentrations of 500,000 ppm, 50,000 ppm and 5,000 ppm respectively, were $22,8 \pm 0,52$, $7,86 \pm 0,46$, $0,0 \pm 0,0$ and $0,0 \pm 0,0$ mm. The results of the *S. mutans* antibiofilm tested based on OD_{570nm} were in the control group PBS, mouthwash X and *Hibiscus sabdariffa* at a concentration of 500,000 ppm respectively, namely $0,458 \pm 0,03$, $0,017 \pm 0,008$ and $0,31 \pm 0,04$. *Hibiscus sabdariffa* extract has the potential to degrade biofilms compared to mouthwash X.

Conclusion : *Hibiscus sabdariffa* extract without alcohol solvent has no potential to inhibit the growth of *S. mutans* but can significantly degrade biofilms by $31,58 \pm 13,5\%$.

Keywords: *Hibiscus sabdariffa*, bacterial inhibition, antibiotic

*Corresponding author:

Arif Yahya

JL MT Haryono 193 Malang, East Java, Indonesia, 65145, Telp. 0341 578920

e-mail: arifyahya@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Masalah dalam kesehatan gigi dan mulut sangat tinggi baik di dunia maupun di Indonesia. Menurut *Global Burden of Disease Study* 2016, masalah dalam kesehatan gigi maupun mulut, terutama karies gigi, bagian dari penyakit yang sering dirasakan oleh masyarakat sebagian penduduk di dunia (3,58 miliar orang), dan menurut Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2018, Proporsi masalah gigi terbesar yakni mengalami gigi berlubang/sakit, gigi rusak. Dengan demikian dapat ditunjukkan melalui prevalensi penduduk dengan memiliki permasalahan dalam kesehatan gigi maupun mulut khususnya di Indonesia yang mengalami peningkatan yang sangat tinggi dari 23,2% tahun 2007 menjadi 57,6% tahun 2018¹.

Bakteri dari genus *Streptococcus* adalah bakteri dengan memiliki peranan yang sangat penting dengan pembentukan plak gigi. *Streptococcus mutans* adalah spesies paling dominan, dibandingkan streptokokus lainnya dalam menyebabkan karies gigi. Perlekatan *Streptococcus mutans* pada permukaan gigi merupakan awal terbentuknya karies karena peranan enzim *glukosiltransferase* (GTF). GTF dapat menghambat aktivitas dan adsorpsi hidroksiapatit terhadap remineralisasi gigi karena mampu berinteraksi dengan komponen saliva seperti amilase. GTF juga mampu mensintesis polisakarida sukrosa ekstraseluler untuk menghasilkan glukosa kental, yang memfasilitasi adhesi dan akumulasi bakteri pada permukaan gigi. Melalui proses ini akan terbentuk mikrokoloni yang akan mendukung terbentuknya biofilm (plak gigi)². Jika biofilm ini tidak dikontrol dengan baik maka mekanisme ini akan berkembang menjadi karies gigi.

Upaya dalam mencegah karies adalah dengan mengontrol plak, dapat dilakukan dengan cara mekanik dan kimiawi seperti menyikat gigi, memakai dental floss (benang gigi), atau pemakaian obat kumur. Penggunaan obat kumur yang telah dijual bebas (obat kumur X) dapat menjangkau tempat yang sulit di bersihkan dengan sikat gigi. obat kumur X adalah obat kumur yang awalnya terdiri dari empat kandungan minyak esensial antara lain minyak *peppermint*, minyak kayu putih (*Eucalyptus*), minyak atsiri *thyme*, dan minyak *wintergreen* (*gaultheria procumbens*) (Lambert Pharmaceutial Company, 1912). Kemudian komposisi nya telah berubah pada tahun 2003 yaitu terdiri dari bahan aktif timol 0,064%, eucalyptol 0,092%, metil salisilat 0,060% serta mentol 0,042% untuk penggunaan anti-plak. Bahan inaktifnya adalah air, alkohol (26,9%), asam benzoate dll³.

Bagi masyarakat lebih mudah membeli produk obat kumur yang telah di pasarkan tidak memahami dengan pasti komposisi tersebut yang akan menyebabkan adanya efek samping terhadap rongga mulut. Bahan yang paling umum ditemukan pada obat kumur adalah alkohol, konsentrasi alkohol yang tersedia mulai 6% sampai 26,9%. Penggunaan kandungan alkohol ini sangat tinggi pada obat kumur yang akan menyebabkan adanya efek samping yang merugikan contohnya radang gusi, ulserasi mukosa, nyeri bahkan resiko kanker mulut⁴. Selain itu alkohol dapat menyebabkan masalah bau nafas dan pengurangan air liur⁵.

Penggunaan obat tradisional merupakan bagian dari budaya Indonesia serta semakin terkenal di masyarakat umum sampai saat ini. Khasiat kegunaannya telah di teliti secara luas dan ilmiah. Adapun salah satu obat tradisional kini sering digunakan di masyarakat umum contohnya seperti bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*). Bunga Rosella mempunyai sifat antibakteri untuk melawan bakteri yang dapat menyebabkan plak, komposisi kimia yang terdiri dari senyawa fenol, asam organik, antosianin serta flavonoid adalah komposisi dari kelopak bunga Rosella. Zat- zat ini mempunyai aktivitas antibakteri pada bakteri gram negatif maupun gram positif.

Menurut riset yang dikembangkan oleh Miranti 2013 mengenai ekstrak etanol 96% kelopak bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) memiliki efek antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Konsentrasi tersebut dapat memberikan zona hambat yang sangat luas yakni terhadap konsentrasi 100 % melalui zona bening sebesar 27,8 mm⁶.

Pada penelitian ini akan dilakukan ekstraksi *Hibiscus sabdariffa* tanpa alkohol, yakni menggunakan (UAE) *Ultrasonic Assisted Extraction* yaitu salah satu metode ekstraksi yang dapat digunakan untuk gelombang ultrasonik yakni gelombang dengan mempunyai frekuensi (≥ 16 kHz). Penelitian dilakukan secara *in vitro* dengan mengukur kemampuan antibakteri menggunakan metode Kirby-bauer serta antibiofilm dengan *tube method* ekstrak HS terhadap bakteri *S. mutans*.

METODE PENELITIAN

Desain, Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian yang dilakukan merupakan eksperimental yang memiliki sifat analitik laboratorik. Penelitian tersebut telah dilaksanakan pada (LPRK) Laboratorium Pusat Riset Kedokteran FK Unisma dan *Research Centre* Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya sejak bulan Agustus hingga Desember 2022.

Pembuatan Ekstrak Kelopak bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) menggunakan UAE.

Pembuatan ekstrak kelopak bunga bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) menggunakan metode *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) yaitu serbuk simplisia bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) didapatkan melalui UPT. Balai Materia Medica Batu Malang, dengan bentuk serbuk yang berikutnya dapat diekstraksi di Laboratorium Pusat Riset Kedokteran Unisma. Selanjtnya simplisia ditimbang sebanyak 50 gram, yang dapat dimasukan dalam labu erlenmeyer. Selanjutnya dapat ditambahkan pelarut aquades sebanyak 500 ml melalui adanya perbandingan pada pelarut ataupun bahan yaitu 1 : 10 ditutup menggunakan aluminium foil, berikutnya labu Erlenmeyer diletakan di dalam *ultrasonic water bath* 35 kHz selama 15 menit. Hasil ekstraksi ini kemudian melakukan penyaringan menggunakan kertas saring sampai diperoleh filtrat yang kemudian di tuang ke dalam gelas beaker yang telah dihitung berat kosongnya dengan rata-rata volume pengisian 50 ml filtrat tiap gelas. Semua gelas beaker yang berisi filtrat

di masukan ke dalam oven suhu 50°C hingga dapat memperoleh ekstrak sangat kental.

Skrinning Fitokimia

Ekstrak *Hibiscus sabdariffa* diidentifikasi senyawa metabolit yang terkandung di dalamnya. Skrinning dilakukan oleh UPT. Batu Materi Medika dengan metode sebagai berikut :

Skrinning Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan memberikan pereaksi NaOH 10% dilakukan dengan 1 ml ekstrak herbal *Hibiscus sabdariffa* di tambahkan beberapa tetes NaOH 10% kemudian di kocok hingga membentuk suatu reaksi. Hasil positif didapatkan jika berwarna orange/jingga pada pereaksi NaOH 10%⁷.

Skrinning Tanin

Pada uji tanin dilakukan dengan pereaksi FeCl₃ dengan menambahkan beberapa tetes FeCl₃ 1% pada tabung reaksi berisi ekstrak herbal *Hibiscus sabdariffa*, hasil positif dilihat dari bentuknya yang berwarna biru kehitaman ataupun coklat kehijauan pada sampel tersebut⁷

Skrinning Fenol

Uji fenol dilakukan dengan cara ekstrak herbal *Hibiscus sabdariffa* pada tabung reaksi ditambahkan beberapa tetes FeCl₃ 1%. Hasil positif didapatkan jika terjadi adanya perubahan warna menjadi biru kehitaman ataupun hijau kehitaman⁷

Skrinning Saponin

Uji saponin dilakukan dengan memasukan ekstrak herbal *Hibiscus sabdariffa* ditambah aquades kedalam tabung reaksi, setelah itu di kocok yang sangat kuat dengan durasi 10 detik. Setelah terdapat busa yang bisa stabil dengan durasi 10 menit serta dengan penambahan 1 tetes HCl 2 N yang tidak akan hilang, maka menunjukkan adanya saponin⁸.

Sterilisasi Alat

Semua alat dengan bahan kaca contohnya tabung reaksi, gelas beaker, labu erlenmeyer dan cawan petri dibungkus terlebih dahulu menggunakan kertas atau plastik lalu diletakkan pada keranjang dan dimasukkan ke dalam autoklaf. Alat kemudian ditutup, dikunci lalu dinyalakan. Proses sterilisasi ditunggu kurang lebih 2 jam hingga suhu turun di angka 60°C lalu kunci autoklaf dapat dibuka. Alat- alat dikeluarkan dan disimpan di tempat yang steril.

Persiapan dan Peremajaan Bakteri *S. mutans* Pembuatan Media Nutrient Agar

Pembuatan media dapat dilakukan melalui cara serbuk *nutrient agar* ditimbang dengan 7 gram kemudian dilarutkan dalam 250 ml aquades di dalam *Schott bottle* lalu diaduk menggunakan batang pengaduk. Botol berisi media diautoklaf dan setelah itu dituang ke tabung reaksi untuk digunakan sebagai media miring.

Pembuatan Inokulum Bakteri *S. mutans*

Bakteri tersebut dapat dibutuhkan untuk riset ini yakni *Streptococcus mutans* telah di biakan oleh

Laboratorium Mikrobiologi *Research Center* Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga. Peremajaan bakteri dilakukan menggunakan ose yang telah di sterilkan dengan mengambil satu ose bakteri *S. mutans* kemudian digoreskan melalui media (NA) nutrient agar miring setelah diinkubasi dengan suhu 37°C hingga 24 jam⁹.

Bakteri uji dapat di inokulasi dengan media NA lalu dilarutkan pada 10 ml NaCl 0,9%. Kemudian dilihat hingga dapat memperoleh secara kekeruhan dengan standar kekeruhan dari 0,5 McFarland kurang lebih berjarak 2,5 cm di depan *wickerham card*. Suspensi *S. mutans* yang terlihat lebih terang dibanding 0,5 McFarland Standard, maka perlu ditambahkan *S. mutans* yang sudah dikultur ke dalam tabung suspensi. Namun, jika suspensi terlihat lebih keruh dibanding 0,5 McFarland Standard, maka perlu ditambahkan larutan NaCl 0,9% ke dalam tabung suspensi untuk mendapat kekeruhan yang sesuai dengan nilai absorbansi¹⁰.

Pengujian Daya Hambat dari *Hibiscus sabdariffa* terhadap *S. mutans*

Pembuatan Media Mueller Hinton Agar

Uji ZOI menggunakan media *Muller Hinton Agar*. Serbuk *nutrient agar* ditimbang sebanyak 9,5 gram selanjutnya dilarutkan dalam 250 ml aquades di dalam *Schott bottle* lalu diaduk menggunakan batang pengaduk. Botol berisi media tersebut kemudian diautoklaf dan setelah itu dituang ke cawan petri untuk digunakan sebagai media uji zona hambat.

Menentukan Diameter Zona Hambat

Pengujian daya hambat ini dapat dilakukan melalui metode difusi disk (tes *Kirby Bauer*) terhadap pertumbuhan *S.mutans*. media yang digunakan adalah *Muller Hinton Agar* . Uji diawali dengan melakukan persiapan media MHA untuk menjadi wadah inokulasi bakteri *S.mutans*. Ekstrak *Hibiscus sabdariffa* dengan 3 konsentrasi yaitu 5000 ppm, 50.000 ppm, 500.000 ppm dan obat kumur X dimasukkan ke dalam kertas cakram. Setelah itu media MHA yang dapat dituangkan ke dalam cawan petri sebanyak ± 3,5mm hingga padat dan dilakukan penanaman bakteri *S. mutans* dengan teknik *spread plate* menggunakan *cotton swab*. Setelah itu dilakukan inkubasi selama 2 hari dengan suhu 37°C. Setelah itu dapat diukur dengan diameter zona hambat untuk daerah bening kertas cakram yakni dengan jangka sorong.

Pengujian Kemampuan *Hibiscus sabdariffa* terhadap Degradasi Biofilm *S. mutans*

Pembuatan Media Brain Heart Infusion Broth

Serbuk *nutrient agar* yang dapat ditimbang dengan banyak 9,25 gram dan dilarutkan kedalam 250 ml aquades di dalam *Schott bottle* kemudian diaduk menggunakan batang pengaduk. Botol berisi media kemudian diautoklaf dan setelah itu dituang ke tabung reaksi untuk digunakan sebagai media uji antibiofilm.

Menentukan Uji Degradasi Biofilm

Kelompok uji terbagi menjadi 3 yaitu kelompok PBS, obat kumur X dan *Hibiscus sabdariffa* konsentrasi 500.000 ppm. *S. mutans* ditanam di dalam tabung steril yang masing-masing berisi 5 ml media BHIB yang selanjutnya diinkubasi 2 x 24 jam. Tabung selanjutnya disentrifugasi agar menyisakan endapan. Kemudian dilakukan pembilasan menggunakan PBS sebanyak 2 kali pada semua tabung. Kemudian dilakukan pengecatan kristal violet terhadap masing-masing tabung lalu dibiarkan selama 4 jam. Selanjutnya kristal violet dibuang dan dilakukan pengamatan terhadap bakteri yang menempel di dinding tabung. Setelah itu media diberikan 1-2 ml aquades kemudian dihitung menggunakan spektrofotometri. Hasil nilai absorbansi ini dicatat sebagai nilai kontrol. Pada kelompok lainnya juga diperlakukan sama dengan kelompok uji kontrol sampai di tahap pemberian kristal violet dan pengamatan biofilm di dinding tabung. Selanjutnya, pemberian 5 ml sampel ekstrak *Hibiscus sabdariffa* 500.000 ppm pada 9 tabung kelompok herbal dan pemberian 5 ml obat kumur X pada 9 tabung kelompok lainnya kemudian kedua kelompok ini diinkubasi selama 24 jam. Setelah itu, larutan dibuang dari tabung dan diberikan 1-2 ml aquades. Selanjutnya diambil sampel dari setiap tabung untuk diamati menggunakan spektrofotometer. Hasil nilai absorbansi yang didapat inilah yang menjadi nilai kelompok ekstrak *Hibiscus sabdariffa* dan Listerine®.

Analisa Data

Data yang sudah diperoleh dan dapat melakukan analisa dengan membutuhkan aplikasi SPSS 25 for windows. Kemudian diuji *one way ANOVA* serta *T-test* melalui taraf adalah signifikansi $p < 0,05$.

HASIL DAN ANALISA DATA

Hasil penelitian ini terdiri atas hasil skrining fitokimia ekstrak *Hibiscus sabdariffa* tanpa pelarut alkohol dan hasil uji antibakteri dan hasil uji degradasi biofilm terhadap *S. mutans* akan dijabarkan pada uraian berikut.

Hasil Skrining Fitokimia

Uji fitokimia bagian dari cara tersebut dengan melakukan identifikasi secara senyawa bioaktif yang terkandung kedalam tanaman yang di teliti. Melalui metode tersebut secara umum dilakukan pada tahapan pertama dalam riset ini serta bagian dari reaksi pengujian yang berwarna dengan pereaksi warna¹¹. Melalui riset ini melakukan uji fitokimia yang dapat dilakukan adalah saponin, tanin, fenol, dan uji flavonoid. Dengan menggunakan ekstrak kelopak bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) bagian dari tanaman dapat diuji dengan pelarut aquades dan metode UAE.

Tabel 1 Hasil Skrining Fitokimia *Hibiscus sabdariffa*.

Senyawa Aktif	<i>Hibiscus sabdariffa</i>
Flavonoid	+
Tanin	+
Fenol	+
Saponin	+

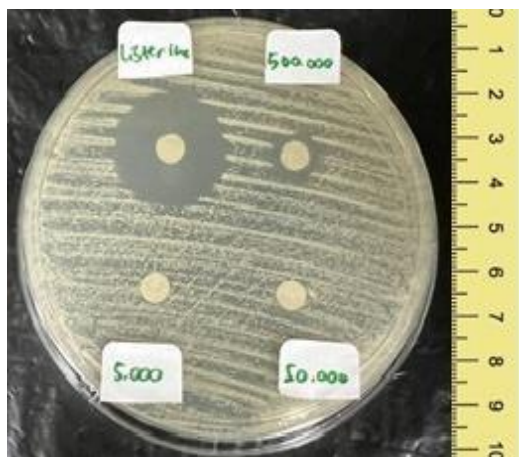
Keterangan : (+) terdapat senyawa metabolit, (-) tidak terdapat senyawa metabolit.

Hasil uji fitokimia melalui ekstrak kelopak bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) di dapatkan hasil positif pada uji flavonoid, tanin, fenol dan saponin. Uji flavonoid yang di tambahkan pereaksi NaOH yaitu terjadi adanya perubahan warna dari merah menjadi warna merah tua. Pada uji tanin terjadi perubahan warna yang menjadi warna biru kehitaman yang selanjutnya ditambahkan pereaksi FeCl₃, hasil ini menunjukkan hasil positif pada uji fitokimia tanin. Pada uji fenolik ekstrak yang telah di tambahkan pereaksi FeCl₃ menunjukkan hasil positif yang ditandai adanya perubahan warna yang menjadi warna hijau kehitaman. Kemudian pada uji saponin ekstrak telah ditambah melalui pereaksi aquades dan dikocok kuat juga mengalami perubahan dan menunjukkan hasil positif yaitu terdapat busa permanen.

Hasil Uji Antibakteri Ekstrak UAE terhadap *Hibiscus sabdariffa*.

Hasil uji daya hambat atau *zone of inhibition* ekstrak kelopak bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) yang di larutkan menjadi aquades menggunakan metode UAE terhadap bakteri *S. mutans* yang dibandingkan dengan obat kumur X kemudian dapat diukur dengan membutuhkan jangka sorong melalui tingkat yang sangat teliti dengan satu mm, dapat dilihat melalui Gambar 1.

Hasil diameter zona hambat *Hibiscus sabdariffa* dalam cawan petri berisi 4 kertas cakram yang dilarutkan dalam larutan obat kumur X, ekstrak *Hibiscus sabdariffa* konsentrasi 500.000 ppm, 50.000 ppm serta 5.000 ppm. Dengan hasil ditandai adanya zona bening yang terlihat pada kelompok obat kumur X dan ekstrak *Hibiscus sabdariffa* konsentrasi 500.000 ppm. Kemudian pada kelompok ekstrak *Hibiscus sabdariffa* . konsentrasi 50.000 ppm dan 5.000 ppm tanpa zona bening dengan bentuk, dengan hal tersebut dapat menunjukkan bahwa pada 2 kelompok konsentrasi ini tidak berpengaruh yang dapat menghambat adanya pertumbuhan ke dalam bakteri pada *S. mutans*.



Gambar 1. : Hasil uji zona hambat ekstrak *Hibiscus sabdariffa* terhadap *S. mutans*

Keterangan : Hasil uji ZOI obat kumur X dan ekstrak *Hibiscus sabdariffa* dengan konsentrasi 500.000 ppm, 50.000 ppm dan 5.000 ppm terhadap bakteri *S. mutans*. Tampak adanya zona hambat pertumbuhan bakteri pada sampel obat kumur X dan ekstrak *Hibiscus sabdariffa* dengan konsentrasi 500.000 ppm.

Hasil pengukuran *zone of inhibition* yang dilakukan pada ekstrak kelopak bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) dalam 3 kelompok ukuran dan dibandingkan dengan obat kumur X. Hasil ini menunjukkan bahwa pada kelompok obat kumur X memiliki nilai rata-rata tertinggi *zone of inhibition* $22,8 \pm 0,52$ dan kelompok ekstrak *Hibiscus sabdariffa* dengan konsentrasi 50.000 ppm dan 5.000 ppm memiliki nilai rata-rata terendah $0,0 \pm 0,0$. Sedangkan pada konsentrasi 500.000 ppm didapatkan nilai $7,86 \pm 0,46$. Berdasarkan hasil data tersebut ekstrak *Hibiscus sabdariffa* menggunakan metode UAE tanpa larutan alkohol menunjukkan *zone of inhibition* lebih kecil dibandingkan dengan obat kumur X.

Untuk menguji normalitas data membutuhkan Shapiro-Wilk yang mendapatkan nilai $p > 0,05$, hasil tersebut menunjukkan data yang terdistribusi secara normal. Berikutnya dapat dilakukan uji *Test of Homogeneity of Variances*, dengan hasil yang didapatkan adalah nilai $p > 0,05$ artinya data tersebut homogen, kemudian dilakukan uji *T-test* pada 2 kelompok yaitu obat kumur X dan ekstrak *Hibiscus sabdariffa* konsentrasi 500.000 ppm mendapatkan hasil dengan nilai $p < 0,05$. Nilai ini menunjukkan perbedaan hasil yang terjadi pada 2 kelompok yang di uji adalah signifikan dimana hasil kelompok obat kumur X lebih baik dibandingkan ekstrak *Hibiscus sabdariffa*.

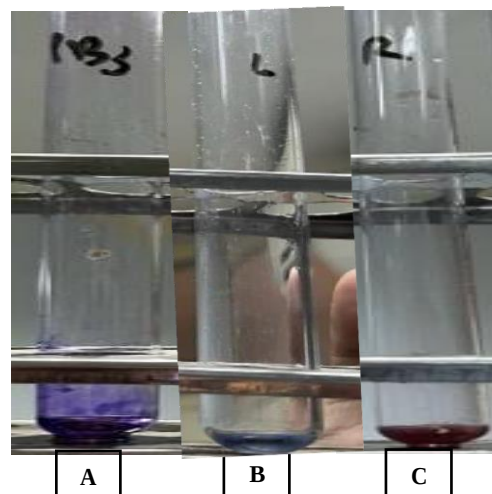
Hasil Uji Antibiofilm

Hasil uji antibiofilm diukur menggunakan spektrofotometer dengan menghitung bakteri *S. mutans* yang menempel pada dinding tabung reaksi. Bakteri *S. mutans* yang di hitung adalah sisa bakteri setelah diberi perlakuan pada kelompok kontrol PBS, kelompok obat kumur X dan kelompok ekstrak *Hibiscus sabdariffa* dengan konsentrasi 500.000 ppm.

Hasil uji antibiofilm bakteri *S. mutans* setelah di beri perlakuan kelompok sampel ditandai dengan adanya endapan putih yang menempel pada dinding tabung reaksi. Hasil ini dilakukan dengan melihat secara visual pada masing-masing tabung di 3 kelompok sampel, hasil yang di dapatkan pada 3 kelompok uji menunjukkan adanya endapan putih .

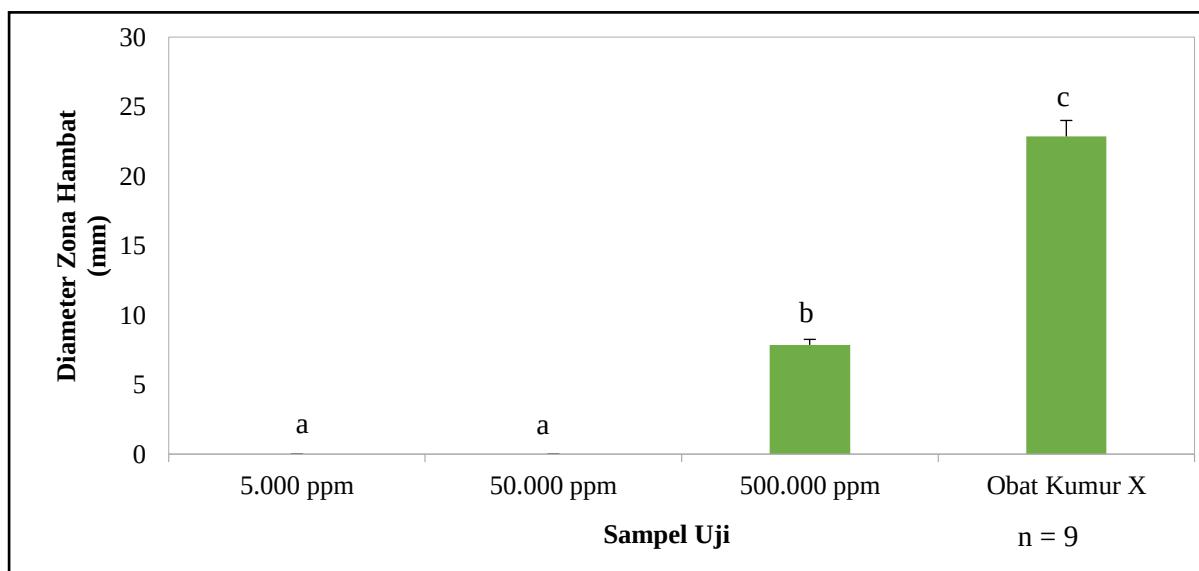
Data yang di tampilkan dalam bentuk grafik merupakan hasil pengukuran dari kekeruhan cairan sampel yang dilihat menggunakan alat spektrofotometer yang bekerja menggunakan cahaya. Semakin gelap warna cairan sampel yang di dihasilkan maka kemungkinan akan menunjukkan hasil *optical density* (OD) yang lebih tinggi dibandingkan cairan sampel yang lebih jernih.

Hasil uji antibiofilm pada sampel ekstrak *Hibiscus sabdariffa* dan dibandingkan dengan kelompok Listerine® serta PBS ditunjukkan dalam grafik **Gambar 5.4**. Hasil ini menunjukkan bahwa pada kelompok sampel kontrol PBS terhadap bakteri *S. mutans* memiliki nilai rata-rata tertinggi biofilm $0,458 \pm 0,03$ dan kelompok obat kumur X memiliki nilai rata-rata terendah $0,017 \pm 0,008$, sedangkan pada kelompok ekstrak *Hibiscus sabdariffa* dengan konsentrasi 500.000 ppm didapatkan nilai $0,31 \pm 0,04$. Untuk menguji normalitas data membutuhkan Shapiro-Wilk yang didapatkan dengan nilai $p > 0,05$ hasil tersebut menunjukkan data yang dapat terdistribusi secara normal. Berikutnya dapat dilakukan uji *Test of Homogeneity of Variances*, hasil yang didapatkan adalah nilai $p > 0,05$ artinya data tersebut homogen. Kemudian dapat dilanjutkan melalui uji *One Way ANOVA* didapatkan hasil nilai $p < 0,05$. Nilai tersebut dapat ditunjukkan yang adanya perbedaan dari hasil tersebut dapat terjadi pada kelompok kontrol PBS, kelompok obat kumur X dan ekstrak *Hibiscus sabdariffa* adalah signifikan dimana hasil kelompok obat kumur X lebih baik dibandingkan dengan hasil dari kelompok ekstrak *Hibiscus sabdariffa* dan kontrol PBS.



Gambar 2. Hasil Uji Antibiofilm

Keterangan : A. Kelompok uji kontrol PBS
B. Kelompok uji obat kumur X, C.
Kelompok uji ekstrak *Hibiscus sabdariffa*
500.000 ppm



$\bar{x} \pm SD$ (mm)			
Obat kumur X	500.000 ppm	50.000 ppm	5.000 ppm
22,8±0,52	7,86±0,46	0 ± 0	0 ± 0

Gambar 3. Hasil Pengukuran Zone of Inhibition sampel Obat Kumur X dan ekstrak kelopak bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) terhadap *S.mutans*

Keterangan : Grafik di atas menunjukkan diameter zona hambat uji ZOI pada empat kelompok terhadap bakteri *S. mutans*. serta hasil rata-rata pengukuran diameter zona hambat dari kelompok obat kumur X dan ekstrak *Hibiscus sabdariffa*. Nilai notasi yang berbeda pada gambar tersebut menunjukkan angka signifikan ($p < 0,05$)

PEMBAHASAN

Senyawa Aktif Pada Ekstrak *Hibiscus sabdariffa*

Melalui riset yang telah dijalankan mengenai kelopak bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) diekstrak membutuhkan pelarut aquades dengan metode *Ultrasonic Assisted Extraction*. Aquades adalah pelarut yang bersifat polar dan ekstrak *Hibiscus sabdariffa* dalam penelitian sebelumnya telah banyak menggunakan pelarut polar etanol, contohnya yang dilakukan oleh Miranti (2013) dan E. Minarto *et al* (2022). Dengan berhasil menggunakan proses ekstraksi yang ditentukan oleh jenis dan kualitas pelarut dapat digunakan, dimana riset tersebut pelarut aquades dipilih karena bagian dari pelarut murah dan sangat mudah di dapatkan, bersifat netral dan tidak berbahaya.

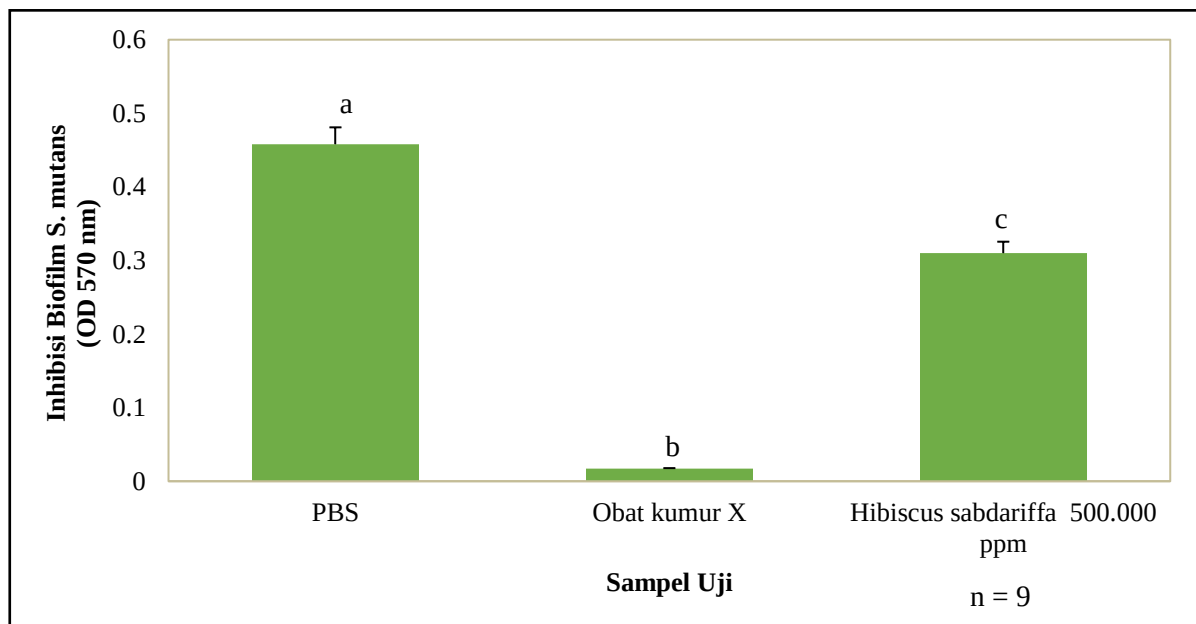
Pemilihan pelarut aquades digunakan untuk mendapatkan senyawa kelopak bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) tanpa kandungan alkohol karena akan menimbulkan efek samping yang merugikan dalam jangka panjang penggunaannya pada rongga mulut.

Metode tersebut dapat digunakan melalui riset ini yakni *Ultrasonic Assisted Extraction*, proses ekstraksi dilakukan selama 15 menit dengan menggunakan gelombang *ultrasonic*. Metode *Ultrasonic Assisted Extraction* dipilih karena proses ekstraksi yang lebih cepat, ekstrak ini dapat diperoleh menjadi lebih pekat,

serta zat aktif tersebut sehingga sangat banyak. Hal ini ditunjukkan pada penelitian Budiastira *et al* (2021) yang membandingkan antara metode UAE dan maserasi terhadap kadar oleoresin Pala. Hasil menunjukkan bahwa ekstraksi dengan menggunakan *ultrasonic* dapat meningkatkan rendeman oleoresin Pala 11% sampai 52% dengan waktu yang diperlukan Lebih cepat (≤ 1.25 jam) dibandingkan dengan metode maserasi yang memerlukan waktu lebih lama (7 jam). Penelitian membandingkan metode konvensional ekstrak pektin dengan kulit buah pisang melalui metode UAE. Dengan hasil tersebut didapatkan melalui riset ini yakni mengenai penggunaan metode UAE mampu menghasilkan rendeman jauh lebih baik jika dibandingkan dengan metode konvensional. Melalui hasil rendeman metode UAE adalah 25,59 % sedangkan pada metode konvensional mendapatkan rendemen sebesar 18,3%.

Hasil fitokimia yang dilakukan pada ekstrak kelopak bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) yang diperoleh pada riset tersebut dengan menggunakan pelarut aquades dengan metode *Ultrasonic Assisted Extraction* menunjukkan hasil positif mengandung senyawa tanin, flavonoid, saponin serta fenolik.

Jenis pelarut ini dibutuhkan untuk kebutuhan ekstraksi dapat menyesuaikan dalam jumlah senyawa



OD 570 nm ($\bar{x} \pm SD$)		
PBS	Obat Kumur X	<i>Hibiscus sabdariffa</i> 500.000 ppm
0,458±0,03	0,017±0,008	0,31±0,04

Gambar 4. Hasil Pengukuran Uji biofilm bakteri *S. mutans* dalam 3 kelompok Sampel Uji

Keterangan : Grafik diatas menunjukkan hasil pengukuran biofilm menggunakan alat spektrofotometer terhadap bakteri *S. mutans* dengan panjang gelombang 570 nm. Pada uji biofilm ini menggunakan 3 kelompok sampel dengan hasil pengukuran menggunakan satuan OD (*Optical Density*). Nilai notasi berbeda menunjukkan angka signifikan $p < 0,05$.

aktif dengan cara diekstraksi dari tanaman. Zat polar bisa larut dalam pelarut polar, sedangkan dalam zat non polar hanya larut dalam pelarut non polar¹². Pelarut aquades memiliki sifat polar yang sama dengan flavonoid untuk itu senyawa yang diperoleh didasari oleh kesamaan sifat kepolaran dengan pelarut¹³. Sam *et al* mendapatkan positif senyawa fenolik pada ekstrak *Hibiscus sabdariffa* dengan pelarut etanol 60% dilihat dari terbentuknya warna biru kehitaman setelah penambahan pereaksi FeCL₃. Aryati *et al* (2020) juga menggunakan pelarut etanol 70% pada sampel ekstrak *Hibiscus sabdariffa* menunjukkan hasil positif saponin setelah dikocok dengan air selama beberapa detik dan menghasilkan busa yang stabil. Hal ini menunjukkan bahwa pelarut air dengan metode *Ultrasonic Assisted Extraction* dapat memperoleh hasil yang sama dengan pelarut alkohol. Namun pengujian yang dilakukan bersifat kualitatif sehingga kadar masing-masing senyawa tidak diketahui. Maka, perlu dilakukan uji kuantitatif untuk membandingkan kadar senyawa aktif yang diperoleh menggunakan pelarut aquades dengan metode UAE dibandingkan dengan pelarut alkohol.

Uji Zone of Inhibition Terhadap Bakteri *S. mutans*

Zona bening dapat berbentuk melalui riset yang dikembangkan serta mempunyai diameter yang berbeda-beda setiap kelompok sampel. Kelompok sampel memiliki nilai rerata tertinggi adalah obat kumur X

dengan nilai rerata >20 mm dibandingkan dengan ekstrak *Hibiscus sabdariffa* konsentrasi 5.000 ppm, 50.000 ppm serta 500.000 ppm dengan nilai rerata <10 mm yang memiliki nilai rerata terendah. Merujuk klasifikasi respon hambat pertumbuhan bakteri menunjukkan bahwa ekstrak *Hibiscus sabdariffa* dengan rerata <10 mm masuk dalam kategori tidak ada atau tidak mempunyai kemampuan yang dapat menghambat pada setiap pertumbuhan bakteri *S. mutans*¹⁴. Hasil riset tersebut juga menunjukkan mengenai ekstrak kelopak bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) tanpa pelarut alkohol menunjukkan *zone of inhibition* lebih rendah dibandingkan dengan obat kumur X.

Hasil riset yang tidak sejalan dengan riset yang dikembangkan oleh A. riwandy (2014) menunjukkan bahwa ekstrak air kelopak bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) memiliki efek antibakteri mengenai bakteri yang dapat menyebabkan karies (*Streptococcus mutans*). Ekstrak ini memiliki daya hambat minimum bakteri 5% atau 50.000 ppm dengan hasil 1 mm dan konsentrasi efektifnya terdapat pada konsentrasi ekstrak air Rosella 45% (450.000 ppm) serta 50% (500.000 ppm) yaitu 15-18 mm. Penelitian tersebut menggunakan konsentrasi berturut-turut mulai dari 1%-50%, hasil menunjukkan bahwa konsentrasi dengan kenaikan 5-10% tanpa adanya perbedaan makna secara statistik. Berlandaskan pada riset yang dikembangkan sebelumnya dengan kenaikan konsentrasi 5-10% dengan konsentrasi lainnya didapatkan hasil yang tidak berbeda

secara statistik, maka digunakan konsentrasi 5.000 ppm, 50.000 ppm serta 500.000 ppm yang kenaikan konsentrasinya 10x dengan konsentrasi lainnya agar mendapatkan hasil yang signifikan. Akan tetapi hasil yang didapatkan dalam konsentrasi 500.000 ppm masih dalam kategori tidak ada, kemudian angka konsentrasi tersebut adalah sangat tinggi maka faktor konsentrasi ekstrak bukan penyebab tidak adanya zona hambat pertumbuhan pada *S. mutans*.

Flavonoid dan tanin berfungsi sebagai antibakteri dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri serta dapat merusak membran sel sampai membran sel yang tidak bisa diperbaiki kembali.

Antosianin dapat menghambat oksidasi glukosa serta dapat mengikat zat besi yang dibutuhkan oleh bakteri sampai menghambat metabolisme bakteri. Mekanisme antibakteri dari antosianin juga dapat bekerja melalui menghambat aktivitas enzim bakteri enzim glucosyltransferase (GTF) dari *S. mutans* sehingga glukosa ini tidak dapat diubah menjadi glukon dengan memfasilitasi adhesi serta akumulasi bakteri pada permukaan gigi.

Mekanisme fenolik sebagai antibakteri adalah dapat merusak enzim maupun merusak dinding sel terhadap bakteri *S. mutans*, kemudian saponin sebagai antibakteri memiliki molekul dengan memiliki kekuatan untuk menarik air maupun disebut dengan hidrofilik serta molekul ini dapat melarutkan lemak ataupun disebut dengan lipofilik, kemudian dapat menurunkan adanya tegangan permukaan sel pada akhirnya dapat mengakibatkan hancurnya pada sel bakteri. Kemungkinan ekstrak *Hibiscus sabdariffa* tidak memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri karena ada beberapa senyawa yang tidak dihasilkan dari ekstrak tersebut sehingga menurunkan efektivitas ekstrak dalam menghambat bakteri.

Pelarut tersebut dapat digunakan keperluan riset ini yakni aquades. Aquades adalah pelarut yang memiliki sifat netral, mudah didapat, murah, berwarna bening, tidak berbau, tidak beracun serta tidak memiliki rasa. Aquades bagian dari air hasil penyulingan yang sangat bebas melalui zat-zat pengotor hingga memiliki sifat murni dalam laboratorium oleh karena itu pelarut ini baik digunakan untuk ekstraksi¹⁵. Proses ekstraksi dapat mempengaruhi berbagai macam faktor, yakni perbandingan pelarut dengan bahan ekstraksi, jenis pelarut, tekanan, suhu, maupun waktu ekstraksi dan komponen bioaktif tumbuhan. Dengan keadaan suhu maupun temperatur yang sama, maka jenis pelarut serta komponen senyawa kimia ini terdapat pada tanaman yang menjadi suatu faktor dengan menentukan keberhasilan pada proses ekstraksi¹⁶.

Hasil penelitian yang telah dilakukan ekstrak *Hibiscus sabdariffa* menggunakan pelarut aquades tidak memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans*. Meskipun air atau aquades memiliki konstanta dielektrik yang sangat besar (paling polar) dengan demikian penggunaannya untuk pelarut pengestrak jarang dibutuhkan karena mempunyai kelemahan yaitu memiliki titik didih yang tinggi di bandingkan pelarut lainnya sehingga pada proses evaporasi (penguapan) akan lebih lama dan untuk pengeringan dibutuhkan waktu yang lama¹⁷. Hasil rendaman ekstrak rosella adalah 43% yang berbentuk pasta. Efektivitas ekstraksi suatu senyawa oleh

pelarut dapat tergantung kepada kelarutan senyawa tersebut dalam pelarut, sesuai dengan prinsip like dissolve like yakni suatu senyawa yang sangat larut terhadap pelarut dengan memiliki sifat yang sama. Suatu senyawa dapat larut pada pelarut dengan mempunyai kepolaran yang sama. Senyawa yang dihasilkan pada ekstrak rosella dengan pelarut aquades yaitu terdapat senyawa flavonoid, tanin, fenol dan saponin. Senyawa flavonoid yang dapat dibagi menjadi berbagai macam jenis, namun setiap jenis flavonoid memiliki kepolaran yang sangat berbeda namun tergantung dari jumlah serta posisi gugus hidroksil setiap jenis flavonoid dengan hal tersebut dapat mempengaruhi suatu kelarutan flavonoid terhadap pelarut¹³. Selain itu lemah maupun kuatnya berbagai macam aktivitas pada suatu senyawa yang dapat mempengaruhi berbagai macam faktor, antara lain adalah kandungan kimia herbal tersendiri yang dapat mempengaruhi seperti keadaan habitat seperti temperatur dan cahaya serta tempat rosella dapat dibudidayakan. Faktor-faktor dari penjelasan ini dapat mempengaruhi efektivitas ekstrak rosella yang tidak optimal dalam bekerja sebagai antibakteri¹⁸.

Lemahnya efektivitas *Hibiscus sabdariffa* ini karena dapat memungkinkan terjadi adanya kandungan fitokimianya serta dapat mengandung senyawa flavonoid, tannin, fenol, serta saponin yang kurang kuat serta akan menghambat kepada bakteri *S. mutans*. Dikarenakan banyak kerusakan yang terjadi pada proses ekstraksi akibat dosis yang terkandung terlalu sedikit dengan menggunakan pelarut aquades. Selain itu rendaman rosella 43% ini menunjukkan kandungan air dalam rendaman masih tinggi sehingga menyebabkan stabilitas dari senyawa aktif menurun¹⁹. Untuk itu perlu dilakukan uji Fraksinasi dan isolasi yang bagian dari suatu proses antar pemisahan jenis senyawa terdapat pada tumbuhan. Fraksinasi dan isolasi dapat dilaksanakan dengan memiliki tujuan yang diperuntukan memisahkan dalam kandungan senyawa utama terhadap golongan senyawa yang lainnya sehingga didapatkan senyawa yang keefektifannya lebih baik untuk menguji daya hambat bakteri.

Uji Antibiofilm Ekstrak *Hibiscus sabdariffa* L.

Terhadap Bakteri *S. mutans*

Riset ini dilakukan dengan memahami berbagai aktivitas ekstrak *Hibiscus sabdariffa* tanpa pelarut alkohol dapat menghambat produksi biofilm pada *S. mutans*. Akumulasi biofilm terhadap permukaan yang sangat padat terjadi dengan berlandaskan dua tahapan. Tahapan yang pertama adalah pembentukan *Extracellular Polymeric Substances* (EPS) serta pertumbuhan sel, sehingga sel biofilm terakumulasi. Selanjutnya pada tahapan kedua terjadi pada penempelan ataupun pelepasan. Bakteri dapat menggunakan berbagai macam organel ekstraseluler serta protein dengan melakukan penginderaan serta dapat menempel ke permukaan, termasuk bagian pili, flagel, protein luar membrane serta fimbriae. Oleh karena itu, yang menjadi perhatian untuk mencegah setiap pertumbuhan biofilm yakni adanya hambatan ataupun dapat mematikan sel untuk tidak bertambah

serta dapat mencegah terhadap pembentukan melalui EPS¹⁰. Biofilm yang terdiri melalui sel-sel mikroba serta (EPS) *Extracellular Polymeric Substances*. Bahan matriks primer biofilm adalah EPS karena dapat bisa mencakup 50-90% dari total karbon organik biofilm²⁰.

Uji penghambatan biofilm ini mempunyai cara kerja dengan cara melakukan pewarnaan komponen spesifik matriks menggunakan kristal violet. Biofilm *S. mutans* yang telah terbentuk setelah inkubasi tidak langsung dihitung melainkan diberi pewarna kristal violet. Kristal violet dapat menyatukan agar molekul tersebut dapat bermuatan negatif serta polisakarida melalui matriks ekstraseluler. Kemampuan dari kristal violet ini berfungsi sebagai pewarnaan sel-sel masih hidup ataupun mati serta matriks biofilm²¹.

Penilaian hasil uji antibiofilm membutuhkan alat spektrofotometer UV-Vis panjang gelombang 570 nm. Hasil penilaian ini dilaksanakan untuk menghitung jumlah biofilm yang tersisa pada tabung reaksi dengan satuan *optical density* (OD). Ekstrak *Hibiscus sabdariffa* menggunakan konsentrasi 500.000 ppm dengan pelarut aquades mampu menurunkan nilai absorbansi biofilm sekitar 31,58±13,5%, semakin rendah nilai absorbansi makapertumbuhan biofilm semakin rendah pula.

Mekanisme pembentukan biofilm oleh bakteri *S. mutans* dibagi menjadi dua fase yaitu *immature* dan *mature*. Fase *immature* merupakan fase awal dari pembentukan biofilm dimana bakteri berada dalam masa inkubasi selama 4 jam di sel host. Fase *mature* adalah keadaan dimana bakteri *S. mutans* telah mengalami masa inkubasi selama 24 jam di sel host²².

Terdapat beberapa mekanisme antibiofilm terhadap bakteri *S. mutans*. *N-acyl homo-serine lactones* (AHLs) merupakan salah satu target mekanisme antibiofilm dengan cara menghambat quorum sensing pada bakteri, sehingga reseptor pada bakteri tidak dapat menerima sinyal dari bakteri lain dan menyebabkan terhambatnya proses adhesi bakteri pada sel host. Penghambatan ini menjadi tujuan penghentian pembentukan biofilm pada permukaan sel host²³.

Mekanisme antibiofilm lain yang dapat terjadi pada bakteri yaitu penghambatan respon bakteri terhadap enzim metabolisme bakteri. Ketika enzim metabolisme *guanosine tetraphosphate* dan *guanosine pentaphosphate* ((p)ppGpp) dihambat, bakteri akan mengalami stress nutrisi. Hal ini menyebabkan bakteri tidak dapat melakukan metabolisme, sehingga biofilm pada bakteri *mature* akan rusak²³.

Pengikatan pada peptidoglikan juga menjadi salah satu cara dalam merusak biofilm. Ketika peptidoglikan pada bakteri diikat oleh senyawa aktif, komponen protein yang berada di dinding sel bakteri. Pelepasan endoysin juga berperan sebagai agen antibiofilm dengan cara mengikat dinding sel dan membelah dinding sel bakteri yang mengarah pada kerusakan sel karena lisis hipotonik dan kematian bakteri²³.

Proses penyebaran yang memfasilitasi biofilm untuk menyebarkan infeksi di dalam inang dan juga mengakibatkan transmisi bakteri antar inang yang berbeda diperankan oleh *Cyclic di-GMP* (c-di-GMP) merupakan second messenger yang berperan juga dalam pembentukan biofilm. Untuk itu jika c-di-GMP dihambat maka proses pembentukan biofilm juga akan tidak bisa terbentuk²³.

Beberapa molekul antibiofilm dilaporkan bekerja sangat efisien. Metabolit sekunder fisetin dan eskuletin diketahui dapat menghambat biofilm. Eskuletin mempengaruhi pematangan structural biofilm sehingga mengurangi ketebalannya. Sedangkan fisetin tidak hanya mengurangi ketebalan biofilm mature tetapi juga mengganggu inisiasi pembentukan biofilm, mengurangi area cakupan. Oleh karena itu, fisetin dianggap sebagai agen antibiofilm yang lebih baik daripada eskuletin²³.

Kemampuan senyawa metabolit sekunder dari tanaman herbal dalam menghambat pertumbuhan biofilm yang matur disebut Antibiofilm. Berdasarkan uji fitokimia ekstrak *Hibiscus sabdariffa* diketahui positif memiliki senyawa flavonoid, tanin, fenolik, saponin.

Dari penelitian yang telah dilakukan kemungkinan senyawa flavonoid, tanin, fenolik dan saponin dapat mengdegradasi biofilm 60% sampai 73% dikarenakan dapat menghambat salah satu mekanisme antibiofilm seperti telah di jelaskan pada uraian sebelumnya. Seperti di jelaskan pada penelitian sebelumnya jika senyawa flavonoid dan saponin mempengaruhi pertumbuhan biofilm melalui dengan menembus dinding sel bakteri sehingga dapat mengganggu sinyal untuk berkomunikasi (*Quorum sensing*) antar bakteri yang berperan dalam pembentukan biofilm ataupun menginaktivasi gen-gen terhadap bakteri yang dapat memicu sintesis EPS²⁴. Flavonoid ataupun tanin dapat bekerja dengan cara mengikat salah satu protein adhesin bakteri untuk dipakai menjadi reseptor permukaan bakteri hingga terjadinya penurunan daya perlekatan bakteri dan dapat menghambat sintesis protein dengan membentuk dinding sel. Senyawa fenolik memiliki kemampuan dalam meningkatkan permeabilitas membran sel, menghambat pembentukan biofilm dan mediator *quorum sensing*²⁵. Untuk itu perlu adanya pemeriksaan mikroskopis seperti *fluorescence microscopy* atau *confocal microscope* untuk uji biofilm agar mendeteksi molekuler yang bersifat spesifik.

KESIMPULAN

1. Berdasarkan hasil uji fitokimia ekstrak kelopak bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) dengan pelarut aquades menggunakan metode *ultrasonic assisted extraction* yang dilakukan secara kualitatif menghasilkan senyawa Flavonoid, Tanin, Fenol, dan Saponin.
2. Ekstrak kelopak bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) dengan pelarut aquades tidak memiliki daya hambat yang signifikan terhadap *S. mutans*.
3. Ekstrak kelopak bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) dengan pelarut aquades memiliki kemampuan menurunkan biofilm sebesar 31,58±13,5% .

SARAN

Peneliti menyarankan untuk mendukung riset berikutnya dengan kemajuan maupun pengembangan pada ilmu pengetahuan.

1. Pada penelitian lebih lanjut perlu dilakukan fraksinasi, isolasi dan uji kuantitatif senyawa aktif.
2. Pada penelitian lebih lanjut dilakukan pada fase pencegahan biofilm bukan pada biakan biofilm yang sudah matur.
3. Pada penelitian lebih lanjut perlu dilakukan pemeriksaan mikroskopis seperti *fluorescence microscopy* atau *confocal microscope* untuk uji biofilm agar mendeteksi molekuler yang bersifat spesifik

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang dan Ikatan Orang Tua Mahasiswa (IOM) selaku pemberi dana pada penelitian ini, serta tim penelitian yang telah membantu dalam penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kementerian Kesehatan RI. InfoDATIN Kesehatan Gigi Nasional September 2019. Pusdatin Kemenkes RI. 2019;1–6.
2. Rachfa MAF, Putri DKT, Dewi RK. Uji Kitosan Sisik Ikan Haruan (*Channa striata*) terhadap Aktivitas Enzim Glukosil Transferase *Streptococcus mutans*. *Dentin J Kedokt Gigi*. 2021;5(2):87–91.
3. Bagan J V, Vera-sempere F, Marzal C, Pellín-carcelén A, Martí-bonmatí E, Bagan L. Cytological changes in the oral mucosa after use of a mouth rinse with alcohol: A prospective double blind control study. 2012;17(6).
4. Calderón-montaña JM, Jiménez-alonso JJ, Guillén-mancina E, López-lázaro M. Alcohol-containing Mouthwashes and Oral Cancer: A Mechanistic Explanation. Preprints. 2018;(March):1–6.
5. Kumar PS, Raj AJ. Effects of Alcohol Containing Mouthwash on Oral Tissue: A Review. *Int J Sci Res*. 2015;6(6):1584–7.
6. Miranti M, Prasetyorini, Suwary C. Perbandingan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 30% dan 96% Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Ekologia*. 2013;13(1):9–18.
7. Ikalinus R, Widyastuti S, Eka Setiasih N. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa Oleifera*). *Indones Med Veterinus*. 2015;4(1):77.
8. Syafitri NE, Bintang M, Falah S. . Syafitri NE, Bintang M, Falah S. Kandungan Fitokimia, Total Fenol, dan Total Flavonoid Ekstrak Buah Harendong (*Melastoma affine* D. Don). *Curr Biochem*. 2014;1(3):105–15. 52. Kandung Fitokimia, Total fenol, dan Total flavonoid Ekstrak Buah Harendong. 2014;3(3):105.
9. Wulaisfan Randa, Musdalipah N. Aktivitas Ekstrak Kulit Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans* Penyebab Karies Gigi. 2019;1(2):126–32.
10. Kining E, Falah S, Nurhidayat N. The *In Vitro* Antibiofilm Activity of Water Leaf Extract of Papaya (*Carica papaya* L.) against *Pseudomonas aeruginosa*. *Curr Biochem*. 2017;2(3):150–63.
11. Manongko PS, Sangi MS, Momuat LI. Uji Senyawa Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L.). *J MIPA*. 2020;9(2):64.
12. Masyitoh MD, Dewanti IDAR, Setyorini D. Analisis Profil Protein Ekstrak Aquades dan Etanol Daun Mimba (*Azadirachta Indica* A. Juss) dengan Metode SDS-PAGE (Protein Profile Analysis of Aquadest and Ethanol Extract of Neem Leaves by Means of SDS-PAGE Method). *J Pustaka Kesehat*. 2016;4(3):533–9.
13. Verdiana M, Widarta IWR, Permana Idgm. Pengaruh Jenis Pelarut Pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Lemon (*Citrus limon* (Linn.) Burm F.). *J Ilmu dan Teknol Pangan*. 2018;7(4):213.
14. Hasanuddin P, Salnu S. BIOMA: Jurnal Biologi Makassar Uji Bioaktivitas Minyak Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) Antibacterial Activity Of Clove Oil (*Syzygium Aromaticum*) In Inhibiting The Growth Of *Streptococcus mutans* causing Dental Disease. on Line) [Internet]. 2020;5(2):241–50. Available from: <http://journal.unhas.ac.id/index.php/bioma>
15. Sa'adah H, Nurhasnawati H. Perbandingan Pelarut Etanol Dan Air Pada Pembuatan Ekstrak Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine Americana* Merr) Menggunakan Metode Maserasi. *J Ilm Manuntung*. 2017;1(2):149.
16. Yuliani H, Rasyid MI. Hilka Yuliani, Maya Indra Rasyid. *J Teknol Has Pertan*. 2019;6(2):347–52.
17. Prawitasari H, Yuniwati M. Pembuatan Serbuk Pewarna Alami Tekstil Dari Ekstrak Daun Jati Muda (*Tectona grandis* Linn. F.) Metode Foam-Mat Drying Dengan Pelarut Etanol. *J Inov Proses*. 2019;3(2):59–66.
18. Firdayani F, Winarni Agustini T. Ekstraksi Senyawa BIOaktif sebagai Antioksidan Alami *Spirulina Platensis* Segar dengan Pelarut yang Berbeda. *J Pengolah Has Perikan Indones*. 2015;18(1):28–37.
19. Luthfiyanti R, Iwansyah AC, Pamungkas NY, Triyono A. Decreasing The Quality Of Antioxidant Compounds And Water. *J Ris Teknol Ind*. 2020;14(1):1–12.
20. Homenta H. Infeksi Biofilm Bakterial. *J e-Biomedik*. 2016;4(1):1–11.
21. Yulia Dewi Z, Nur A, Hetriani T. Efek antibakteri dan penghambatan biofilm ekstrak sereh (*Cymbopogon nardus* L.) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. 2015;3:136–41.
22. Huang L, Lu W, Ning Y, Liu J. Reverse effects of *Streptococcus mutans* physiological states

- on neutrophil extracellular traps formation as a strategy to escape neutrophil killing. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022;12(November):1–14.
23. Roy R, Tiwari M, Donelli G, Tiwari V. Strategies for combating bacterial biofilms: A focus on anti-biofilm agents and their mechanisms of action. *Virulence.* 2018;9(1):522–54.
 24. Rahma D, Lestari S, Soegianto L, Hermanu LS. Potensi Antibakteri dan Antibiofilm Ekstrak Etanol Bunga Bintaro (*Cerbera odollam*) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 Fakultas Farmasi , Unika Widya Mandala Surabaya Antibacterial and Antibiofilm Potential of The Ethanolic Extract of Suicide Tree . 2017;4(1):30–5.
 25. Bouyahya A, Chamkhi I, Balahbib A, Rebezov M. Mechanisms, Anti-Quorum-Sensing Actions, and Clinical Trials of Medicinal Plant Bioactive Compounds against Bacteria: A Comprehensive Review. 2022;