

## EFEK ANTIBAKTERI DAN ANTIBIOFILM EKSTRAK KAYU SIWAK (*Salvadora persica*) TERHADAP *Streptococcus mutans*

Fazari Maulidina, Rio Risandiansyah, Arif Yahya\*  
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

### ABSTRAK

**Pendahuluan :** Mulut sebagai rongga masuknya makanan berpotensi menumbuhkan berbagai macam bakteri yang dapat berpengaruh terhadap kesehatan seseorang. *Streptococcus mutans* merupakan bakteri penyebab karies gigi dengan jumlah relatif besar. Siwak (*Salvadora persica*) adalah salah satu herbal yang biasa digunakan untuk menjaga kesehatan mulut dan gigi. Namun potensi antibakteri dan antibiofilm dari ekstrak kayu siwak tanpa alkohol belum diketahui.

**Metode :** Riset ini dikembangkan melalui riset eksperimental laboratorium secara in vitro. *Salvadora persica* yang diekstrak menggunakan pelarut aquades dengan metode UAE dan hasil dari ekstraksi dilakukan skrining fitokimia. Uji antibakteri dilakukan dengan metode Kirby-bauer sedangkan uji antibiofilm dilakukan dengan metode tube method. Analisis statistik memerlukan uji One-Way ANOVA serta T-Test.

**Hasil :** Skrining fitokimia ekstrak kayu siwak (*Salvadora persica*) dengan pelarut aquades ditemukan adanya senyawa tannin/fenol. Hasil diameter uji zona hambat *S. mutans* pada kelompok *Salvadora persica* konsentrasi 500.000 ppm, 50.000 ppm dan 5.000 ppm yaitu  $10,7 \pm 0,03$ ,  $0,0 \pm 0,0$  dan  $0,0 \pm 0,0$  mm. Hasil uji antibiofilm *S. mutans* berdasarkan OD570nm pada kelompok PBS adalah  $0,46 \pm 0,02$ , pada kelompok ekstrak *Salvadora persica* konsentrasi 500.000 ppm dengan nilai  $0,23 \pm 0,01$ , dan nilai pada kelompok Listerine® yaitu  $0,018 \pm 0,08$ . Ekstrak *Salvadora persica* konsentrasi 500.000 ppm dibandingkan dengan PBS.mampu mendegradasi biofilm secara signifikan.

**Kesimpulan :** Ekstrak kayu siwak (*Salvadora persica*) dengan pelarut aquades digolongkan lemah dalam menghambat pertumbuhan *S.mutans* tetapi mempunyai kemampuan mendegradasi biofilm

**Kata Kunci :** kayu siwak (*Salvadora persica*), zona hambat, anti biofilm, *Streptococcus mutans*.

\*Penulis Korespondensi :

Arif Yahya

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

e-mail: [arifyahya@unisma.ac.id](mailto:arifyahya@unisma.ac.id)

## ANTIBACTERIAL AND ANTIBIOFILM EFFECTS OF SIWAK WOOD EXTRACT (*Salvadora persica*) AGAINST *Streptococcus mutans*

Fazari Maulidina, Rio Risandiansyah, Arif Yahya\*  
Faculty of Medicine, Universitas Islam Malang

### ABSTRACT

**Introduction :** The mouth as a cavity for food to enter has the potential to grow various kinds of bacteria that can affect one's health. *Streptococcus mutans* is a relatively large number of bacteria that cause dental caries. Miswak (*Salvadora persica*) is one of the herbs commonly used to maintain oral and dental health. However, the antibacterial and anti-biofilm potential of non-alcoholic miswak wood extract is unknown.

**Methods:** This research was developed through in vitro laboratory experimental research. *Salvadora persica* was extracted using distilled water with the UAE method and the results of the extraction were subjected to phytochemical screening. The antibacterial test was carried out using the Kirby-bauer method, while the anti-biofilm test was carried out using the tube method. Statistical analysis requires a One-Way ANOVA test as well as a T-Test.

**Results:** Phytochemical screening of siwak wood extract (*Salvadora persica*) with distilled water found tannin/phenol compounds. The results of the diameter of the inhibition zone test for *S. mutans* in the *Salvadora persica* group at concentrations of 500,000 ppm, 50,000 ppm and 5,000 ppm were  $10.7 \pm 0.03$ ,  $0.0 \pm 0.0$  and  $0.0 \pm 0.0$  mm. The results of the *S. mutans* anti-biofilm test based on OD570nm in the PBS group were  $0.46 \pm 0.02$ , in the *Salvadora persica* extract group at a concentration of 500,000 ppm with a value of  $0.23 \pm 0.01$ , and in the Listerine® group it was  $0.018 \pm 0.08$ . *Salvadora persica* extract at a concentration of 500,000 ppm compared to PBS was able to significantly degrade biofilms.

**Conclusion :** Siwak wood extract (*Salvadora persica*) with distilled water is classified as weak in inhibiting the growth of *S. mutans* but has the ability to degrade biofilms.

**Keywords:** miswak wood (*Salvadora persica*), inhibition zone, anti-biofilm, *Streptococcus mutans*

\*Corresponding author :

Arif Yahya

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

e-mail: [arifyahya@unisma.ac.id](mailto:arifyahya@unisma.ac.id)

## PENDAHULUAN

Mulut sebagai rongga masuknya makanan berpotensi menumbuhkan berbagai macam bakteri yang nantinya dapat berpengaruh terhadap kesehatan seseorang. Menurut data Riskesdas di Indonesia tahun 2013 prevalensi masalah gigi hingga 25,9%.<sup>1</sup> Adapun penyebab dari masalah gigi adalah bakteri *Streptococcus mutans* dimana bakteri tersebut salah satu penyebab karies gigi yang berjumlah besar. *Streptococcus mutans* adalah flora normal yang biasanya muncul di rongga mulut dapat berubah menjadi patogen jika adanya peningkatan dalam jumlah koloni secara lebih. *Streptococcus mutans* berperan penting dalam pembentukan karies.

Obat kumur menjadi salah satu dari cara untuk melindungi kebersihan mulut maupun gigi juga menghambat pembentukan biofilm<sup>2</sup>. Dimana obat kumur yang digunakan oleh masyarakat Indonesia pada umumnya masih mengandung bahan alkohol dan mempunyai manfaat sebagai antiseptik. Namun, penggunaan alkohol pada obat kumur dengan jangka panjang dapat menyebabkan berbagai macam masalah dalam mulut yaitu mulut kering, produksi air liur berkurang dan beresiko gigi akan rusak.<sup>3</sup> Untuk menghindari penggunaan alkohol dapat menggunakan bahan alami yang bebas alkohol.

Bahan alami yang bersumber dari tanaman herbal dapat dijadikan sebagai opsi salah satunya kayu siwak. Siwak sangat mudah untuk digunakan dan terkenal dikalangan masyarakat. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Thioritz & Ilham, (2021) disebutkan bahwa penggunaan siwak dapat membawa banyak manfaat untuk kesehatan gigi dan mulut. Siwak memiliki peran untuk dapat membunuh bakteri yang menjadi penyebab gigi hingga karies (*Streptococcus mutans*) hal ini dikarenakan siwak mempunyai sifat anti jamur, antibakteri, anti kariogenik, anti plak, anti virus, dan mempunyai efek analgesik, anti-inflamasi maupun anti-oksidan<sup>5</sup>.

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Apriansi mendapatkan hasil terhadap konsentrasi 5% ekstrak serbuk kayu siwak dengan pelarut alkohol 96% dapat menghambat pada terjadinya pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* melalui zona hambat sekitar 360,315 mm<sup>2</sup>, semakin tingginya konsentrasi ekstrak pada serbuk kayu siwak maka luas zona akan dapat menghambat bentuk hingga pada konsentrasi 50%. Dari hasil riset yang dilakukan oleh Ruslinawati et al. Dengan menggunakan pelarut alkohol 96% selama 48 jam dilanjutkan dengan filtrasi dengan kelompok ekstrak siwak konsentrasi 50% berbeda dengan kelompok ekstrak siwak yang terjadi pada saat konsentrasi sebesar 25% serta 75% pada saat pembentukan terhadap plak gigi. Pemberian ekstrak siwak sebesar 50% menjadi konsentrasi paling efektif dalam menghambat pembentukan plak pada gigi<sup>6</sup>. Dengan demikian, riset yang akan dilakukan untuk mengetahui efektifitas siwak sebagai antibakteri pada obat

kumur berbahan herbal tanpa alkohol dibandingkan dengan obat kumur dengan alkohol. Penelitian ini akan dilakukan ekstraksi herbal kayu siwak (*Salvadora persica*) dengan pelarut aquades menggunakan metode UAE terhadap metode ekstraksi yang terbantu pada ultrasonik.

Riset ini dikembangkan secara *in vitro* dengan mengukur efektifitas dari ekstrak kayu siwak dapat menghambat pertumbuhan bakteri melalui metode Kirby-bauer dan uji antibiofilm dengan *tube method* bertujuan untuk mengetahui efek antibiofilm dan antibakteri terhadap ekstrak kayu siwak pada bakteri *S.mutans*.

## METODE PENELITIAN

### Design, Waktu dan Tempat Penelitian

Riset yang digunakan adalah eksperimental laboratorium dengan *in vitro*. Riset tersebut dilakukan di (LPRK) Laboratorium Pusat Riset Kedokteran Fakultas Kedokteran FK Unisma dan *Research Centre* Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya pada bulan November hingga Desember 2022.

### Pembuatan Ekstrak Kayu Siwak (*Salvadora persica*) dengan metode UAE

Simplisia dari batang siwak (*Salvadora persica*) yang didapat dari BMM (Batu Materi Medika) dalam bentuk serbuk selanjutnya diekstraksi dengan pelarut aquades dengan metode *Ultrasonic Assisted-Extraction* (UAE) di Laboratorium Pusat Riset Kedokteran FK Unisma. Tahap pertama dengan melaksanakan pada penimbangan simplisia yang dapat digunakan perbandingan 1 : 10 mencapai 50 gram simplisia *Salvadora persica* serta dilarutkan dalam 500 ml aquades. Kemudian diletakkan pada labu erlenmeyer dan ditutup menggunakan aluminium foil. Selanjutnya labu erlenmeyer diletakkan ke dalam *ultrasonic water bath* 35 kHz selama 15 menit. Selanjutnya sampel dapat disaring dengan memerlukan *buchner* sampai menghasilkan filtrat. Filtrat dituang ke gelas beaker yang telah dihitung berat kosongnya dengan rata-rata volume pengisian 50 ml filtrat setiap gelas. Semua gelas beaker yang berisi filtrat kemudian dioven dengan suhu 50°C sampai memperoleh ekstrak yang sangat kental.

### Skrinning Fitokimia Pada *Salvadora persica*

Skrinning fitokimia dapat dilakukan dengan mengidentifikasi pada kandungan didalam ekstrak *Salvadora persica*. Skrinning dilakukan oleh UPT. Batu Materi Medika dengan tahapan sebagai berikut:

#### 1. Flavonoid

Uji tabung dapat dilakukan melalui cara ekstrak kayu siwak dengan menambahkan 1 ml HCl pekat serta 0,5 g serbuk magnesium. Jika berbentuk warna kuning ataupun merah bahkan jingga terhadap larutan, menyatakan senyawa flavonoid.<sup>7</sup>

## 2. Alkaloid

Uji alkaloid dapat dilaksanakan melalui 3 pereaksi, yakni *dragendorff*, *bouchardat* serta *mayer*. Dengan adanya hasil baik pada senyawa alkaloid pereaksi mayer menetapkan pada bentuk pada endapan kekuningan sampai putih. Dengan pereaksi dragendorff, senyawa alkaloid terhadap bentuk endapan merah bata membentuk endapan dengan warna jingga, atau coklat orange. Terdapat hasil yang sangat baik terhadap uji bauchardat ditandai pada bentuk endapan coklat.<sup>8</sup>

## 3. Tannin / Fenol

Uji tanin tersebut dapat dilakukan melalui ekstrak kayu siwak yang dilarutkan pada air serta dapat bertambah 3 tetes pereaksi FeCl<sub>3</sub>. Terbentuknya warna hitam ataupun biru dengan membuktikan adanya senyawa pada tanin.<sup>7</sup>

## 4. Saponin

Uji saponin meliputi tahap ekstrakkayu siwak yang dapat dimasukkan pada tabung reaksi serta dikocok  $\pm$  1 menit serta ditambahkan air panas. Adanya saponin jika bentuk seperti busa dengan stabil yang tidak kurang dari 10 menit.<sup>9</sup>

## Sterilisasi Alat

Alat yang berbahan kaca seperti tabung reaksi, cawan petri, gelas beaker, tabung erlenmeyer perlu dibungkus menggunakan kertas dan alat yang akan disterilisasi diletakkan pada keranjang lalu dimasukkan ke dalam autoklaf. Alat ditutup dan ditunggu selama 2 jam hingga suhu pada alat turun di 60°C lalu autoklaf dibuka dan semua alat dikeluarkan dan disimpan di tempat steril.

## Persiapan dan Peremajaan Bakteri *Streptococcus mutans*

### Pembuatan Media NA

Serbuk (NA) *Nutrient Agar* dapat ditimbang dengan 7 gr lalu dimasukkan pada *schott bottle* dan dilarutkan didalam 250 ml aquades kemudian diaduk. *Schott bottle* berisi media diautoklaf dan dituang ke tabung reaksi untuk digunakan sebagai media miring.

### Pembuatan Inokulum Bakteri *Streptococcus mutans*

Koloni bakteri *S. mutans* ATCC yang dapat memperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi *Research Center* Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga. Koloni bakteri *S. mutans* diambil menggunakan oshe steril dari media agar lalu ditumbuhkan pada *Nutrien Agar* dan di inkubasi selama 24 jam setelah itu kultur bakter *S. mutans* diambil menggunakan oshe steril dan dicampur NaCL 0,9% dalam tabung reaksi lalu diaduk perlahan hingga mengeruh dan kekeruhan disesuaikan dengan 0,5 McFarland Standard kurang lebih berjarak 2,5 cm di depan dari *Wickerham Card*, bandingkan hingga warna kekeruhan sama.

Apabila suspensi bakteri *S. mutans* terlihat lebih keruh dari 0,5 McFarland Standard maka perlu ditambahkan larutan NaCL 0,9% ke dalam tabung suspense namun, jika suspense bakteri *S. mutans* terlihat lebih terang dibanding 0,5 McFarland Standard maka perlu ditambahkan bakteri *S. mutans* yang sudah di kultur ke dalam tabung suspensi untuk mendapatkan kekeruhan yang sesuai dengan nilai absorbansi.<sup>10</sup>

## Pengujian Daya Hambat *Salvadora persica* terhadap *S.mutans*

### Pembuatan Media MHA

Media yang digunakan untuk uji zona hambat menggunakan *Mueller-Hinton Agar*. Serbuk *Mueller-Hinton Agar* (MHA) ditimbang sebanyak 9,5 gr lalu dimasukkan pada *schott bottle* dan dilarutkan didalam 250 ml aquades kemudian diaduk. *Schott bottle* berisi media diautoklaf dan dituang ke cawan petri untuk digunakan sebagai media uji zona hambat.

### Menentukan Diameter Zona Hambat

Cawan petri yang sudah di sterilkan menggunakan autoclave diberi cakram disk yang masing – masing cakram berisi listerine dan ekstrak kayu siwak dengan konsentrasi 500.000 ppm, 50.000 ppm, serta 5.000 ppm lalu difiksasi menggunakan media MAH dengan menggunakan mikropipet setelah memadat media MAH dituang pada cawan petri dengan perlahan sebanyak 5 ml.

Suspensi bakteri *S. mutans* diisolasi ke dalam cawan petri menggunakan teknik *Spread Plate* dengan pengambilan suspensi bakteri *S. mutans* menggunakan cotton swab lalu diamkan cawan petri kurang lebih selama 5 menit. Berikutnya cawan petri yang dapat diinkubasi hingga 24 jam dengan suhu 30°C. Dalam 9 kali pengulangan. Zona bening pada area cakram diukur menggunakan jangka sorong<sup>10</sup>

## Pengujian Antibiofilm *Salvadora persica* terhadap *Streptococcus mutans*

### Pembuatan Media BHIB

Media dapat membutuhkan dengan uji antibiofilm menggunakan (BHIB) *Brain Heart Infusion Broth*. Serbuk BHIB ditimbang sebanyak 9,25 gr lalu dimasukkan pada *schott bottle* dan dilarutkan didalam 250 ml aquades kemudian diaduk. *Schott bottle* berisi media diautoklaf dan dituang ke tabung reaksi untuk digunakan sebagai media uji antibiofilm.

### Menentukan Uji Antibiofilm

Pada uji ini terbagi menjadi 3 kelompok yaitu kelompok PBS, Listerine, dan *Salvadora persica* konsentrasi 500.000 ppm. Bakteri *S. mutans* yang telah diinokulasi, ditanam pada tabung yang masing – masing berisi media BHIB 5 ml lalu diinkubasi selama 2x24 jam. Setelah itu disentrifugasi selama 15 menit agar menyisakan endapan dan diberikan larutan PBS 5 ml untuk membilas sebanyak 2 kali

dengan menggunakan mikro pipet. Setelah itu, dilakukan pengecatan menggunakan kristal violet ke masing – masing tabung dan dilakukan selama 4 jam agar terwarnai dengan sempurna, kemudian kristal violet pada tabung dibuang. Dari hasil pewarnaan ini dapat dinilai dengan pengamatan visual dari bakteri yang menempel pada dinding masing – masing tabung. Selanjutnya tabung reaksi diberikan larutan aquades 5 ml lalu dihitung menggunakan spektrofotometri dengan panjang gelombang 570 nm. Hasil nilai absorbansi dicatat sebagai nilai control. Kemudian, pada kelompok herbal diberikan ekstrak kayu siwak (*Salvadora persica*) dengan konsentrasi 500.000 ppm sebanyak 5 ml dan pada kelompok lainnya diberikan 5 ml listerine. Setelah itu kedua kelompok ini diinkubasi selama 24 jam, setelah diinkubasi larutan herbal dan listerine pada kedua kelompok tersebut dibuang kemudian sisa larutan tersebut diberi 1-2 ml aquades lalu dinilai menggunakan spektrofotometri. Hasil dari absorbansi yang didapat menjadi nilai kelompok ekstrak *Salvadora persica* dan listerine.

#### Analisa Data

Hasil tersebut telah diterima hingga dianalisa dengan memerlukan SPSS 25 for windows. Analisis diuji One-Way ANOVA serta T-Test hingga taraf signifikansi  $p < 0,05$

### HASIL DAN ANALISA DATA

#### Hasil Skrinning Fitokimia

Skrinning fitokimia yang dilakukan terhadap riset dari ekstrak kayu siwak (*Salvadora persica*) dengan pelarut aquades dan metode UAE meliputi uji flavonoid, alkaloid, tannin/fenol, serta saponin.

**Tabel 1 Hasil Skrinning Kualitatif  
Fitokimia ekstrak *Salvadora persica*.**

| Senyawa Aktif | Hasil Uji Fitokimia |
|---------------|---------------------|
| Flavonoid     | -                   |
| Alkaloid      | -                   |
| Tanin/Fenol   | +                   |
| Saponin       | -                   |

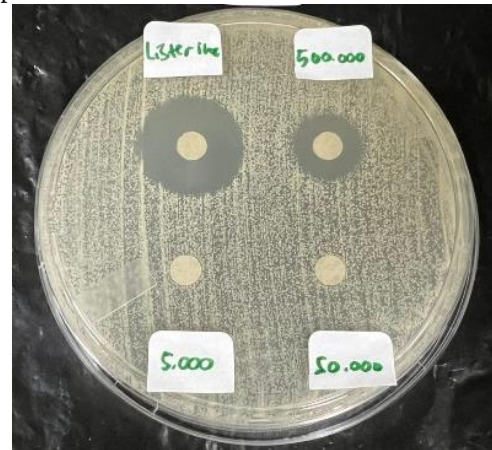
**Keterangan :** (-) tidak terdapat senyawa metabolit, (+) terdapat senyawa metabolit.

Dengan hasil skrinning fitokimia pada ekstrak kayu siwak (*Salvadora persica*) mengandung tannin/fenol. Uji tanin ditambahkan dengan FeCl<sub>3</sub>

menunjukkan hasil positif dengan tanda cokelat kehitaman, biru kehitaman, hijau kehitaman.

#### Hasil Pengukuran Zone of Inhibition Ekstrak Kayu Siwak (*Salvadora persica*) terhadap *S.mutans*

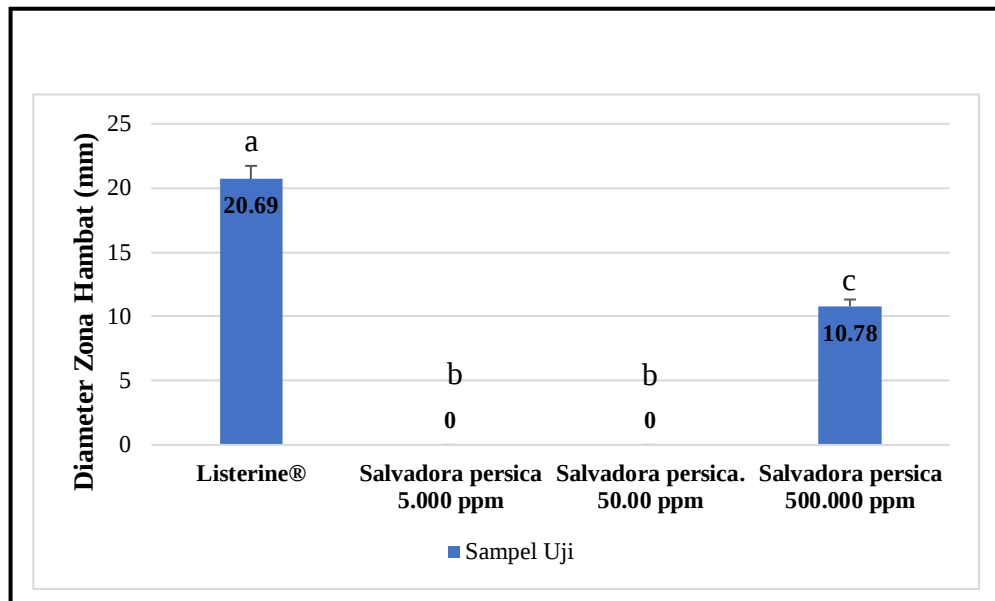
Hasil zone of inhibition ekstrak aquades (*Salvadora persica*) kayu siwak. dibandingkan dengan Listerine® pada pertumbuhan *S. mutans*, dapat dilihat **Gambar 1**.



**Gambar 1 Hasil ZOI (Zone of Inhibition) ekstrak kayu siwak (*Salvadora persica*) terhadap *S. mutans***

**Keterangan :** Hasil cawan berisi *S. mutans* yang telah diberi perlakuan setelah diinkubasi 24 jam. Tampak adanya zona bening atau zona hambat pertumbuhan bakteri pada sampel Listerine® dan *Salvadora persica* dengan konsentrasi 500.000 ppm, 50.000 ppm serta 5.000 ppm

Hasil zone of inhibition ekstrak *Salvadora persica* terhadap *S. mutans* yang dikerjakan sebanyak 9 kali pengulangan dengan masing-masing cawan berisi 4 kertas cakram berisikan Listerine®, ekstrak *Salvadora persica*, konsentrasi 500.000 ppm, 50.000 ppm serta 5.000 ppm. Hasil pengukuran yang telah dijelaskan di **Gambar 1**. Berdasarkan pada hasil uji zone of inhibition dijumpai bahwa zona bening hanya terlihat pada kelompok berisikan Listerine® dan konsentrasi 500.000 ppm ekstrak *Salvadora persica*. Sementara pada kelompok *Salvadora persica*, konsentrasi 50.000 ppm dan 5.000 ppm tidak menunjukkan adanya zona bening yang berarti dua kelompok tersebut tidak akan menghambat pada pertumbuhan *S. mutans*



Gambar 2 Diagram Kemampuan Antibakteri Sampel Uji Terhadap Pertumbuhan *S.mutans*

Keterangan : gambar di atas menunjukkan grafik diameter zona hambat antara 4 kelompok uji terhadap *S. mutans* serta hasil rata-rata pengukuran diameter zona bening pada kelompok Listerine® dan herbal *Salvadora persica*.

Tabel 2 Hasil Pengukuran *Zone of Inhibition*

|                  | <i>Zone of Inhibition</i> $\bar{x} \pm SD$ (mm) |                               |                              |                             |
|------------------|-------------------------------------------------|-------------------------------|------------------------------|-----------------------------|
|                  | Listerine®                                      | Salvadora persica 500.000 ppm | Salvadora persica 50.000 ppm | Salvadora persica 5.000 ppm |
| <i>S. mutans</i> | 20,69±1,28                                      | 10,7 ±0,031                   | 0 ± 0                        | 0 ± 0                       |

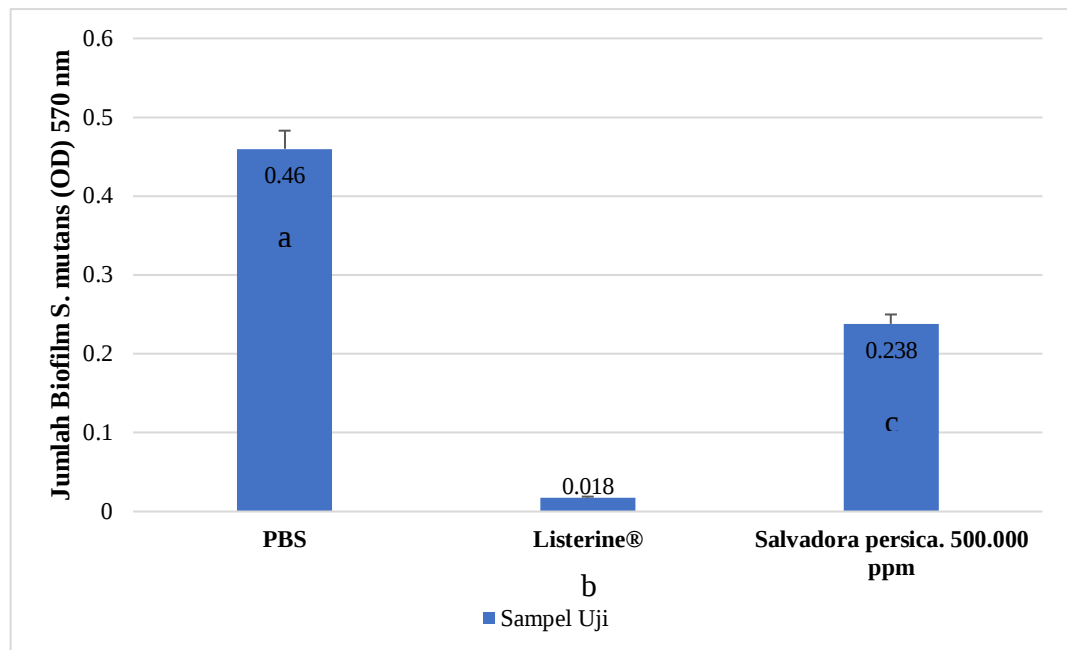
Tabel 3. Data Uji *Zone of Inhibition* Ekstrak Siwak

|               | Listerine | 500.000 | 50.000 | 5.000 |
|---------------|-----------|---------|--------|-------|
| Pengulangan 1 | 20,87     | 11,12   | —      | —     |
| Pengulangan 2 | 19,96     | 10,50   | —      | —     |
| Pengulangan 3 | 21,68     | 10,40   | —      | —     |
| Pengulangan 4 | 17,65     | 10,60   | —      | —     |
| Pengulangan 5 | 21,24     | 11,05   | —      | —     |
| Pengulangan 6 | 21,54     | 11,20   | —      | —     |
| Pengulangan 7 | 20,75     | 10,55   | —      | —     |
| Pengulangan 8 | 21,88     | 11,05   | —      | —     |
| Pengulangan 9 | 20,65     | 10,60   | —      | —     |

Berdasarkan hasil data uji normalitas data dengan memanfaatkan *Shapiro-Wilk* yang terdapat pada nilai  $p > 0.05$  dengan arti data terdistribusi normal. Berikutnya *Test of Homogeneity of Variances* terdapat pada nilai  $p > 0.05$  dengan makna data homogen serta dapat dilanjutkan melalui uji *T-test* yang didapatkan hasil nilai  $p > 0,05$ . Hasil ini diperoleh dengan menyatakan adanya perbedaan

pada kelompok Listerine® dan ekstrak *Salvadora persica* pada konsentrasi 500.000 ppm signifikan dimana kelompok Listerine® lebih baik dibandingkan dengan ekstrak *Salvadora persica* konsentrasi 500.000 ppm.

### Hasil Pengukuran Antibiofilm



**Gambar 3 Diagram Hasil Pengukuran Kemampuan Antibiofilm Sampel Uji Terhadap *S.mutans***

**Keterangan :** gambar di atas menunjukkan grafik hasil pengukuran biofilm *S. mutans* menggunakan alat spektrofotometer dengan panjang gelombang 570 nm. Terdapat 3 kelompok uji dimana hasil pengukuran menggunakan satuan OD (*Optical Density*).

**Tabel 4 Hasil Pengukuran Biofilm *S. mutans* yang telah diberi Sampel Uji**  
OD 570 nm ( $\bar{x} \pm SD$ )

| Sampel           | PBS         | Listerine®  | <i>Salvadora persica</i> .<br>500.000 ppm |
|------------------|-------------|-------------|-------------------------------------------|
| <i>S. mutans</i> | 0,460±0,021 | 0,018±0,008 | 0,238±0,016                               |

**Tabel 5. Data Uji Biofilm Ekstrak Siwak**

|               | 500.000 | Listerine | PBS   |
|---------------|---------|-----------|-------|
| Pengulangan 1 | 0,237   | 0,025     | 0,478 |
| Pengulangan 2 | 0,246   | 0,018     | 0,449 |
| Pengulangan 3 | 0,252   | 0,015     | 0,466 |
| Pengulangan 4 | 0,232   | 0,004     | 0,458 |
| Pengulangan 5 | 0,249   | 0,007     | 0,418 |
| Pengulangan 6 | 0,266   | 0,021     | 0,472 |
| Pengulangan 7 | 0,218   | 0,027     | 0,442 |
| Pengulangan 8 | 0,216   | 0,031     | 0,488 |
| Pengulangan 9 | 0,232   | 0,022     | 0,469 |

Hasil pengukuran antibiofilm dilakukan dengan menghitung jumlah *S. mutans* yang menempel pada dinding tabung rekasi menggunakan spektrofotometer. Hasil uji antibiofilm ditandai dengan adanya bintik-bintik kebiruan pada dinding tabung reaksi. Tiga kelompok uji masing-masing secara visual terlihat adanya bintik-bintik kebiruan. Hasil ekstrak *Salvadora persica* dibandingkan dengan Listerine® dan PBS yang mana pada setiap kelompok dilakukan 9 kali pengulangan. Nilai rata-rata tertinggi biofilm *S. mutans* pada kelompok PBS adalah  $0,460 \pm 0,021$ , pada kelompok ekstrak *Salvadora persica* dengan nilai rata-rata  $0,238 \pm 0,016$ , dan nilai rata-rata terendah  $0,018 \pm 0,08$  pada kelompok Listerine®.

Uji normalitas data menggunakan Shapiro-Wilk terdapat nilai  $p > 0.05$  dengan arti data terdistribusi normal. Berikutnya *Test of Homogeneity of Variances* terdapat pada nilai  $p > 0.05$  dengan makna data homogen serta dapat dilanjutkan dengan *One Way ANOVA* yang didapatkan hasil nilai  $p < 0,05$ . Nilai ini menyatakan bahwa adanya perbedaan hasil yang terjadi terhadap kelompok PBS, kelompok Listerine® dan ekstrak *Salvadora persica*. konsentrasi 500.000 ppm adalah signifikan dimana hasil kelompok Listerine® lebih baik dibandingkan ekstrak *Salvadora persica* dan PBS.

## PEMBAHASAN

### Kandungan Senyawa Aktif Ekstrak *Salvadora persica*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa skrining fitokimia pada ekstrak kayu siwak (*Salvadora persica*) dengan pelarut aquades dan metode UAE menunjukkan hasil positif pada uji tanin/fenol dengan tanda cokelat kehitaman, biru kehitaman, hijau kehitaman, namun negative pada uji lainnya. Sampel *Salvadora persica* diekstrak menggunakan pelarut aquades dimana pada penelitian sebelumnya terkait *Salvadora persica* telah dilakukan menggunakan pelarut polar lainnya seperti etanol dan etil asetat<sup>11,12</sup>. Pemilihan pelarut aquades bertujuan untuk mendapatkan kandungan senyawa *Salvadora persica* tanpa menggunakan alkohol dimana penggunaan alkohol dengan jangka waktu yang sangat panjang dapat mengakibatkan adanya masalah pada mulut. Aquades tergolong dalam pelarut yang bersifat polar. Proses penarikan pada suatu komponen yang aktif dan terkandung di dalam tanaman dengan membutuhkan bahan pelarut sesuai terhadap komponen aktifnya.<sup>7</sup>

Ekstraksi *Salvadora persica* menggunakan metode (UAE) *Ultrasonic Assisted Extraction* dengan hal tersebut dipilih karena efisien digunakan dimana waktu yang diperlukan relatif pendek dengan hasil yang lebih banyak. Hal ini didukung oleh penelitian terdahulu yang membandingkan metode Ekstraksi Ultrasonic dengan Maserasi kinetik pada aktivitas flavonoid ekstrak air daun sendok serta antioksidan kadar fenol, menunjukkan hasil

ekstraksi ultrasonic lebih besar dibandingkan dengan metode maserasi kinetik<sup>13</sup>. Metode (UAE) *Ultrasonic Assisted Extraction* mempunyai keuntungan yang dapat dibandingkan dengan metode ekstraksi maserasi yakni dengan mengoptimalkan pada penetrasi dari cairan hingga dinding sel, laju perpindahan massa yang lebih cepat, volume pelarut yang sangat sedikit, mengoptimalkan hasil ekstraksi, penggunaan suhu yang rendah, serta waktu dengan singkat bagian dari faktor dengan dipengaruhi pada ekstraksi terhadap metode UAE yakni pada saat ekstraksi<sup>14</sup>.

Riset yang dilakukan oleh Zahranisa (2022) menunjukkan bahwa senyawa yang terkandung pada siwak yang memiliki sifat asam contohnya flavonoid, tanin, mentol serta metil asetat yang berubah menjadi netral karena telah dinetralisir oleh kalsium karbonat dengan sifat basa<sup>15</sup>.

Riset yang dilakukan oleh Abhary (2016) juga menyatakan yang sama bahwa siwak menyimpan senyawa fitokimia dengan mempunyai manfaat pada bagian gigi ataupun mulut, contohnya Sulfur, alkaloid, butanediaida serta Nbenzyl-2-phenylacetamida sebagai klorida, fluorida serta antimikroba pada remineralisasi email gigi, tanin dengan mengurangi pada gingivitis serta plak gigi, dan vitamin C dapat menyembuhkan maupun memperbaiki pada jaringan telah rusak<sup>16</sup>.

Kandungan tannin yang terdapat pada ekstrak siwak yang dapat bekerja serta dapat mengganggu transport protein di dinding sel bakteri dengan menyeluruh. Dengan adanya gangguan pada transport protein terhadap dinding sel dengan menyeluruh dapat mengakibatkan menjadi mati dikarenakan dinding sel serta bakteri lisis yang menjadi tidak dapat terbentuk. Adapun target pada senyawa tanin dapat merusak pada dinding sel polipeptida bakteri dengan mengakibatkan pada dinding sel tidak dapat terbentuk secara maksimal. Kebanyakan senyawa antibakteri pada tumbuhan tidak akan larut terhadap air<sup>17</sup>.

Senyawa fenol ialah berbagai macam pada senyawa dengan berawal pada suatu tumbuhan, dengan memiliki ciri yang sama yakni cincin aromatik dengan mengandung satu ataupun dua penyulih hidroksil. Senyawa fenol yang cenderung sangat mudah di larutkan pada air, karena sering berikatan terhadap gula sebagai glikosida, serta biasanya terdapat pada vakuola sel. Berbagai macam senyawa fenol alam yang dapat mengetahui secara pasti. Sehingga, senyawa fenol dengan adanya bahan uji ialah selain flavonoid. Penggunaan fenol untuk kebutuhan kedokteran akan dijadikan sebagai antiseptikum. Dengan demikian, fenol memiliki sifat mengkoagulasikan protein<sup>18</sup>.

### Daya Hambat Ekstrak *Salvadora persica* terhadap *S. mutans*

Hasil riset ini menunjukkan bahwa ekstrak *Salvadora persica* dengan pelarut aquades pada

konsentrasi 500.000 ppm, 50.000 ppm, 5.000 ppm pada pertumbuhan *S. mutans* didapatkan hasil diameter zona hambat  $10,7 \pm 0,03$  dikonsentrasi 500.000 ppm, dimana konsentrasi 50.000 dan 500.000 didapatkan hasil  $0 \pm 0$  sehingga digolongkan lemah dalam menghambat pertumbuhan *S. mutans*.

Penelitian yang dilakukan oleh Arief menyatakan bahwa sediaan serum gigi ekstrak etanol siwak terhadap bakteri *Streptococcus mutans* menunjukkan bahwa formula F1 memiliki zona hambat sebesar 14,3 mm, pada formula F2 dan F3 memiliki zona hambat sebesar 20,19 mm dan 30,16 mm yang dikategorikan sebagai memiliki aktivitas yang sangat kuat terhadap *Streptococcus mutans*. Zona hambat adalah area bening yang ditunjukkan di sekitar kertas cakram atau media uji yang menunjukkan aktivitas antibakteri dari sampel yang diuji. Biasanya diperoleh dari pengujian antibakteri dengan cara difusi cakram atau difusi agar. Semakin luas diameter zona hambat yang dihasilkan, artinya semakin besar aktivitas antibakteri dari sampel tersebut. Zona hambat dapat digunakan sebagai indikator aktivitas antibakteri dari suatu sediaan atau obat yang diuji<sup>19</sup>.

Penelitian Yang dilakukan oleh Apriansi menunjukkan bahwa pemberian ekstrak serbuk kayu siwak dengan konsentrasi yang berbeda berpengaruh sangat nyata dan menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* pada penelitian ini mulai dihambat pada konsentrasi 5% sehingga merupakan konsentrasi hambat minimum. Penghambatan pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* ini terjadi hingga pada konsentrasi 25% dimana luas zona hambat yang terbentuk paling luas<sup>20</sup>.

#### **Kemampuan Antibiofilm *Salvadora persica* terhadap *S. mutans***

Hasil uji antibiofilm ditandai dengan adanya bintik-bintik kebiruan pada dinding tabung reaksi. Tiga kelompok uji masing-masing dinilai menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 570 nm, penilaian jumlah biofilm yang tersisa pada tabung reaksi dengan satuan *optical density* (OD). Hasil ekstrak *Salvadora persica* dengan pelarut aquades konsentrasi 500.000 ppm memiliki kemampuan mendegradasi biofilm sebesar 40 - 55%, sedangkan listerine mampu mendegradasi biofilm sebesar 93 – 99%.

Biofilm merupakan salah satu faktor virulensi signifikan yang dikendalikan oleh sistem Quorum Sensing (QS) pada spesies *Streptococcus* yang menempel pada permukaan hidup jaringan dan sel inang. Sebagian besar mikroba pembentuk biofilm resisten terhadap antibiotik. Hasil yang diperoleh dari khasiat ekstrak *S. persica* pada pembentukan biofilm bervariasi antara tiga spesies *Streptococcus* yang diteliti, meskipun itu tergantung konsentrasi. Penekanan maksimum pembentukan biofilm oleh ekstrak *S. persica* pada isolat bakteri diamati pada

MIC dengan persentase 68,66%, 62,20%, dan 47,90% terhadap *Streptococcus oralis*, *Streptococcus parasanguinis*, dan *Streptococcus mutans*, *S. persica* diekstraksi dengan metanol, etanol, kloroform, aseton, dan ekstrak air menunjukkan penekanan biofilm terhadap *Streptococcus mutans* kariogenik dengan persentase 87,92%, 85,75%, 72,44%, 61,66%, dan 58,68%<sup>21</sup>.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa siwak mengandung zat yang memiliki sifat penghambat plak gigi terhadap mikroba mulut. Menggosokkan siwak pada permukaan gigi efektif untuk mengurangi tingkat akumulasi plak. Siwak mengandung trimethylamine, zat ini yang sangat mudah larut pada air serta memiliki fungsi untuk *floatation agent* ataupun zat apung sehingga dapat mencegah deposit partikel serta endapan ataupun sisa makanan berada di sekitar rongga mulut yang khususnya di daerah interdental. Oleh karena itu, potensial sebagai antibakteri, trimethylamine dapat menghambat faktor adesi pada permukaan substrat sehingga menghambat terbentuknya biofilm bakteri<sup>22</sup>.

Selain itu, Noumi et al. (2017) melaporkan aksi antibiofilm ekstrak metanol *S. persica* terhadap spesies *Staphylococcus* oral dengan persentase penurunan 90% pada 20 mg/mL MIC<sup>21</sup>. Corehtash et al. (2015) menemukan bahwa tingkat resistensi yang tinggi adalah 92,4% dari isolat bakteri pembentuk biofilm. Terdeteksi bahwa kemampuan pembentukan biofilm secara signifikan lebih tinggi di antara bakteri yang resisten terhadap berbagai obat, yang dapat ditafsirkan sebagai akibat dari menunda penetrasi antibiotik di dalam sel bakteri. Masalah ini menyebabkan kesulitan dalam mengelola dan mengobati infeksi yang disebabkan oleh bakteri pembentuk biofilm<sup>23</sup>.

#### **KESIMPULAN**

Berlandaskan pada riset tersebut yang dapat disimpulkan yakni sebagai berikut :

1. Ekstrak *Salvadora persica* dengan pelarut aquades memiliki daya hambat lemah pada *S. mutans*.
2. Hasil skrining fitokimia ekstrak *Salvadora persica* secara kualitatif terdeteksi adanya senyawa Tanin/Fenol.
3. Ekstrak *Salvadora persica* dengan pelarut aquades mempunyai kemampuan mendegradasi biofilm.

#### **SARAN**

Dari riset yang telah dikembangkan adanya saran untuk riset berikutnya yakni :

1. Diperlukan riset lebih lanjut uji kuantitatif senyawa aktif .
2. Diperlukan riset menggunakan pelarut jenis lain untuk menarik lebih banyak senyawa aktif.

3. Diperlukan kelompok kontrol negatif pada uji zona hambat .
4. Diperlukan peningkatan dosis yang lebih tinggi dalam bentuk persen.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan untuk IOM serta Fakultas Kedokteran yang bersedia mendanai riset ini serta kepada *peer reviewer* yaitu Dr. dr. dini sri Damayanti, M.kes yang merupakan penguji kelayakan hasil, Mohammad Inwan yang telah membantu proses statistik serta Eta Radhianto, Amd.selaku laboran yang membantu dalam proses penelitian namun tidak dapat ditulis sebagai penulis jurnal.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Depkes RI. Laporan Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2013. Jakarta: Balitbang Kemenkes RI; 2013.
2. Oktanauli P, Taher P, Prakasa AD. Efek Obat Kumur Beralkohol Terhadap Jaringan Rongga Mulut (Kajian Pustaka). Jurnal Ilmiah dan Teknologi Kedokteran Gigi. 2017;13(1):4.
3. Talumewo M, C. M, M. W. Perbedaan efektivitas obat kumur antiseptik beralkohol dan non alkohol dalam menurunkan akumulasi plak Universitas Sam Ratulangi manado. 2015;
4. Thioritz E, Ilham K. pH Saliva Setelah Penggunaan Obat Kumur Siwak ( *Salvadora persica* ). Media Kesehatan Gigi. 2021;20(1):29–34.
5. Thioritz E, Ilham K. pH Saliva Setelah Penggunaan Obat Kumur Siwak ( *Salvadora persica* ). Media Kesehatan Gigi. 2021;20(1):29–34.
6. Amal RANMS. Aktivitas Antibakteri Kayu Siwak ( *Salvadora persica* ) Fraksi Eter Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara Invitro. Pharmaceutical Journal of Islamic Pharmacy. 2018;2(1):16.
7. Sulistyarini I, Sari DA, Wicaksono TA. Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga ( *Hylocereus polyrhizus* ). Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta. 2019;56–62.
8. Suleman IF, Sulistijowati R, Hamidah Manteu S, Nento WR, Teknologi J, Perikanan H, dkk. Identifikasi Senyawa Saponin Dan Antioksidan Ekstrak Daun Lamun ( *Thalassia hemprichii* ). Jambura Fish Processing Journal. 2022;4(2):94.
9. Hudzicki J. Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol Author Information. American Society For Microbiology. 2012;(December 2009):1–13.
10. Zona T, Staphylococcus H, Afdhila ZL, Elyani H, Yahya A, Afdhila ZL, dkk. Pengaruh Ekstrak Kloroform Dan Etil Asetat *Salvadora persica* The Effect of Chloroform and Ethyl Acetate Extract of *Salvadora persica* to Inhibition Zone of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus mutans* Metode Penelitian Desain dan Rancangan Penelitian Wak. Jurnal Kedokteran Komunitas. 2021;13.
11. Adriyati P, Santoso O. Pengaruh pemberian larutan ekstrak siwak ( *Salvadora persica* ) terhadap pembentukan plak gigi. 2012;1–18.
12. Lita. Perbandingan metode ekstraksi ultrasonik dengan maserasi kinetik terhadap aktivitas antioksidan, kadar fenol dan flavonoid total ekstrak air daun sendok. 2010;2010.
13. Xu DP, Zhou. Y, Zheng. J, Li. S, Li. AN, 2016. Li. Optimization of ultrasound-assisted extraction of natural antioxidants from the flower of *Jatropha Integerrima* by response surface methodology. Molecules. 21(1): 1 – 12. 2016;
14. Zahrannisa DL, Dewi IK. Evaluasi Mutu Fisik Sediaan Pasta Gigi Kombinasi Ekstrak Kayu Siwak ( *Salvadora persica* ) dan Daun Mint ( *Coleus amboinicus* L .). PHARMADEMICA: Jurnal Kefarmasian dan Gizi. 2022;2(1):31–41.
15. Abhary M, Al-Hazmi A. Antibacterial activity of Miswak ( *Salvadora persica* L.) extracts on oral hygiene ,” J. Taibah Univ. Sci., vol. 10, no. 4, pp. 513–520., 2016;
16. Dentisari MA, Mujoyanto R, Kusuma ARP. the Effectiveness of Siwak ( *Salvadora persica* ) Extract’S Killing Capability Against *Streptococcus Viridans* (in Vitro). Jurnal Medali. 2022;4(2):157.
17. Fatkhurrohman F, Medawati A. Efektifitas Ekstrak Etanol Kayu Siwak ( *Salvadora persica* L.) Dengan Metode Perkolasi Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus*

- Aureus* Isolat 248 Yang Resisten Multiantibiotik. Idj. 2013;2(2):37.
18. Arief M. Formulasi dan Evaluasi Serum Gigi Ekstrak Etanol Siwak (*Salvadora persica* L.). Jurnal Sains dan Kesehatan (J Sains Kes). 2023;5(2):198–204.
  19. Apriansi M. Pengaruh Ekstrak Serbuk Kayu Siwak (*Salvadora persica*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans*. Jurnal Agroqua. 2017;15(2):29–34.
  20. El-Sherbiny G. Exploitation of the antibacterial, antibiofilm and antioxidant activities of *Salvadora persica* (Miswak) extract. Journal of Bioresources and Bioproducts 8. 2022;
  21. Hamudeng AM, Yudia A, Firmansyah S. The role of miswak (*Salvadora persica*) contents in reducing plaque index Peranan kandungan siwak (*Salvadora persica*) dalam menurunkan indeks plak. Makassar Dental Journal. 2022;12(1):143–5.
  22. Corehtash ZG, Khorshidi A, Firoozeh F, Akbari H, Aznavah AM. Biofilm formation and virulence factors among pseudomonas aeruginosa isolated from burn patients. Jundishapur J Microbiol. 2015;8(10).
  23. Pratiwi AF, Pramesti HT, Kuswandani F. Plants for oral biofilms eradication: literature review. Journal of Syiah Kuala Dentistry Society. 2022;6(2):122–32.