

UJI ANTIMIKROBA MINYAK ATSIRI MASOYI (*Massoia aromatica*) TERHADAP BAKTERI *Streptococcus mutans*

Rollando Rollando, Yohan Susilo Adi Prasetyo, Rehmadata Sitepu

Program Studi Farmasi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Ma Chung, Malang, Indonesia

ABSTRAK

Karang gigi merupakan salah satu keadaan patologis dari gigi. Salah satu penyebab karang gigi adalah bakteri *Streptococcus mutans*. Bakteri tersebut tidak bekerja sendiri tetapi didukung oleh beberapa faktor lainnya yaitu host (gigi dan saliva), substrat (makanan), dan waktu. Salah satu cara yang dapat dilakukan dalam pencegahan tumbuhnya karang gigi adalah dengan mengontrol akumulasi plak pada permukaan gigi. Tumbuhan masoyi merupakan salah satu tumbuhan yang tumbuh di Indonesia. Dari kajian teoritis yang ada, minyak atsiri masoyi (*Massoia aromatica*) mengandung senyawa yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektifitas minyak atsiri masoyi (*Massoia aromatica*) sebagai antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dengan melihat nilai KBM (Kadar Bunuh Minimum) dan KHM (Kadar Hambat Minimum). Penentuan nilai KBM dan KHM dilakukan metode kualitatif dan kuantitatif. Pada pengujian dengan metode kualitatif dilakukan disc diffusion test, metode dilusi cair, dan metode dilusi padat. Sedangkan pada pengujian kuantitatif dilakukan metode mikrodilusi. Penelitian ini menggunakan 8 konsentrasi yaitu 2000, 1000, 500, 250, 125, 62,5, 31,25, dan 15,625 µg/mL. Hasil penelitian dengan metode kualitatif menunjukkan nilai KHM didapatkan pada konsentrasi 500 µg/mL dan nilai KBM didapatkan pada konsentrasi lebih dari 2000 µg/mL. Hasil penelitian dengan metode kuantitatif menunjukkan nilai IC50 85,047 µg/mL dan IC90 491,481 µg/mL. Kesimpulan dari penelitian ini adalah minyak atsiri masoyi (*Massoia aromatica*) terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

Kata Kunci :

Karang gigi, minyak atsiri, masoyi (*Massoia aromatica*), *Streptococcus mutans*

PENDAHULUAN

Infeksi merupakan salah satu masalah yang serius dalam bidang kesehatan khususnya kesehatan gigi yang terus berkembang di Indonesia. Salah satu penyebab penyakit infeksi adalah bakteri. Bakteri membuat suatu pertahanan diri dengan membentuk suatu lapisan lendir yang disebut dengan biofilm. Mikroorganisme mampu berkembang dengan cara yang kompleks dalam membentuk morfologi baru yang tumbuh pada permukaan yang dikenal sebagai biofilm. Biofilm dianggap sebagai mediator utama infeksi dengan perkiraan kejadian infeksi sebesar 80% (1).

Biofilm gigi diproduksi oleh komunitas bakteri dengan keanekaragaman hayati yang besar kurang lebih sebanyak 700 spesies bakteri. Dalam 24 jam pertama kolonisasi, bakteri streptokokus oral membentuk 60% sampai 90% biomassa plak supragingiva. *Streptococcus mutans* merupakan bakteri pembentuk biofilm dan dianggap sebagai agen etiologi utama dari karies gigi manusia. *Streptococcus mutans* memiliki berbagai kemampuan untuk menjajah permukaan gigi dan dalam kondisi tertentu terdapat dalam jumlah besar pada industri biofarmasi kariogenik dan membentuk biofilm dengan organisme lain, termasuk streptokokus dan bakteri lainnya. *Streptococcus mutans* menghasilkan enzim glukosil transferase (GTF) yang dapat mensintesis glukukan dari bagian glukosa sukrosa yang menyebabkan kariogenesis patogen gigi (2).

Salah satu tanaman obat yang dapat dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia adalah tanaman Masoyi. Tumbuhan Masoyi dimanfaatkan masyarakat Indonesia untuk mengobati beberapa penyakit seperti diare, demam, keputihan, kejang perut, dan pasca persalinan. Penelitian yang sudah pernah ada menyatakan bahwa tumbuhan Masoyi memiliki kandungan minyak atsiri yang dapat diperoleh dari kulit batang, batang, dan buah tanaman Masoyi (Rali et al, 2007). Minyak atsiri yang diperoleh dari kulit batang tumbuhan Masoyi dapat menghambat pembentukan biofilm oleh bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 50% dengan konsentrasi 0,03% v/v, sedangkan penggunaan minyak atsiri dari kulit batang tumbuhan Masoyi dengan konsentrasi 0,12% v/v dapat mengganggu biofilm yang sudah terbentuk sebesar 50% (3).

Sejauh ini efektifitas dan daya hambat antibakteri minyak atsiri dari ekstrak tumbuhan Masoyi (*Massoia aromatica*) terhadap bakteri *Streptococcus mutans* pada jaringan keras gigi belum banyak diteliti. Oleh karena itu, penelitian ini dibuat untuk mengetahui efektifitas antimikroba Minyak Atsiri Masoyi (*Massoia aromatica*) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Harapannya adalah Minyak Atsiri Masoyi (*Massoia aromatica*) dapat digunakan sebagai antimikroba terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* penyebab karang gigi.

Masuk 22-05-2019

Revisi 10-11-2019

Diterima 19-11-2019

Korespondensi

Rollando Rollando

ro.rollando@machung.ac.id

Copyright

© 2019 Majalah Farmasi

Farmakologi Fakultas

Farmasi · Makassar

Diterbitkan tanggal

19-11-2019

Dapat Diakses Daring

Pada:

<http://journal.unhas.ac.id>

/index.php/mff



METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoklaf (AC-300AE, Tiyoda Manufacturing Co. Ltd.), ose, lampu bunsen, cawan petri, microtiter plate 96-well, microtiter reader, pinset, tabung reaksi (Pyrex-Germany dan Iwaki), tabung eppendorf, inkubator (Sakura, Jepang), spektrofotometer UV-Vis, pipet, mikropipet 10-1000 μ L; 1-10 μ L (Acura 825, Socorex), rak tabung reaksi, spidol, kertas label, dan vortex.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah minyak atsiri *Massoia aromatica*, aquadest, DMSO, bakteri *Streptococcus mutans* ATTC 1576, media nutrient agar (NA), media nutrient broth (NB), kontrol positif berupa streptomisin dan obat kumur komersial, alkohol 70%.

Prosedur Kerja

Pembuatan Larutan Minyak Atsiri Masoyi

Pembuatan larutan uji dibuat dengan mengencerkan Minyak Atsiri Masoyi (*Massoia aromatica*) dalam beberapa konsentrasi yaitu 2000 μ g/mL, 1000 μ g/mL, 500 μ g/mL, 250 μ g/mL, 125 μ g/mL, 62,5 μ g/mL, 31,25 μ g/mL, dan 15,625 μ g/mL dengan menambahkan DMSO. Kemudian dibuat juga kontrol negatif (KN) yaitu biakan bakteri *Streptococcus mutans* dan kontrol positif (KP) yaitu larutan obat kumur komersial, larutan antibiotik streptomisin dan 1 mL Minyak Atsiri Masoyi 100%.

Pembiakan Bakteri *Streptococcus mutans* Dengan Media NB

Bakteri *Streptococcus mutans* dibiakkan pada medium cair dengan menggunakan media nutrient broth (NB) selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C.

Uji Antibakteri dengan Metode Disc Diffusion Test

Pengujian aktivitas antimikroba dilakukan metode disc diffusion test. Mikroba uji yang digunakan *Streptococcus mutans*. Dibuat seri konsentrasi larutan uji 2000 μ g/mL, 1000 μ g/mL, 500 μ g/mL, 250 μ g/mL, 125 μ g/mL, 62,5 μ g/mL, 31,25 μ g/mL, dan 15,625 μ g/mL. Sebanyak 5 μ L senyawa uji dengan delapan konsentrasi tersebut diteteskan ke paper disc. Sebelum ditempelkan pada media nutrient agar (NA) yang sudah berisi bakteri uji, paper disc yang berisi senyawa ditunggu sampai kering, yang menandakan pelarutnya sudah menguap. Digunakan kontrol positif ampisilin 10 mg/mL dan 5 μ L obat kumur komersial, kontrol minyak 5 μ L Minyak Atsiri Masoyi 100%, dan kontrol negatif 5 μ L etanol absolut steril (harus diuapkan). Kultur bakteri uji diinkubasi selama 24 jam, diamati zona hambatan di sekeliling paper disc.

Uji Antibakteri dengan Penentuan Nilai KHM

Penentuan nilai KHM (Kadar Hambat Minimum) dilakukan dengan menggunakan 2 ml media NB (nutrient broth) yang dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan dengan larutan uji dengan konsentrasi 2000 μ g/mL, 1000 μ g/mL, 500 μ g/mL, 250 μ g/mL, 125 μ g/mL, 62,5 μ g/mL, 31,25 μ g/mL, dan 15,625 μ g/mL sebanyak 1 ml, kemudian ditambahkan 1 ml biakan bakteri *Streptococcus mutans*. Kontrol positif dibuat dengan menggunakan media NB sebanyak 2 ml yang ditambahkan dengan 1 ml antibiotik streptomisin 10 mg/mL, kemudian ditambahkan 1 ml biakan bakteri *Streptococcus mutans*. Sedangkan untuk membuat kontrol negatif, dilakukan dengan menambahkan 2 ml biakan bakteri *Streptococcus mutans* ke dalam 2 ml media NB. Setelah itu, semua larutan uji, kontrol positif dan kontrol negatif diinkubasi selama 1 hari (24 jam), kemudian diamati

kekeruhan pada larutan. Parameter yang digunakan adalah kekeruhan pada larutan uji.

Uji Antibakteri dengan Penentuan Nilai KBM

Uji penentuan nilai KBM (Kadar Bunuh Minimum) dilakukan dengan cara menggoreskan sebanyak satu ose larutan uji yang digunakan untuk uji penentuan nilai KHM pada media NA (nutrient agar) yang sudah disiapkan di dalam cawan petri. Larutan yang digunakan adalah larutan uji penentuan KHM yang bening/tidak ada tanda-tanda pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Kemudian diinkubasi selama 1 hari (24 jam). Parameter yang digunakan adalah ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri pada media agar tersebut yang ditandai dengan ada atau tidaknya daerah atau bintik-bintik berwarna putih pada media agar.

Uji Efektifitas Antibakteri dengan Metode Mikrodilusi

Uji penentuan nilai IC₅₀ dan IC₉₀ dilakukan dengan metode mikrodilusi yang menggunakan microplate GREINER 96 U-BOTTOM. Sumuran-sumuran yang ada pada plate akan diisi dengan larutan uji (konsentrasi 2000 μ g/mL, 1000 μ g/mL, 500 μ g/mL, 250 μ g/mL, 125 μ g/mL, 62,5 μ g/mL, 31,25 μ g/mL, dan 15,625 μ g/mL), media NB, suspensi bakteri *Streptococcus mutans*, obat kumur komersial, dan larutan antibiotik streptomisin.

Nilai IC₅₀ dan IC₉₀ dilakukan dengan cara ke dalam sumuran dimasukkan 50 μ L media NB, 50 μ L suspensi bakteri uji yang telah disesuaikan kekeruhannya dengan standar McFarland 0,5, dan 100 μ L larutan uji dengan seri konsentrasi 2000 μ g/mL, 1000 μ g/mL, 500 μ g/mL, 250 μ g/mL, 125 μ g/mL, 62,5 μ g/mL, 31,25 μ g/mL, dan 15,625 μ g/mL. Sebagai kontrol minyak dimasukkan ke sumuran 100 μ L Minyak Atsiri Masoyi 100%, kontrol bakteri uji digunakan 200 μ L bakteri uji, kontrol positif (3 sumuran) digunakan larutan streptomisin 10 mg/mL sebanyak 100 μ L dan bakteri uji sebanyak 100 μ L, dan kontrol positif (2 sumuran) digunakan larutan obat kumur komersial sebanyak 100 μ L dan bakteri uji sebanyak 100 μ L.

Pengamatan dilakukan setelah inkubasi selama 24 jam dan 48 jam. Densitas sel dihitung menggunakan instrumen microplate reader dengan pengukuran pada panjang gelombang UV pada 595 nm untuk mendapatkan absorbansi dari sel bakteri yang telah diberi perlakuan senyawa uji dan absorbansi sel bakteri yang tidak diberi perlakuan senyawa uji (kontrol). Nilai IC₅₀ dan IC₉₀ didapatkan dengan menghitung %penghambatan dan dianalisis menggunakan analisis probit dengan program SPSS for Windows versi 16.0 Free Trial.

Uji Efektifitas Antibakteri dengan Metode Mikrodilusi

Persen penghambatan pertumbuhan bakteri uji dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$\% \text{ penghambatan} = \frac{\text{OD Kontrol Bakteri} - (\text{OD Larutan Uji} - \text{OD Kontrol Minyak})}{\text{OD Kontrol Bakteri}} \times 100$$

Keterangan: OD = *Optical Density* yang diamati pada panjang gelombang 595 nm

Kemudian dianalisis dengan menggunakan analisis probit dengan program SPSS (*Statistical Product of Service Solution*) for Windows versi 16.0 Free Trial. Nilai KBM dinyatakan sebagai konsentrasi terkecil pada bekas goresan larutan uji yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan mikroba uji setelah inkubasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Disc diffusion test atau uji difusi disk merupakan salah satu metode yang dapat dilakukan untuk uji efektifitas antibakteri

yaitu dilakukan dengan cara mengukur diameter zona bening (*clear zone*), dimana zona bening yang muncul merupakan petunjuk adanya respon positif untuk melakukan penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri (6). Hasil uji *disc diffusion test* dengan seri konsentrasi 2000 µg/mL, 1000 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL, 125 µg/mL, 62,5 µg/mL, 31,25 µg/mL, 15,625 µg/mL, kontrol positif dan kontrol negatif disajikan pada **Gambar 1** dan **Tabel 1**. Dari hasil uji dengan metode *disc diffusion test* yang dilakukan ini dapat diketahui bahwa setiap larutan sampel Minyak Atsiri Masoyi dengan seri konsentrasi yang berbeda-beda dapat menghasilkan zona bening (*clear zone*) pada area sekitar *disc*. Oleh karena itu, larutan sampel Minyak Atsiri Masoyi dengan seri konsentrasi yang digunakan dapat memberikan respon penghambatan pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

Tabel 1. Diameter Zona Bening Uji Antibakteri dengan Metode Disc Diffusion Test

Disc	Konsentrasi (µg/mL)	Replikasi 1 (mm)	Replikasi 2 (mm)	Replikasi 3 (mm)
1	2000	13	14	13
2	1000	12	14	13
3	500	14	12	14
4	250	13	13	12
5	125	12	12	12
6	62,5	11	12	12
7	31,25	12	12	12
8	15,625	12	12	12
P1	Kontrol Positif (obat kumur komersil)	0	0	0
P2	Kontrol Positif (antibiotik ampicilin)	17	20	18
N1	Kontrol Negatif	0	0	0
N2	Kontrol Minyak (minyak atsiri masoyi)	15	14	14

Hasil uji antibakteri dengan penentuan nilai KHM (Kadar Hambat Minimum) pada konsentrasi 2000 µg/mL, 1000 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL, 125 µg/mL, 62,5 µg/mL, 31,25 µg/mL, 15,625 µg/mL disajikan pada **Gambar 2**. Pada tabung 1 sampai tabung 3 dengan masing-masing konsentrasi larutan uji 2000 µg/mL, 1000 µg/mL, 500 µg/mL, tampak larutan mulai jernih dan tidak tampak adanya gumpalan/selaput yang tumbuh. Sedangkan pada tabung 4 sampai tabung 8 dengan masing-masing konsentrasi larutan uji 250 µg/mL, 125 µg/mL, 62,5 µg/mL, 31,25 µg/mL, 15,625 µg/mL, tampak larutan yang tidak terlalu keruh dan terdapat gumpalan/selaput yang menandakan adanya pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* pada larutan tersebut.



Gambar 1. Kurva persamaan regresi linier aktivitas antioksidan perasan jeruk manis.

Dari hasil yang didapatkan, dapat diketahui bahwa konsentrasi 500 µg/mL merupakan konsentrasi terkecil yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Hal tersebut ditunjukkan dengan warna larutan tidak keruh dan tidak adanya gumpalan/selaput biofilm yang terbentuk di dalam larutan. Dengan demikian, larutan sampel pada tabung 3 yaitu larutan uji dengan seri konsentrasi minyak atsiri masoyi 500 µg/mL dapat dinyatakan sebagai nilai KHM.



Gambar 2. Hasil Uji Penentuan Nilai KHM.



2000 µg/mL



1000 µg/mL



500 µg/mL

Gambar 3. Hasil Uji Penentuan Nilai KBM.

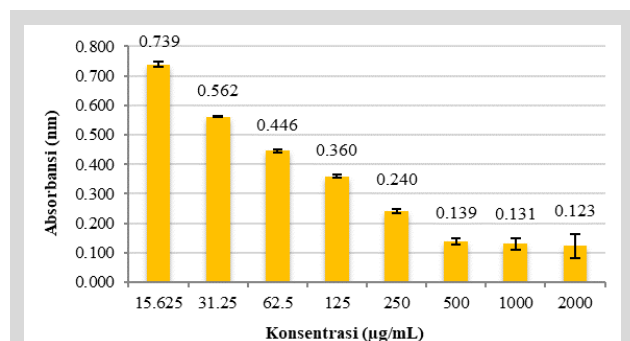
Penentuan nilai KBM (Kadar Bunuh Minimum) pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan larutan uji dengan tiga konsentrasi dari uji penentuan KHM yaitu 2000 µg/mL, 1000 µg/mL, dan 500 µg/mL karena tiga konsentrasi

tersebut yang menunjukkan adanya kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri pada uji penentuan nilai KBM yang dilakukan sebelumnya. Dengan menggunakan konsentrasi yang sudah diketahui bahwa memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* tersebut, diharapkan media agar tetap jernih yang berarti larutan uji dengan masing-masing seri konsentrasi yang diberikan dapat membunuh bakteri *Streptococcus mutans*. Hasil uji penentuan nilai KBM dengan konsentrasi 2000 µg/mL, 1000 µg/mL, 500 µg/mL disajikan pada **Gambar 3**.

Setelah diinkubasi selama 1 hari (24 jam), didapatkan hasil dari uji penentuan nilai KBM yang ditunjukkan pada **Gambar 3**. Hasil yang didapatkan diamati secara visual secara langsung. Hasil tersebut menunjukkan bahwa pada semua cawan petri yang sudah diisi dengan media NA dan digores dengan larutan sampel dengan masing-masing konsentrasi yang digunakan, bakteri *Streptococcus mutans* masih dapat bertumbuh yang ditandai dengan munculnya bercak-bercak pada media NA yang digunakan. Pada konsentrasi tertinggi yang digunakan yaitu 2000 µg/mL pada penelitian ini, bakteri *Streptococcus mutans* juga masih dapat beradaptasi dan bertumbuh. Hal tersebut menunjukkan bahwa semua konsentrasi yang digunakan pada penelitian ini tidak mampu untuk membunuh bakteri *Streptococcus mutans*. Dengan demikian, nilai KBM pada penelitian ini dapat dinyatakan lebih besar dari konsentrasi 2000 µg/mL.

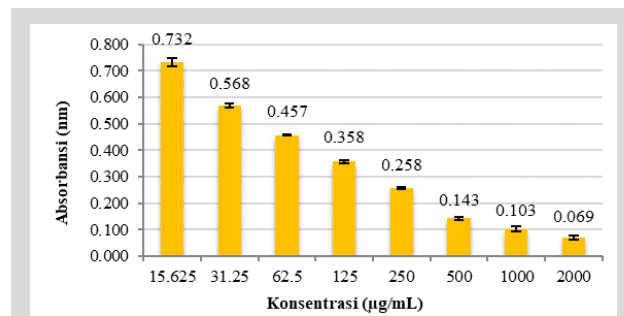
Metode mikrodilusi merupakan pengembangan dari metode dilusi cair yang menggunakan media, bakteri, dan senyawa uji dalam jumlah yang sedikit dan menggunakan alat *microplate 96 wells*. Pada metode ini kekeruhan dari larutan pada *microplate 96 wells* diamati sebagai nilai kerapatan optik (*optical density/OD*) dengan menggunakan instrumen *microplate reader* yang diaplikasikan dalam nilai absorbansi. Pada penelitian ini dilakukan uji efektifitas antibakteri dengan metode kuantitatif untuk mendapatkan nilai IC₅₀ (*inhibitor concentration 50%*) dan IC₉₀ (*inhibitor concentration 90%*). Semakin kecil nilai IC₅₀ dan IC₉₀ maka semakin potensial efek hambat ekstrak tersebut dalam menghambat pembentukan bakteri. Dengan diketahuinya nilai IC₅₀ dan IC₉₀ maka dapat menyimpulkan data konsentrasi yang lebih akurat dalam kemampuan sampel untuk menghambat dan membunuh bakteri.

Pada penelitian ini digunakan dua *microplate*, *microplate* pertama digunakan untuk sampel dengan inkubasi selama 24 jam, sedangkan *microplate* kedua digunakan untuk sampel dengan inkubasi selama 48 jam. Hal tersebut dilakukan untuk mengetahui perbedaan besar pertumbuhan bakteri dengan inkubasi selama 24 jam dan dengan inkubasi selama 48 jam. Hasil nilai rata-rata absorbansi/OD pertumbuhan bakteri dengan inkubasi selama 24 jam ditunjukkan pada **Gambar 4**, sedangkan hasil nilai rata-rata absorbansi/OD pertumbuhan bakteri dengan inkubasi selama 48 jam ditunjukkan pada **Gambar 5**.



Gambar 4. Hasil Skrining (Inkubasi 24 Jam)

Setelah diinkubasi selama 1 hari (24 jam), didapatkan hasil dari uji penentuan nilai KBM yang ditunjukkan pada gambar 3. Hasil yang didapatkan diamati secara visual secara langsung. Hasil tersebut menunjukkan bahwa pada semua cawan petri yang sudah diisi dengan media NA dan digores dengan larutan sampel dengan masing-masing konsentrasi yang digunakan, bakteri *Streptococcus mutans* masih dapat bertumbuh yang ditandai dengan munculnya bercak-bercak pada media NA yang digunakan. Pada konsentrasi tertinggi yang digunakan yaitu 2000 µg/mL pada penelitian ini, bakteri *Streptococcus mutans* juga masih dapat beradaptasi dan bertumbuh. Hal tersebut menunjukkan bahwa semua konsentrasi yang digunakan pada penelitian ini tidak mampu untuk membunuh bakteri *Streptococcus mutans*. Dengan demikian, nilai KBM pada penelitian ini dapat dinyatakan lebih besar dari konsentrasi 2000 µg/mL.



Gambar 5. Hasil Skrining (Inkubasi 48 Jam)

Metode mikrodilusi merupakan pengembangan dari metode dilusi cair yang menggunakan media, bakteri, dan senyawa uji dalam jumlah yang sedikit dan menggunakan alat *microplate 96 wells*. Pada metode ini kekeruhan dari larutan pada *microplate 96 wells* diamati sebagai nilai kerapatan optik (*optical density/OD*) dengan menggunakan instrumen *microplate reader* yang diaplikasikan dalam nilai absorbansi. Pada penelitian ini dilakukan uji efektifitas antibakteri dengan metode kuantitatif untuk mendapatkan nilai IC₅₀ (*inhibitor concentration 50%*) dan IC₉₀ (*inhibitor concentration 90%*). Semakin kecil nilai IC₅₀ dan IC₉₀ maka semakin potensial efek hambat ekstrak tersebut dalam menghambat pembentukan bakteri. Dengan diketahuinya nilai IC₅₀ dan IC₉₀ maka dapat menyimpulkan data konsentrasi yang lebih akurat dalam kemampuan sampel untuk menghambat dan membunuh bakteri.

Tabel 2. Hasil Nilai Absorbansi/OD dan Besar Nilai % Penghambatan (inkubasi 24 Jam)

Konsentrasi (µg/mL)	OD Larutan (nm)	SD	% Penghambatan (%)
15,625	0,739	0,0074	2,166
31,25	0,562	0,0017	29,281
62,5	0,446	0,0046	47,018
125	0,360	0,0042	60,219
250	0,240	0,0068	78,466
500	0,136	0,0115	93,960
1000	0,131	0,0021	95,260
2000	0,123	0,0049	96,483

Pada penelitian ini digunakan dua *microplate*, *microplate* pertama digunakan untuk sampel dengan inkubasi selama 24 jam, sedangkan *microplate* kedua digunakan untuk sampel dengan inkubasi selama 48 jam. Hal tersebut dilakukan untuk mengetahui perbedaan besar pertumbuhan bakteri dengan inkubasi selama 24 jam dan dengan inkubasi selama 48 jam. Hasil nilai rata-rata absorbansi/OD pertumbuhan bakteri dengan inkubasi selama 24 jam ditunjukkan pada gambar 4, sedangkan hasil nilai rata-rata absorbansi/OD pertumbuhan bakteri dengan inkubasi selama 48 jam ditunjukkan pada **Gambar 5**.

Dari data skrining tersebut juga dapat diketahui besar nilai rata-rata absorbansi/OD dan dapat dihitung besar nilai % penghambatan untuk masing-masing konsentrasi yang digunakan. Nilai absorbansi/OD untuk tiap konsentrasi dapat dihitung dari rata-rata dari empat replikasi larutan uji dari masing-masing konsentrasi. Sedangkan besar nilai % penghambatan untuk tiap konsentrasi dapat dihitung dengan persamaan % penghambatan. Hasil besar nilai absorbansi/OD dan besar nilai % penghambatan pada perlakuan dengan inkubasi 24 jam untuk tiap konsentrasi ditunjukkan pada **Tabel 2**, sedangkan Hasil besar nilai absorbansi/OD dan besar nilai % penghambatan pada perlakuan dengan inkubasi 48 jam untuk tiap konsentrasi ditunjukkan pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Hasil Nilai Absorbansi/OD dan Besar Nilai % Penghambatan (inkubasi 48 Jam)

Konsentrasi (µg/mL)	OD Larutan (nm)	SD	% Penghambatan (%)
15,625	0,732	0,0156	12,940
31,25	0,568	0,0081	35,642
62,5	0,457	0,0025	50,853
125	0,358	0,0047	64,594
250	0,258	0,0046	78,335
500	0,143	0,0070	94,190
1000	0,107	0,0085	99,153
2000	0,105	0,0079	99,498

Berdasarkan hasil yang ditunjukkan pada **Tabel 2**, dapat dilihat bahwa dengan perlakuan inkubasi selama 24 jam didapatkan hasil semakin tinggi konsentrasi maka nilai absorbansi/OD dari larutan uji semakin rendah (berbanding terbalik). Sedangkan untuk nilai % penghambatan, semakin tinggi konsentrasi maka semakin tinggi juga nilai % penghambatan (berbanding lurus). Hal tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi yang digunakan, maka semakin besar juga kemampuan Minyak Atsiri Masoyi sebagai antibakteri. Setelah diperoleh hasil data % penghambatan, nilai IC₅₀ dan IC₉₀ (inkubasi 24 jam) ditentukan dengan analisis probit menggunakan program *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versi 16. Hasil analisis probit yang menunjukkan nilai IC₅₀ dan IC₉₀ (inkubasi 24 jam) ditunjukkan pada tabel 4, sedangkan hasil analisis probit yang menunjukkan nilai IC₅₀ dan IC₉₀ (inkubasi 48 jam) ditunjukkan pada **Tabel 5**.

Tabel 4. Hasil Analisis Probit (24 Jam)

Bakteri	IC ₅₀ (µg/mL)	IC ₉₀ (µg/mL)
<i>Streptococcus mutans</i>	85,047	491,481

Tabel 5. Hasil Analisis Probit (48 Jam)

Bakteri	IC ₅₀ (µg/mL)	IC ₉₀ (µg/mL)
<i>Streptococcus mutans</i>	64,849	383,908

Dari hasil yang ditunjukkan pada tabel 4, dapat dilihat bahwa nilai IC₅₀ adalah 85,047 µg/mL dan nilai IC₉₀ adalah 491,481 µg/mL. Dengan nilai IC₅₀ = 85,047 µg/mL, berarti pada konsentrasi larutan uji sebesar 85,047 µg/mL dapat menghambat pertumbuhan bakteri sebanyak 50%. Sedangkan dengan nilai IC₉₀ = 491,481 µg/mL, berarti pada konsentrasi larutan uji sebesar 491,481 µg/mL dapat menghambat pertumbuhan bakteri sebanyak 90%.

Dari hasil yang ditunjukkan pada tabel 5, dapat dilihat bahwa nilai IC₅₀ adalah 64,849 µg/mL dan nilai IC₉₀ adalah 383,908 µg/mL. Dengan nilai IC₅₀ = 64,849 µg/mL, berarti pada

konsentrasi larutan uji sebesar 64,849 µg/mL dapat menghambat pertumbuhan bakteri sebanyak 50%. Sedangkan dengan nilai IC₉₀ = 383,908 µg/mL, berarti pada konsentrasi larutan uji sebesar 383,908 µg/mL dapat menghambat pertumbuhan bakteri sebanyak 90%.

Dari pengujian antibakteri dengan metode kualitatif dan kuantitatif tersebut dapat dinyatakan bahwa Minyak Atsiri Masoyi (*Masosia aromatica*) dapat efektif digunakan sebagai antibakteri *Streptococcus mutans*. Adanya penurunan jumlah koloni bakteri yang tumbuh seiring dengan peningkatan konsentrasi Minyak Atsiri Masoyi, hal tersebut membuktikan bahwa adanya efek penghambatan pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Kadar penghambatan pertumbuhan bakteri minimum yang dihasilkan pada metode kualitatif dan kuantitatif (inkubasi 24 jam) memiliki hasil yang mirip/berdekatan yaitu nilai IC₉₀ sebesar 491,481 µg/mL dan nilai KHM (uji kualitatif) sebesar 500 µg/mL. Dengan demikian, konsentrasi minyak atsiri lebih dari 490 µg/mL dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

Secara umum, minyak atsiri bekerja dengan mengganggu integritas membran sel bakteri yaitu menyebabkan kebocoran elektrolit dan komponen utama penyusun sel seperti protein, penurunan kadar gula dan ATP pada sel sehingga menghambat pembentukan ATP. Senyawa bioaktif pada minyak atsiri menempel pada permukaan sel bakteri dan berpenetrasi melalui fosfolipid bilayer pada membran sel sehingga mengganggu integritas sel dan akan memengaruhi metabolisme sel tersebut (7). Senyawa masoilakton mengandung cincin lakton dan termasuk golongan terpen lakton (8). Mekanisme terpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri (5), membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin, mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri sehingga membuat sel bakteri kekurangan nutrisi yang akan mengakibatkan pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (3).

KESIMPULAN

Secara kualitatif, nilai Kadar Hambat Minimum (KHM) Minyak Atsiri Masoyi terhadap bakteri *Streptococcus mutans* adalah 500 µg/mL dan nilai Kadar Bunuh Minimum (KBM) Minyak Atsiri Masoyi terhadap bakteri *Streptococcus mutans* adalah lebih dari 2000 µg/mL. Secara kuantitatif, nilai IC₅₀ Minyak Atsiri Masoyi terhadap bakteri *Streptococcus mutans* adalah 85,047 µg/mL dan IC₉₀ Minyak Atsiri Masoyi terhadap bakteri *Streptococcus mutans* adalah 491,481 µg/mL.

DAFTAR PUSTAKA

- Yuliandari, R., 2015, Uji Aktivitas Sari Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Biofilm *Pseudomonas aeruginosa* Secara In Vitro, Skripsi S-1, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Program Studi Farmasi, UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Ogawa, A., et al, 2011, Inhibition of *Streptococcus mutans* Biofilm Formation by *Streptococcus salivarius* FruA, *Applied and Environmental Microbiology*, 77(5):1572-1580.
- Pratiwi, S.U.T., Legendijk, E.L., Weert, S. de, Hertiani, T., Idroes, R., dan Hondel, C.A.V.D., 2015, Effect of *Cinnamomum burmannii* Nees ex Bl. and *Masosia aromatica* Becc. Essential Oils on Planktonic Growth and Biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* In Vitro, *International Journal of Applied Research in Natural Products*, Vol 8, Hal 1-13.
- Haryati, A.N., Saleh, C., Erwin, 2015, Uji Toksisitas Dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Merah Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*, *Jurnal Kimia Mulawarman*, 13(1):35-40.
- Hermawan, A., Hana, W., dan Wiwiek, T. 2007. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan Metode Difusi Disk. Universitas Erlangga.
- Rali, T., Wossa, S.W., dan Leach, D.N., 2007, Comparative Chemical Analysis of the Essential Oil Constituents in the Bark, Heartwood and

- Fruits of *Cryptocarya massoia* (Oken) Kosterm. (Lauraceae) from Papua New Guinea, *Molecules*, Vol 12, Hal 149–154.
7. Rollando, Sitepu, R., 2018, Efek Antibakteri Dari Kombinasi Minyak Atsiri Masoyi dan Kayu Manis, *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 8(1):26 – 33.
 8. Triatmoko, B., Hertiani, T., Yuswanto, A., 2016, Sitotoksitas Minyak Mesoyi (*Cryptocarya masoyi*) Terhadap Sel Vero, *E-Jurnal Pustaka Kesehatan*, 4(2).