CEK 1

anonymous marking enabled

Submission date: 21-Nov-2022 04:05PM (UTC+0700)
Submission ID: 1751829925
File name: tensi_Bunga_Rosella_sebagai_dental_plaque_disclosing_against.doc (594.5K)
Word count: 4790
Character count: 29254

SANITAS: JURNAL TEKNOLOGI DAN SENI KESEHATAN
ISSN : 1978-8843 (*PRINT*) / 2615-8647 (*ONLINE*) **Vol. XX No. X : xx - xx**

POTENTIAL OF ROSELLA FLOS (*Hibiscus sabdariffa* L.) AS DENTAL PLAQUE DISCLOSING AGENT

Vitri Nurilawaty[1], Ai Emalia Sukmawati[2], Silvester Maximus Tulandi[2*], Tedy Purnama[1], Bimo Gigih Sasongko[1]

[1]Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Jakarta I, Jurusan Kesehatan Gigi, Jalan Lebak Bulus III, Jakarta Selatan 12430
[2]Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Jakarta II, Jurusan Analisis Farmasi dan Makanan, Jalan Raya Ragunan No 29C, Pasar Minggu, Jakarta Selatan 12540

Email: maxi.tulandi@gmail.com

ABSTRACT

Plaque is a soft deposit that adheres tightly to the tooth surface, consisting of microorganisms that proliferate in an intracellular matrix. If plaque is allowed to accumulate around the oral tissues, it will cause dental caries to form and can cause damage to both hard and soft tissues in the oral cavity. One of the herbs that can be used as an alternative treatment for oral health problems is rosella flos (*Hibiscus sabdariffa* L.), besides having an antibacterial effect and remineralizing properties or not dissolving calcium ions in tooth enamel in high concentrations and also contains anthocyanin in the form of concentrated red pigments, extract from this flower can be developed as dental plaque disclosing solution preparation. Results in this study showed that the anthocyanins will be significantly degraded with the loss of color in the pH range 4-5, while the greatest degradation of anthocyanins due to the influence of temperature occurs in the range of 50-60^{o}C. Activity against *Streptococcus mutans* bacteria, it can be seen that with an increase in the concentration of the extract, the inhibition of the growth of these bacteria also increased significantly.
Keywords: *Anthocyanin, rosella flos, dental plaque disclosing*

POTENSI BUNGA ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa* L.) SEBAGAI DENTAL PLAQUE DISCLOSING AGENT

ABSTRAK

Plak merupakan deposit lunak yang melekat erat pada permukaan gigi, terdiri atas mikroorganisme yang berkembang biak dalam suatu matriks intraseluler. Jika plak dibiarkan menumpuk di sekitar jaringan mulut maka akan menyebabkan terbentuknya karang gigi dan dapat menyebabkan kerusakan pada jaringan keras maupun lunak di rongga mulut. Salah satu tumbuhan herbal yang dapat dijadikan pengobatan alternatif dalam permasalahan kesehatan mulut adalah bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.), selain memiliki efek antibakteri dan sifat remineralisasi atau tidak melarutkan ion kalsium pada email gigi dalam konsentrasi yang tinggi dan juga kandungan antosianin berupa pigmen merah pekatnya, maka ekstrak dari bunga ini dapat dikembangkan sebagai preparat dental plaque disclosing solution. Hasil pada penelitian ini menunjukkan bahwa antosianin

akan terdegradasi secara signifikan dengan hilangnya warna merah pada rentang pH 4-5, sedangkan degradasi terbesar antosianin oleh karena pengaruh temperatur terjadi pada rentang 50-60ºC. Aktivitas terhadap bakteri *Streptococcus mutans*, terlihat bahwa dengan adanya kenaikan konsentrasi ekstrak, daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri tersebut meningkat secara signifikan.
Kata Kunci: *Antosianin, bunga rosella, penampak plak gigi*

PENDAHULUAN

Sumber daya manusia yang berkualitas serta produktif sangat dipengaruhi oleh kesehatan manusia itu sendiri. Salah satu organ yang penting dalam kesehatan tubuh adalah rongga mulut. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa kesehatan rongga mulut merupakan bagian integral dari kesehatan manusia seutuhnya. Dampak negatif dari kesehatan mulut yang buruk bukan saja terjadi pada anak-anak, akan tetapi juga pada orang dengan usia lanjut ((1, 2). Rongga mulut sendiri merupakan suatu tempat yang sangat ideal untuk tumbuh kembangnya mikroorganisme terutama bakteri *Streptococcus mutans* yang merupakan salah satu type bakteri penghasil asam yang dapat merusak gigi karena reaksi fermentasi karbohidrat termasuk sukrosa, fruktosa, dan glukosa. Dengan demikian jika rongga mulut tidak dibersihkan dengan benar, sisa-sisa makanan yang terselip dan melekat pada gigi bersama bakteri tersebut akan menumpuk di permukaan gigi dan membentuk suatu koloni yang disebut dengan plak (3,4,5).

Plak merupakan deposit lunak yang melekat erat pada permukaan gigi, terdiri atas mikroorganisme yang berkembang biak dalam suatu matriks intraseluler. Plak tidak dapat dibersihkan hanya dengan berkumur-kumur menggunakan air tetapi harus secara aktif disikat secara mekanis menggunakan sikat gigi, Jika plak dibiarkan menumpuk di sekitar jaringan mulut maka akan menyebabkan terbentuknya karang gigi dan dapat menyebabkan kerusakan pada jaringan keras maupun lunak di rongga mulut. Penyakit karies gigi merupakan penyakit gigi yang paling sering dijumpai di masyarakat. Karies adalah suatu penyakit jaringan keras gigi yaitu email dan dentin, yang disebabkan oleh aktivitas bakteri terhadap karbohidrat yang menghasilkan asam (4,6,7). Pengamatan terhadap plak dapat digunakan suatu bahan kontras seperti zat pewarna (merah/ungu) yang berupa cairan atau gel yang disebut dengan *disclosing solution* (8). Tapi dalam pemakaian pada manusia terdapat banyak kekurangan karena sering mengandung bahan kimia berbahaya (9).

Banyaknya masalah yang timbul karena pemakaian obat-obat kimia/sintetik saat ini, maka perlu mencari alternatif baru yang lebih bersifat alamiah dimana diharapkan tidak memberikan efek samping pada sel host, dan juga dinilai efektif dalam biaya. Menurut *World Healt Organization* dalam Tulandi, et al., 2021, Populasi dunia diperkirakan sebesar 80-90% mengkonsumsi obat-obatan yang berasal dari alam (10).

Salah satu tumbuhan herbal yang dapat dijadikan pengobatan alternatif dalam permasalahan kesehatan mulut adalah rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.), kelopak bunga dari tanaman ini, selain memiliki efek antibakteri dan sifat remineralisasi atau tidak melarutkan ion kalsium pada email gigi dalam konsentrasi yang tinggi, juga banyak mengandung antosianin berupa pigmen merah pekat (11,12), maka ekstrak dari kelopak bunga ini dapat dikembangkan sebagai preparat *disclosing solution*. Kelebihan dan manfaat yang sangat banyak yang terkandung dalam bunga rosella, diharapkan memenuhi persyaratan yang baik untuk dikembangkan sebagai sediaan *dental plaque disclosing*.

Studi ilmiah tentang bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) diketahui bahwa bunga rosella mengandung zat kimia penting, diantaranya gossy peptin, antosianin, glucoside hibiscin, arginin, legnin, vitamin C, kalsium, asam organik, polisakarida dan flavonoid. Efek antiseptik, anti bakteri, anti-hipertensi, efek diuretik, memperlancar peredaran darah, antispasmodik, anthelmintik, pengobatan gusi berdarah dan meningkatkan daya tahan tubuh manusia terhadap serangan penyakit, dan lain-lain dari tanaman ini pernah diteliti (5,13). Penelitian lain tentang konsentrasi seduhan bunga rosella terhadap kelarutan ion kalsium pada email gigi, menunjukkan bahwa makin tinggi konsentrasi air seduhan bunga rosella maka akan semakin berkurang efek kelarutan ion kalsium email pada gigi permanen (12), sedangkan derajat keasaman atau pH normal di dalam mulut berada di angka 6,5 – 7,5. Keasaman saliva ketika berada di atas rentang nilai pH normal rongga mulut akan mengakibatkan terjadinya proses remineralisasi yang memperoleh mineral kembali dan apabila pH menurun dibawah rentang nilai pH tersebut, maka terjadilah proses demineralisasi yang menghilangnya mineral dalam enamel gigi yang disebut karies (14).

Kandungan penting yang terdapat pada bunga rosella adalah pigmen antosianin yang bertanggung jawab atas warna merah, ungu dan juga biru dari banyak buah dan

sayuran. Antosianin telah menjadi minat tersendiri dalam penelitian, karena mereka tidak hanya memberikan warna yang indah untuk sistem pangan, tetapi juga memiliki sifat antioksidan dan manfaat kesehatan lainnya. Selain itu pigmen antosianin relatif tidak stabil dan sering mengalami reaksi degradasi selama pemrosesan dan penyimpanan. Stabilitas antosianin berkorelasi dengan struktur antosianin dan juga dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti panas, pH, cahaya, adanya enzim, asam fenolat, oksigen, gula, sulfur dioksida dan ion logam (16,17).

Efek antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dan pigmen antosianin yang berwarna ungu kemerahan yang terkandung dalam bunga rosella, tingginya konsentrat ekstrak bunga rosella mengurangi demineralisasi kalsium dalam enamel gigi, serta relatif tidak stabil dan sering mengalami reaksi degradasi inilah yang mendasari penelitian ini dilakukan karena dianggap memiliki potensi dalam pengembangan produk untuk kesehatan mulut dari bahan alam, salah satunya sebagai bahan dasar *dental disclosing* akan tetapi disisi lain relatif tidak stabil dalam proses dan penyimpanan.

METODE PENELITIAN

Peralatan

Peralatan utama yang digunakan dalam penelitian ini antara lain Oven (memmert), Grinder, ayakan no. 40, Rotary evaporator (Eyela), Timbangan analitik (Sartorius), Ultrasonic (Branson), pH meter (Mettler), Spektrofotometer UV-Vis (Agilent tecnologies), Water bath (memmert), Lemari pendingin.

Bahan

Bahan yang digunakan antara lain :Kelopak bunga rossela, Aquadest, Etanol 96% p.a (Merck), Dapar Sitrat (Merck), Dapar Phospat (Merck), Dimetil sulfoksida (DMSO) p.a (Merck), Natrium hidroksida pellets p.a (Merck), Asam klorida 37% p.a (Merck), Asam asetat anhidrat p.a (Merck), Asam sulfat 95-97% p.a (Merck), pereaksi Dragendorf, pereaksi wagner, pereaksi Mayer, Besi (III) klorida, Media Trypticase Soy Agar (TSA) for

microbiology (Merck), Media Trypticase Soy Broth (TSB) for microbiology (Merck), Amoksisillin BPFI.

Penyiapan Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balittro) di Bogor. Determinasi dilakukan pada Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia – Cibinong, Bogor Indonesia. Proses penyiapan sampel mulai dari pembuatan ekstrak hingga pengujian dilakukan di Laboratorium Bahan Alam Jurusan Analisis Farmasi dan Makanan, Politeknik Kesehatan Kemenkes Jakarta II.

Ekstraksi Bunga Rosella

Bunga Rosella yang telah dikeringkan dengan oven pada suhu 40ºC ditimbang sebanyak 100 gram, digrinding. Maserasi menggunakan pelarut etanol : air (3:1) dengan perbandingan 1 : 5 b/v terhadap massa sampel, dalam wadah botol kaca bertutup rapat. Ultrasonikasi selama 30 menit, kemudian biarkan selama sehari semalam. Lapisan etanol dipisahkan, dan lakukan remaserasi hingga lapisan etanol tidak berwarna. Kumpulan lapisan etanol disaring. Kumpulan filtrat etanol dipekatkan dengan *rotary vaccum* pada suhu 40 ºC hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak disimpan pada suhu 4ºC sebelum dilakukan analisis. (18,19).

Uji Fitokimia Ekstrak Kental Bunga Rosella (10,20)

Analisis fitokimia dilakukan untuk mengetahui jenis senyawa metabolit sekunder di dalam bunga rosella secara kualitatif. Uji meliputi falvonoid, alkaloida, fenol hidrokuinan, dan tanin.

Uji steroid/triterpenoid

Sebanyak 1 mg ekstrak dilarutkan dalam 2 ml DMSO dan dimasukkan dalam tabung reaksi. Sebanyak 10 tetes asam asetat anhidrat dan 3 tetes asam sulfat P ditambahkan ke dalam campuran tersebut. Hasil uji positif jika pada larutan terbentuk warna merah dan berubah menjadi biru dan hijau.

Uji Flavonoid

Sebanyak 1 mg ekstrak dilarutkan dalam 2 ml DMSO dan dimasukkan dalam tabung reaksi, tambahkan 0,1 mg serbuk magnesium dan 0,4 mL amil alkohol dan 4 mL alkohol, selanjutnya dikocok. Hasil uji positif jika terbentuk warnah merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol.

Uji Alkaloida

Sebanyak 1 mg ekstrak dilarutkan dalam 2 ml DMSO dan dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan beberapa tetes asam sulfat 2 N, setelah itu akan diuji dengan beberapa pereaksi alkaloid diantaranya Dragendorff, Meyer, dan Wagner. Hasil uji positif jika terbentuk endapan coklat untuk pereaksi Wagner, endapan putih kekuningan untuk pereaksi Meyer, dan endapan merah jingga untuk pelarut Dragendorff.

Uji Saponin

Sebanyak 1 mg sampel dilarutkan dalam air panas dan dikocok maka akan menghasilkan busa. Hasil positif jika pada sampel menghasilkan busa yang stabil selama 30 menit dan tidak hilang jika ditambahkan 1 tetes HCl 2 N.

Uji Fenol Hidrokinon

Sebanyak 1 mg sampel ekstrak ditambahkan dengan DMSO 20 mL. Ambil sebanyak 1 mL dari larutan fraksi, kemudian ditambahkan 2 tetes larutan $FeCl_3$ 5%. Hasil positif jika pada larutan fraksi ekstrak terbentuk warna hijau atau hijau biru.

Uji Tanin

Sebanyak 1 g sampel ditambahkan pereaksi $FeCl_3$ 3%. terbentuk warna biru gelap menunjukkan hasil positif.

Uji Antosianin

Sebanyak 1 g ektrak dilarutkan dengan aquades kemudian dibagi ke dalam 2 buah tabung reaksi, tabung reaksi I ditetesin dengan NaOH 2 N tetes demi tetes, hasil positif mengandung antosianin jika larutan berwarna biru kehijauan. Tabung reaksi II, ditambahkan HCl 2 N dan dipanaskan pada suhu 100 °C, warna merah tidak hilang.

Analisis Ekstrak Terhadap Pengaruh Perubahan pH

Sebanyak 100 mg ekstrak rosella diencerkan dengan aquadest hingga 100 mL (larutan stok). Kemudian sebanyak 1 mL larutan stok ekstrak rosella dimasukkan dalam 7 tabung reaksi dan ditambah 10 mL larutan buffer sitrat-fosfat yang sesuai dengan pH masing-masing yang akan diuji, antara lain pH 3, pH 4, pH 5, pH 6, pH 7 dan pH 8, dan sebuah tabung dengan pengenceran menggunakan aquadest sebagai kontrol (pengukuran tanpa dipengaruhi perubahan pH). Pengerjaan dilakukan triplo. Masing-masing larutan tersebut dikocok dengan vortex mixer hingga homogen, kemudian discann dengan spektrofotometer UV-Vis menggunakan panjang gelombang 200-700 nm. Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang maksimum 516 nm (16,21,22).

$$\% \text{ Degradasi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol - Absorbansi setelah perlakuan}}{\text{Absorbansi kontrol}} \text{ x } 100\% \quad (1)$$

Analisis Ekstrak Terhadap Pengaruh Perubahan Temperatur

Sebanyak 100 mg ekstrak rosella diencerkan dengan aquadest hingga 100 mL (larutan stok). Kemudian sebanyak 1 mL larutan stok ekstrak rosella dimasukkan dalam 6 tabung reaksi kemudian masing-masing ditambahkan 10 mL aquadest, dikocok dengan vortex mixer hingga homogen, pengerjaan dilakukan 3 kali pengulangan, dengan 1 tabung sebagai kontrol yang diukur serapannya sebelum dilakukan perlakuan. Selanjutnya tabung-tabung reaksi tersebut disimpan pada suhu 20°C, 30°C, 40°C, 50°C, 60°C selama 1 jam dengan meminimalisir pengaruh cahaya kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimal 516 nm (16,21,22). Persen degradasi dihitung menggunakan rumus pada persamaan (1).

Analisis Aktivitas Antibakteri

Disiapkan biakan mikroba (*Steptococcus mutans*) yang berumur 24 jam kemudian diambil 1 ose biakan tersebut dan dimasukkan ke dalam pengencer (TSB steril), homogenkan. Ukur %T dengan spektrofotometer UV Visible dengan panjang gelombang 580 nm hingga diperoleh 25%T (10^8 CFU/mL). Siapkan 3 buah cawan petri, pindahkan 0,2 mL suspensi mikroba ke dalam cawan petri, kemudian ditambahkan 20-25 mL media TSA,

dan selanjutnya dihomogenkan dan biarkan memadat. Di tempelkan disk yang telah direndam dalam ekstrak bunga rosella yang diencerkan dengan DMSO dengan konsentrasi 5, 10, 15, 20 dan 30 % b/v serta disk yang direndam dalam amoksisilin sebagai kontrol positif dan disk yang direndam dalam DMSO sebagai kontrol negatif. Didiamkan selam 1 jam, biarkan larutan uji menyerap, kemudian diinkubasi selama 30-35°C selama 18-24 jam secara aerob dan diamati zona bening/zona hambat. Pengulangan dilakukan sebanyak 3 kali (23, 24, 25).

Analisis Data

Pengolahan data dari setiap analisis yang dilakukan (Pengaruh perubahan pH, suhu dan aktivitas antibakteri) dianalisis statistik menggunakan *One Way Anova* dengan sofware Minitab versi 16.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*. L)

Ekstraksi dilakukan dengan cara remaserasi. Remaserasi dilakukan dengan merendam 100 gram simplisia kering yang telah digrinding terlebih dahulu menggunakan cairan penyari etanol sebanyak 5 x bobot bahan, serbuk yang telah direndam disonikasi selama 30 menit lalu didiamkan selama 24 jam, kemudian lapisan etanol dipisahkan. Remaserasi dilakukan hingga lapisan etanol tidak berwarna, kumpulan lapisan etanol kemudian disaring. Filtrat diuapkan dalam *rotary evaporator* pada suhu 40^{o}C hingga kental. Ekstrak kental yang diperoleh kemudian disimpan dalam lemari pendingin. Dalam penelitian ini pelarut ekstraksi yang digunakan adalah etanol 96% : air dengan perbandingan 3:1, karena etanol sebagai pelarut dari golongan alkohol dengan kepolaran yang luas akan mampu menarik senyawa polar yang berada dalam bunga rosella, seperti pigmen antosianin yang menjadi target dalam penelitian ini. Pelarut ekstraksi ditambahkan dengan air, agar kepolaran darin pelarut akan semakin meningkat karena antosianin yang menjadi target merupakan senyawa polar, selain itu juga dapat dipengaruhi oleh terikatnya gula dengan pigmen antosianin karena adanya glikolisasi, antosianin dalam bentuk gliosida

cenderung larut dengan air sedangkan bentuk non glikosida (antosianidin) lebih larut dalam etanol, hal ini menjelaskan bahwa pengunaan campuran etanol dan air diharapkan dapat meningkatkan jumlah antosianin yang terekstrak (19). Remaserasi dilakukan agar proses penyarian terhadap metabolit sekunder yang terkandung dalam bunga rosella dapat maksimal. Dalam penelitian ini rendemen ekstrak yang diperoleh sebesar 25,48%.

Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Bunga Rosella

Skrining fitokimia ekstrak etanol bunga rosella dilakukan secara kualitatif dengan metode uji reaksi warna dan endapan. Uji tersebut dilakukan terhadap senyawa alkaloid, flavonoid, fenol-hidrokuinon, steroid/triterpenoid, tanin dan saponin. Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak etanol bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) mengandung senyawa flavonoid, fenol-hidrokuinon, tanin, saponin dan antosianin seperti ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1 Hasil analisis golongan senyawa metabolit sekunder bunga rosella

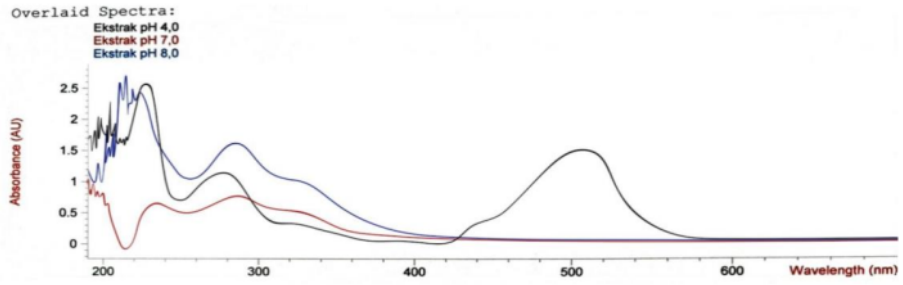
Jenis Uji	Pereaksi	Hasil
Alkaloid	Dragendorff	-
	Meyer	-
	Wagner	-
Flavonoid	Serbuk Mg, Aceton, Etanol	+
Fenol-hidrokuinon	$FeCl_3$ 5%	+
Steroid/Triterpenoid	As.asetat anh + H_2SO_4 P	-
Tanin	$FeCl_3$ 3%	+
Saponin	HCl 2N	+
Antosianin	NaOH 2N+ HCl 2N	+

Keterangan : (-) = tidak terdeteksi; (+) = terdeteksi

Analisis Ekstrak Terhadap Perubahan pH

Analisis perubahan warna dari ekstrak etanol bunga rosella terhadap perubahan pH dilakukan untuk memperoleh informasi warna yang tepat, karena diketahui bahwa antosianin merupakan suatu senyawa yang mudah terdegradasi karena pengaruh pH, temperatur maupun paparan cahaya, sehingga dalam melakukan formulasi sediaan dental disklosing untuk maksud penampakan plak pada gigi akan maksimal. Pada analisis ini digunakan buffer sitrat-phospat sebagai pengencer ekstrak dan diukur menggunakan

spektrofotometer UV - Vis dengan rentang panjang gelombang 200 hingga 700 nm. Hasil pengukuran dengan spektrofotometer pada rentang panjang gelombang 200-700 nm dapat dilihat pada gambar 1. Dengan maksimum pada panjang gelombang 516 nm. Spektrum yang diperoleh pada pengukuran memiliki beberapa puncak, yang artinya antosianin memiliki beberapa puncak. Pengukuran pada daerah panjang gelombang cahaya tampak dilakukan karena aglikon pada antosianin (kation flavilium) mengandung ikatan rangkap terkonjugasi sehingga dapat diserap pada daerah panjang gelombang 500 nm (21), oleh karenanya dalam penelitian ini, pengukuran dilakukan pada panjang gelombang maksimum pada daerah cahaya tampak yakni 516 nm.



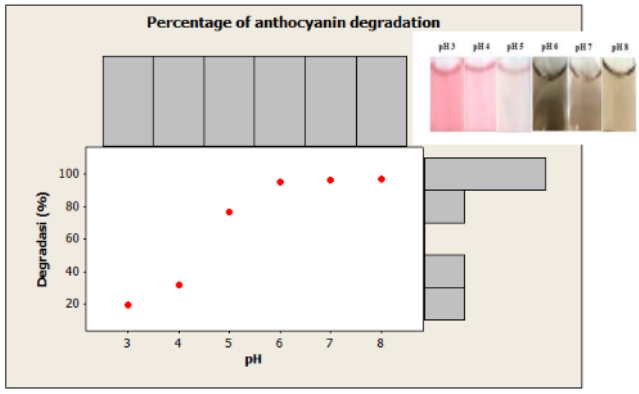
Gambar 1 Spektrum ekstrak rosella pada rentang 200-700 nm dengan kondisi pH asam (pH 4, netral (pH 7) dan basa (pH 8).

Pada spektrum UV-Vis ekstrak kelopak bunga rosella diperoleh spektrum khas dari antosianin yang menunjukkan dua kelompok dasar absorbansi, yang pertama pada wilayah panjang gelombang 260-280 nm (wilayah UV) dan yang lainnya pada 490-550 nm (wilayah cahaya tampak). Pada pH larutan 4, terdapat puncak pada panjang gelombang cahaya tampak 516, hal ini menjelaskan bahwa pada pH tersebut antosianin masih memberikan warna merah dibandingkan dengan pH netral maupun basa, tidak terdapat lagi puncak pada panjang gelombang tersebut.

Hasil pengukuran untuk melihat pengaruh perubahan pH dengan spektrofotometer UV-Visible seperti ditunjukkan pada tabel 2 dan juga pada gambar 2.

Tabel 2 Hasil analisis Spektrofotometer UV - Visible terhadap perubahan pH dari ekstrak etanol bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) pada panjang gelombang 516 nm.

pH	Warna	Rata – rata Absorbance	Degradasi (%)
Kontrol	Merah keunguan	2.201	
3	Merah terang	1.780	19.127
4	Merah muda terang	1.502	31.758
5	Merah muda pudar	0.508	76.919
6	Hijau kecoklatan	0.108	95.093
7	Coklat	0.086	96.092
8	Coklat kekuningan	0.073	96.683



Gambar 2 Diagram persentasi degradasi antosianin terhadap perubahan pH. (Minitab versi 16.)

Tabel 3 Hasil Uji Statistik *One-way ANOVA: Degradation (%) versus pH*

Source	DF	SS	MS	F	P
pH	5	18353.09	3670.62	8298.59	0.000
Error	12	5.31	0.44		
Total	17	18358.40			

S = 0.6651 R-Sq = 99.97% R-Sq(adj) = 99.96%

Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev

Level	N	Mean	StDev	-+---------+---------+---------+-------
3	3	19.127	0.098	(*
4	3	31.758	1.112	(*
5	3	76.919	0.792	*)
6	3	95.093	0.615	(*
7	3	96.092	0.449	*
8	3	96.683	0.449	*)
				-+---------+---------+---------+-------

	20	40	60	80
Pooled StDev = 0.665				

Dari percobaan ini, terlihat perubahan warna yang terjadi setelah ekstrak diencerkan dengan larutan buffer yang sesuai degan masing-masing pH. Perubahan warna dari merah terang bergeser ke merah muda terang kemudian memudar dan kemudian menjadi hijau kecoklatan hingga warna coklat kekuningan seperti yang terlihat pada gambar 2, hal ini disebabkan oleh perubahan pH larutan ke arah lebih tinggi atau basa. Nilai absorbansi yang menurun seiring dengan semakin meningkatnya pH ke arah basa, hal ini dikarenakan pada suasana asam akan menyebabkan semakin banyak pigmen antosianin dalam bentuk kation flavilium berwarna atau oxonium, kation flavilium tersebut pada pH yang semakin basa akan berubah ke bentuk yang lebih stabil hemihektal yang tak berwarna dalam bentuk kalkon (17). Dengan demikian absorbansi meningkat dipengaruhi oleh banyak sedikitnya kation flavilium yang memiliki ikatan rangkap terkonjugasi tersebut masih dapat diserap pada panjang gelombang maksimum daerah cahaya tampak yakni 516 nm. Hasil analisis dengan *one way anova*, terlihat bahwa ada perbedaan yang sigifikan pada setiap perlakuan, dimana p value ≤ 0.05.

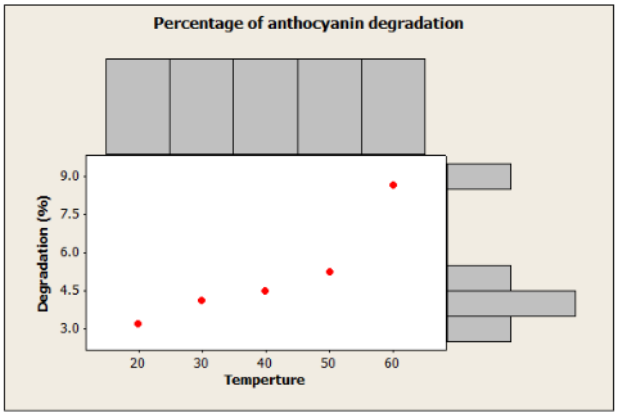
Analisis Ekstrak Terhadap Perubahan Temperatur

Pada pengujian ini, yang ingin diperoleh adalah informasi mengenai degradasi yang terjadi pada antosianin dengan adanya perubahan pada suhu, sehingga suhu saat formulasi sediaan maupun dalam penyimpanan dapat diketahui. Seperti diketahui bahwa antosianin juga rentan terhadap perubahan temperatur, menurut beberapa penelitian antosianin akan mengalami degradasi seiring dengan naiknya temperatur. Hasil pengujian degradasi antosianin oleh pengaruh temperatur ditunjukkan pada tabel 4.

Tabel 4 Persen degradasi ekstrak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap perubahan temperatur pada panjang gelombang 516 nm.

Temperatur (°C)	**Panjang Gelombang (nm)**	**Degradasi (%)**
Kontrol awal	516	
20	516	3.225
30	516	4.134

40	516	4.498
50	516	5.270
60	516	8.677



Gambar 3 Diagram persentasi degradasi antosianin terhadap perubahan temperatur (Minitab versi 16.)

Tabel 5 Hasil Uji Statistik *One-way ANOVA: Degradation (%) versus Temperature (°C)*

Source	**DF**	**SS**	**MS**	**F**	**P**
Temperature	4	52.850	13.212	43.10	0.000
Error	10	3.065	0.307		
Total	14	55.915			
S = 0.5537		R-Sq = 94.52%		R-Sq(adj) = 92.32%	

				Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev
Level	N	Mean	StDev	-------+---------+---------+---------+--
20	3	3.2250	0.1526	(--*---)
30	3	4.1340	0.1070	(---*--)
40	3	4.4980	0.4545	(--*---)
50	3	5.2700	0.3785	(--*---)
60	3	8.6770	1.0715	(--*---)
				-------+---------+---------+---------+--
				4.0 6.0 8.0 10.0

Pooled StDev = 0.5537

Dari data tersebut, diketahui bahwa walau disimpan ditempat terlindung dari pengaruh cahaya matahari, namun dengan adanya perubahan suhu maka antosianin akan tetap mengalami degradasi, semakin rendah suhu semakin kecil persentasi degradasi dari

antosianin, hal tersebut juga sejalan dengan penelitian Cabrita et al, 2000; Dyrby et al, 2001 (26, 27) yang menyatakan bahwa pigmen antosianin merupakan pigmen yang tidak stabil, akan mengalami proses degradasi secara bertahap sepanjang penyimpanan atau penggunaan. Degradasi terbesar ketika suhu di atas 50ºC sepeti yang ditunjukkan pada gambar 3. Kenaikan temperatur menyebabkan cincin falvilium pada antosianin akan terbuka dan membentuk kalkon yang tidak berwarna. Dalam penelitian yang dilakukan oleh A. Askar et al., 2015; Saha et al., 2020 dan Lema et al., 2021 yang meyatakan bahwa pada konsentrasi larutan dengan pigmen antosianin yang tinggi, menyebabkan proses degradasi oleh cahaya akan menurun jauh sebab penetrasi oleh cahaya akan sulit menembus ke dalam larutan, pernyataan tersebut sejalan dengan hasil penelitian ini, dimana proses degradasi yang terjadi dengan adanya kenaikan temperatur berjalan lambat, dibandingkan yang terjadi karena pengaruh perubahan pH. Hasil statistik dengan *one way anova*, terlihat adanya perbedaan yang signifikan antar perlakuan, dimana p value ≤ 0.05.

Analisis Aktivitas Antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*

Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) diperoleh bahwa ekstrak etanol kelopak bunga rosella memiliki potensi sebagai antibakteri dalam hal ini bakteri yang berperan dalam pembentukan plak pada gigi yakni *Streptococcus mutans*. Pada pengujian ini digunakan seri konsentrasi ekstrak 5; 10; 15; 20 dan 30% dengan amoksisillin sebagai kontrol positif. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol ditunjukkan pada tabel 4., serta gambar 4 dan 5. terlihat bahwa dengan kenaikan konsentrasi ekstak, diameter zona hambat semakin besar dengan pengamatan setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil analisis statistik dengan *One Way Anova*, terilhat adanya perbedaan yang signifikan, dimana p value ≤ 0.05. hal tersebut menjelaskan bahwa, konsentrasi ekstrak sangat berpengaruh pada daya antibakteri dari ekstrak kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*.

Tabel 6 Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap *Streptococcus mutans*.

Konsentrasi(%)	**Rata -rata Diameter Zona (mm)**

5	6
10	7.8
15	9.2
20	10.6
30	13.5
Kontrol Positif (Amoksisilin)	34.2
Kontrol Negatif (Cakram Kosong)	6
Ukuran Cakram	6

Tabel 7 Hasil Uji Statistik *One-way ANOVA*: Zona (mm) versus Konsentrasi Ekstrak

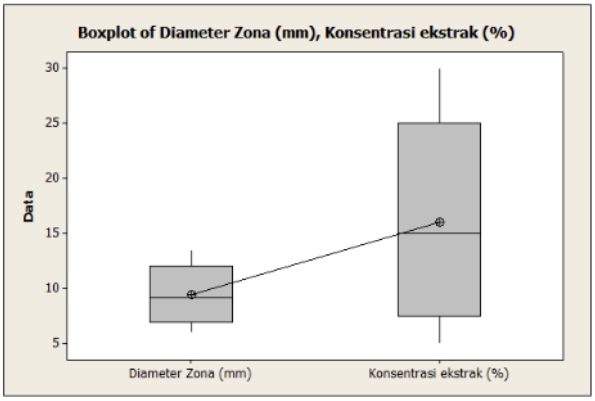
Source	**DF**	**SS**	**MS**	**F**	**P**
Kons. ekstrak	4	97.023	24.256	219.18	0.000
Error	10	1.107	0.111		
Total	14	98.129			

S = 0.3327 R-Sq = 98.87% R-Sq(adj) = 98.42%

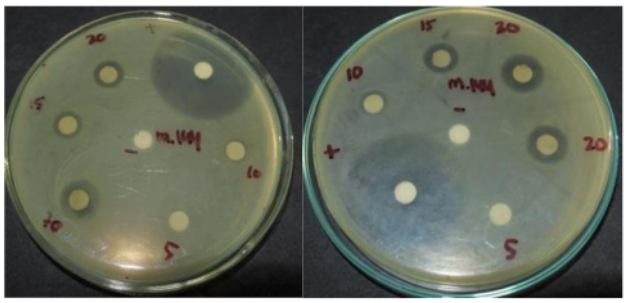
Level	N	Mean	StDev	*Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev*
5	3	6.000	0.000	(-*-)
10	3	7.767	0.252	(-*-)
15	3	9.167	0.651	(-*)
20	3	10.633	0.153	(-*)
30	3	13.467	0.208	(-*-)

7.5 10.0 12.5 15.0

Pooled StDev = 0.333



Gambar 4. Diagram boxplot antara diameter zona terhadap konstrasi ekstrak (Minitab versi 16.)



Gambar 5. Uji aktivitas ekstrak kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) dengan metode difusi agar pada bakteri *Streptococcus mutans*.

SIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) dalam bentuk ekstrak sangat berpotensi untuk dijadikan bahan baku dalam formulasi sediaan *dental plaque disclosing*. Degradasi dari pigmen antosianin yang terdapat dalam ekstrak bunga rosella dapat diminimalisir dengan membuat kondisi pH tidak lebih dari 4, temperatur proses tidak boleh lebih dari 50^{o}C, serta konsentrasi ekstrak yang pekat dalam sediaan. Untuk mendapatkan kondisi yang optimum dalam formulasi sediaan *dental plaque disclosing*, disarankan menggunakan rancangan *Response Surface Methodology* dengan beberapa variabel yang berpengaruh terhadap stabilitas antosianin, sehingga sediaan yang diperoleh lebih maksimal baik dalam proses maupun penyimpanan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktur Politeknik Kesehatan Kemenkes Jakarta I, atas dukungannya, juga semua pihak yang telah terlibat dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Imran H, Niakurniawati N. Pengetahuan Tentang Menyikat Gigi dan Status Kebersihan Gigi dan Mulut pada Murid Sekolah Dasar. Jurnal Penelitian Kesehatan "SUARA FORIKES" (Journal of Health Research "Forikes Voice"). 2018 Oct 31;9(4):258–62.
2. Wangsarahardja K, Dharmawan OV, Kasim E. Hubungan antara status kesehatan mulut dan kualitas hidup pada lanjut usia. Universa Medicina. 2007 Dec 27;26(4):186–94.
3. Chetrus V, Ion IR. Directory of Open Access Journals. International Journal of Medical Dentistry. 2013;17(2):139–43.
4. Davis IJ, Wallis C, Deusch O, Colyer A, Milella L, Loman N, et al. A cross-sectional survey of bacterial species in plaque from client owned dogs with healthy gingiva, gingivitis or mild periodontitis. PLoS ONE. 2013 Dec 13;8(12):e83158.
5. Nurilawaty V, Priharti D, Sukmawati AE, Purnama T. Effectiveness of Rosella Flower Extract (Hibiscus Sabdariffa L.) in Gel and Liquid form on the Growth of Streptococcus Mutans Bacteria. International Journal Of Drug Research And Dental Science. 2022 May 1;4(2):1–9.
6. Qiu W, Zhou Y, Li Z, Huang T, Xiao Y, Cheng L, et al. Application of Antibiotics/Antimicrobial Agents on Dental Caries. BioMed research international. 2020 Jan 31;2020(31 January):5658212.
7. Wakhidatul Kiromah NZ, Rahmatulloh W. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol dan Akuades Daun Ganitri (Elaeocarpus ganitrus Roxb.) Terhadap Bakteri Streptococcus mutans. Acta Pharmaciae Indonesia : Acta Pharm Indo. 2020 Dec 30;8(2):89.
8. Peng Y, Wu R, Qu W, Wu W, Chen J, Fang J, et al. Effect of visual method vs plaque disclosure in enhancing oral hygiene in adolescents and young adults: a single-blind randomized controlled trial - PubMed. American journal of orthodontics and dentofacial orthopedics : official publication of the American Association of Orthodontists, its constituent societies, and the American Board of Orthodontics. 2014 Mar 1;145(3).

9. Latirah. Secang (Caesalpinia sappan L.), Gambier (Uncaria gambir Robx.) and Pinang (Arecha catechu L.) as Alternatives for Natural Color in Cosmetic Preparations. SANITAS: Jurnal Teknologi dan Seni Kesehatan. 2021 Aug 5;12(1):53–61.
10. Tulandi SM, Tanzil L, Ulfa DM. RJPT - Analysis of Bioactive Compounds from Methanol Extract of Diadema setosum Sea Urchin Gonads using Gas Chromatography – Mass Spectrometry. Research Journal of Pharmacy and Technology. 2021 Mar 18;14(3):1629–34.
11. Suzery M, Lestari S, Cahyono B. Penentuan Total Antosianin dari Kelopak Bunga Rosela (Hibiscus sabdariffa L) dengan Metode Maserasi dan Sokhletasi. Jurnal Sains dan Matematika. 2010 Jan 1;18(1):1–6.
12. Nurilawaty V, Hanum NA, Wahyuni S. Pengaruh Air Seduhan Kelopak Bunga Rosella (Hibiscus sabdariffa L.) Terhadap Kelarutan Ion Kalsium Gigi Permanen (in Vitro). Publikasi Penelitian Terapan dan Kebijakan. 2013 Jan 1;7(3).
13. Mohamed Abdallah E. Antibacterial activity of Hibiscus sabdariffa L. calyces against hospital isolates of multidrug resistant Acinetobacter baumannii. Journal of Acute Disease. 2016 Nov 1;5(6):512–6.
14. Cogulu D, Sabah E, Kutukculer N, Ozkinay F. Evaluation of the relationship between caries indices and salivary secretory IgA, salivary pH, buffering capacity and flow rate in children with Down's syndrome - PubMed. Archives of oral biology. 2006 Jan 1;51(1).
15. Seneviratne CJ, Zhang CF, Samaranayake LP. Dental plaque biofilm in oral health and disease - PubMed. The Chinese journal of dental research : the official journal of the Scientific Section of the Chinese Stomatological Association (CSA). 2011 Jan 1;14(2).
16. Askar K, H. Alsawad Z, N. Khalaf M. Evaluation of the pH and thermal stabilities of rosella anthocyanin extracts under solar light. Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences. 2015 Sep 3;4(3):262–8.
17. Lema AA, Mahmod NH, Khandaker MM, Abdulrahman MD. Roselle anthocyanin stability profile and its potential role in post-harvest deterioration: A review [Internet]. unknown. 2021 [cited 2022 Nov 15]. Available from:

https://www.researchgate.net/publication/357105793_Roselle_anthocyanin_stability_profile_and_its_potential_role_in_post-harvest_deterioration_A_review

18. Isnaini L. The Extraction of Natural Liquid Red Colorant Containing Antioxidant from Rosella (Hibiscus sabdarrifa L) Calyx and Its Aplication in Food Products . Jurnal Teknologi Pertanian. 2010 Apr;11(1):18–26.
19. Mardiah, Amalia L, Sulaeman A. View of EKSTRAKSI KULIT BATANG ROSELLA (Hibiscus sabdariffa L.) SEBAGAI PEWARNA MERAH ALAMI [Internet]. Jurnal Pertanian, Vol 1(1). Universitas Djuanda Bogor; 2010 [cited 2022 Nov 14]. Available from: https://ojs.unida.ac.id/jp/article/view/548/pdf
20. Harborne AJ. Phytochemical methods A guide to modern techniques of plant analysis. Springer Science & Business Media; 1998.
21. Favaro LIL, Balcão VM, Rocha LKH, Silva EC, Oliveira JM Jr, Vila MMDC, et al. Physicochemical Characterization of a Crude Anthocyanin Extract from the Fruits of Jussara (Euterpe edulis Martius): Potential for Food and Pharmaceutical Applications. Journal of the Brazilian Chemical Society. 2018 Oct;29(10):2072–88.
22. Saha S, Singh J, Paul A, Sarkar R, Khan Z, Banerjee K. Anthocyanin Profiling Using UV-Vis Spectroscopy and Liquid Chromatography Mass Spectrometry. Journal of AOAC INTERNATIONAL. 2020 Jan 1;103(1):23–39.
23. Da-Costa-Rocha I, Bonnlaender B, Sieves H, Pischel I, Heinrich M. Hibiscus sabdariffa L. – A phytochemical and pharmacological review [Internet]. Elsevier Enhanced Reader. Elsevier Ltd. ; 2014 [cited 2022 Nov 15]. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.002
24. Auliya S, Elianora D, Kornialia K. Uji aktivitas antibakteri ekstrak brokoli (Brassica oleracea var. Italica) terhadap bakteri Streptococcus mutans Antibacterial activity test of broccoli (Brassica oleracea var. Italica) extract towards Streptococcus mutans. Padjadjaran Journal of Dental Researchers and Students. 2019 Nov 9;3(2):92–7.
25. Suriawati J, Patimah P, Rachmawati SR. Antibacterial Activities Test of Combination of Ethanolic Extract of Betel Leaves (Piper betle L.) and Basil Leaves (Ocimum

basilicum L.) Against Staphylococcus aureus. SANITAS: Jurnal Teknologi dan Seni Kesehatan. 2018 Dec 1;9(2):118–26.

26. Cabrita L, Fossen T, M. Andersen éyvind. Analytical, Nutritional and Clinical Methods Section Colour and stability of the six common anthocyanidin 3-glucosides in aqueous solutions. Food Chemistry . 1999 Jun 3;68(2000):101–7.
27. Dyrby M, Westergaard N, Stapelfeldt H. Light and heat sensitivity of red cabbage extract in soft drink model systems. - Abstract - Europe PMC. Food Chemistry. 2001 Mar 1;72(4):431–7.

CEK 1

ORIGINALITY REPORT

19%	18%	14%	13%
SIMILARITY INDEX	INTERNET SOURCES	PUBLICATIONS	STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	Submitted to Badan PPSDM Kesehatan Kementerian Kesehatan Student Paper	7%
2	adoc.pub Internet Source	6%
3	Submitted to Universitas Sam Ratulangi Student Paper	2%
4	repository.uhamka.ac.id Internet Source	1%
5	ejurnal.poltekkestasikmalaya.ac.id Internet Source	1%
6	ojs.poltekkes-medan.ac.id Internet Source	1%
7	psr.ui.ac.id Internet Source	1%
8	VNUA Publication	1%

Exclude quotes	On	Exclude matches	< 1%
Exclude bibliography	On		