DENTIN
JURNAL KEDOKTERAN GIGI
Vol VI. No 3. Desember 2022

EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN RAMBAI *(Sonneratia caseolaris)* TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Melati Ainun Nisa[1)], Beta Widya Oktiani[2)], Deby Kania Tri Putri[3)]
[1)]Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin
[2)]Departemen Periodonsia, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin
[3)]Departemen Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin

ABSTRACT
Background*: Aggressive periodontitis is a disease that destroys periodontal tissue rapidly caused by the dominance of the bacterium Aggregatibacter actinomycetemcomitans by 90%. Aggressive periodontitis treatment may include antibiotics. One of the antibiotics that can be used is metronidazole, but this metronidazole can have side effects when used in the long term such as headaches, nausea, dry mouth, and a metallic taste in the mouth. There are herbal plants, namely rambai leaves (Sonneratia caseolaris) which contain compounds that can be used as antibacterials including phenols, flavonoids, tannins, steroids, and saponins.* ***Purpose****: To prove and analyze the antibacterial effectiveness of rambai leaf extract (Sonneratia caseolaris) against the growth of Aggregatibacter actinomycetemcomitans bacteria.* ***Method:*** *True experimental with post test design only with control group and there are 7 treatment groups with 6 repetitions. Antibacterial test using liquid dilution method to determine the value of Minimum Inhibitory Content (MIC) and solid dilution to determine the value of Minimum Bactericidal Content (MBC). Data analysis using Kruskal Wallis and Post Hoc Mann Whitney test.* ***Results****: Based on the results and data analysis, the MIC value of rambai leaf extract was found at a concentration of 40%, while the MBC was found at a concentration of 100%.* ***Conclusion****: Rambai leaf extract is able to inhibit and kill Aggregatibacter actinomycetemcomitans bacteria.*

Keywords*: Aggregatibacter actinomycetemcomitans, Aggressive Periodontitis, Sonneratia caseolaris*

ABSTRAK
Latar belakang: Periodontitis agresif merupakan penyakit yang merusak jaringan periodontal dengan cepat yang disebabkan oleh dominasi bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* sebesar 90%. Perawatan periodontitis agresif dapat berupa antibiotik. Salah satu antibiotik yang dapat dipakai yaitu *metronidazole*, namun *metronidazole* ini dapat memberikan efek samping apabila digunakan dalam jangka panjang seperti diantaranya sakit kepala, mual, mulut kering, dan berasa logam di mulut. Terdapat tumbuhan herbal yaitu daun rambai (*Sonneratia caseolaris*) yang mengandung senyawa yang dapat digunakan sebagai antibakteri diantaranya fenol, flavonoid, tanin, steroid, dan saponin. **Tujuan:** Membuktikan dan menganalisis efektivitas antibakteri ekstrak daun rambai *(Sonneratia caseolaris)* terhadap pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. **Metode:** *True experimental* dengan desain *posttest only with control group* dan terdapat 7 kelompok perlakuan dengan 6 kali pengulangan. Uji antibakteri menggunakan metode dilusi cair untuk mengetahui nilai Kadar Hambat Minimum (KHM) dan dilusi padat untuk mengetahui nilai Kadar Bunuh Minimum (KBM). Analisis data menggunakan uji *Kruskal Wallis dan Post Hoc Mann Whitney*. **Hasil:** Berdasarkan hasil dan analisis data didapatkan nilai KHM ekstrak daun rambai pada konsentrasi 40%, sedangkan KBM terdapat pada konsentrasi 100%. **Kesimpulan:** Ekstrak daun rambai mampu menghambat dan membunuh bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans.*

Kata Kunci: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, Daun Rambai, Periodontitis Agresif

Korespondensi: Melati Ainun Nisa; Periodonsia/Program Studi Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Lambung Mangkurat, Jl. Veteran 128 B, Banjarmasin, Indonesia; E-mail melatiainunisa40@gmail.com

PENDAHULUAN

Berdasarkan data RISKESDAS 2018 menyebutkan bahwa sebanyak 57,6% masyarakat Indonesia bermasalah pada kesehatan gigi dan mulutnya, salah satunya adalah penyakit periodontal yang sering terjadi di Indonesia dengan persentase kasus sebesar 74,1%, pada masyarakat usia ≥15 tahun menunjukkan persentase sebesar 67,8%.[1–3] Penyakit periodontal menjadi permasalahan tersering kedua setelah karies yang diderita masyarakat Indonesia. Salah

satu penyakit periodontal yaitu periodontitis dengan prevalensi hampir seluruh daerah di Indonesia lebih dari 15%.[4,5]

Salah satu jenis periodontitis yaitu periodontitis agresif, periodontitis ini merusak jaringan dengan cepat yang melibatkan jaringan periodontal itu sendiri dan tulang alveolar yang biasanya terjadi pada usia muda dibawah 30 tahun.[5] Menurut penelitian sebelumnya cukup banyak peneliti mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri-bakteri pada periodontitis jenis ini, salah satu bakteri yang dominan yaitu *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dengan frekuensi 90%.[6,7] *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* adalah bakteri anaerob fakultatif, gram negatif, dan non motil yang dapat membuat kerusakan pada jaringan periodontal karena adanya faktor virulensi diantaranya adhesin, fimbriae, endotoksin, dan eksotoksin yang dapat menimbulkan koloni pada celah subgingival dan membuat kerusakan jaringan periodontal.[8,9]

Perawatan periodontitis agresif dapat dilakukan dengan perawatan mekanis berupa *scaling and root planning* (SRP) dan perawatan berupa antibiotik. Salah satu antibiotik yang dapat dipakai dalam perawatan periodontitis yaitu *metronidazole*. Penggunaan antibiotik tersebut bisa secara lokal atau sistemik karena mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, tetapi pemakaian *metronidazole* ini dapat menimbulkan efek samping apabila digunakan dalam jangka panjang diantaranya mual, sakit kepala, mulut kering, dan adanya rasa logam di dalam mulut.[10]

Adanya efek samping dari penggunaan *metronidazole* maka diperlukannya bahan herbal alternatif sebagai bahan antibiotik untuk menghindari efek samping yang ditimbulkan karena penggunaan *metronidazole*. Banyak penelitian yang sudah dilakukan sebelumnya mengenai berbagai jenis tanaman herbal untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri yang merugikan di dalam rongga mulut. Daerah tropis seperti Indonesia khususnya di Kalimantan banyak tanaman yang diyakini masyarakat bermanfaat menjadi obat herbal salah satunya yaitu rambai *(Sonneratia caesolaris).*[11]

Rambai banyak hidup di kawasan Kalimantan khususnya di Kalimantan Selatan. Daun rambai menjadi salah satu tanaman herbal yang biasanya dimanfaatkan untuk menyembuhkan luka memar dikulit, obat diare, dan obat cacar.[12] Skrining fitokimia sebelumnya menunjukkan bahwa daun rambai (*Sonneratia caseolaris*) mengandung senyawa metabolit sekunder diantaranya fenol, flavonoid, tanin, steroid, dan saponin. Senyawa tersebut memiliki fungsi sebagai antibakteri.[13,14]

Studi pendahuluan sebelumnya menyatakan bahwa ekstrak daun rambai pada konsentrasi 20% 40% 60% 80% memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus Mutans* menunjukkan KHM pada konsetrasi 20% dan KBM pada konsentrasi 60%. Penelitian Sogandi tahun 2017 menunjukkan hasil adanya aktivitas antibakteri ekstrak etanol 96% daun rambai (*Sonneratia caseolaris)* terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan zona hambat pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%.[12]

Berdasarkan latar belakang diatas, tujuan penelitian ini untuk membuktikan dan menganalisis efektivitas antibakteri ekstrak daun rambai *(Sonneratia caseolaris)* konsentrasi 20% 40% 60% 80% dan 100% terhadap pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* melalui studi *in vitro* menggunakan metode dilusi.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini telah dinyatakan laik etik oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan FKG ULM dengan keterangan kelaikan etik No. 005/KEPKG-FKGULM/EC/III/2022. Penelitian ini menggunakan metode *True Experimental* dengan *Posttest only with control group design.* Terdiri dari 7 kelompok perlakuan dengan 6 kali pengulangan yang meliputi ekstrak daun rambai konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, 100%, kontrol positif berupa *metronidazole*, dan kontrol negatif berupa aquades sehingga total sampel yang didapatkan sebanyak 42 sampel. Uji KHM melalui metode dilusi cair menggunakan media BHIB dan alat *spektrofotometer Uv-Vis*, sedangkan uji KBM melalui metode dilusi padat menggunakan media NA dan alat *colony counter*.

Determinasi Tumbuhan Rambai (*Sonneratia caseolaris)*

Daun rambai yang digunakan adalah daun rambai muda warna hijau tua terang dimulai dari 1-3 helai di atas pucuk. Daun rambai didapatkan di sekitar Sungai Barito, Anjir, Provinsi Kalimantan Selatan. Daun rambai dilakukan uji determinasi di Laboratorium Dasar FMIPA ULM Banjarbaru. Hasil yang didapatkan adalah nama lokal tumbuhan rambai atau nama latinnya *Sonneratia caseolaris.*

Ekstraksi Daun Rambai (*Sonneratia caseolaris)*

Daun rambai diesktrak melalui metode maserasi. Daun rambai dicuci dan dikeringkan dengan oven, selanjutnya diblender sampai berbentuk serbuk. Serbuk daun rambai direndam dalam pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:7 sampai serbuk terendam semua, Langkah selanjutnya rendaman disaring menggunakan kertas saring, kemudian endapan dimaserasi kembali sebanyak 3 kali menggunakan cara yang sama. Ekstrak kental yang didapatkan yaitu sebanyak 18,258 gr. Ekstrak diuji bebas etanol menggunakan asam asetat dan asam sulfat, kemudian memanaskannya hingga tidak ditemukan bau ester maka esktrak dinyatakan bebas etanol. Langkah terakhir melakukan pengenceran ekstrak daun rambai menjadi konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% memakai rumus $V_1.C_1 = V_2.C_2$.

Pembuatan Larutan Kontrol

Kontrol positif berupa *metronidazole* dibuat dengan menumbuk tablet *metronidazole* 500 mg sampai menjadi serbuk, kemudian melarutkannya menggunakan aquades dengan perbandingan 1:1. Mengambil larutan kontrol positif tersebut 1 ml dan menyimpannya pada tabung kontrol positif, kemudian memasukkan 1 ml kontrol negatif berupa aquades ke tabung yang lainnya.

Pembuatan Sampel

Membiakkan isolat bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* pada media BHIB steril dan menginkubasi disuhu 37^0C selama 24 jam. Setalah itu, menyeterakan sesuai standar Mc Farland 0,5 dan memasukkannya 1 ml ke setiap tabung kelompok konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, 100%, kelompok kontrol positif, dan kelompok kontrol negatif. Tabung tersebut kemudian dihomogenkan dengan *vortex mixer* sampai homogen.

Uji Kadar Hambat Minimum (KHM)
Menggunakan Dilusi Cair

Uji KHM dilakukan dengan cara membandingkan nilai selisih absorbansi sebelum dan setelah diinkubasi. Setiap kelompok konsentrasi dan kelompok kontrol yang telah dihomogenkan dengan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* diukur nilai absorbansinya memakai alat *spektrofotometer Uv-Vis*. Kemudian dilakukan inkubasi disuhu 37^0C selama 24 jam dan diukur nilai absorbansinya kembali setelah inkubasi memakai alat *spektrofotometer Uv-Vis*. Nilai KHM didapatkan dari selisih nilai absorbansi pada kelompok ekstrak dengan konsentrasi terkecil yang memiliki selisih nilai absorbansi secara signifikan lebih rendah dibandingkan selisih nilai absorbansi pada kelompok kontrol negatif.

Uji Kadar Bunuh Minimum (KBM)
Menggunakan Dilusi Padat

Setelah nilai KHM didapat, dilanjutkan dengan penghitungan nilai KBM. Semua kelompok konsentrasi dan kelompk kontrol yang telah dilakukan penghitungan nilai absorbansi, kemudian diambil dan digoreskan pada media NA. Dilakukan inkubasi disuhu 37^0C dalam waktu 24 jam, setalah itu dihitung jumlah koloni dengan alat *colony counter*. Nilai KBM didapatkan dari konsentrasi terkecil yang memiliki nilai jumlah koloni sebesar 0 CUF/µL.

HASIL

Hasil Pengukuran KHM dan KBM ekstrak daun rambai pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% terhadap pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* sebagai berikut:

Tabel 1. Nilai Kadar Hambat Minimum (KHM) Ekstrak Daun Rambai (*Sonneratia caseolaris*) Terhadap Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

Perlakuan	N	Selisih Nilai Absorbansi		Keterangan
		Mean	Standar Deviasi	
20%	6	0	0	Tetap
40%	6	-0.24567	0.020646	Turun
60%	6	-0.54100	0.031831	Turun
80%	6	-0.93867	0.031942	Turun
100%	6	-1.17400	0.034629	Turun
K (+)	6	-0.41384	0.059216	Turun
K(-)	6	0.15533	0.025169	Naik

Berdasarkan tabel 1 di atas menunjukkan kelompok perlakuan ekstrak daun rambai konsentrasi 40%, 60%, 80%, 100%, dan kontrol positif menunjukkan penurunan *mean* selisih nilai absorbansi yang artinya terdapat penghambatan pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, sedangkan pada kelompok kontrol negatif menunjukkan nilai *mean* yang mengalami peningkatan berdasarkan *mean* nilai selisih absorbansi yang menandakan adanya pertumbuhan yang optimal pada bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Konsentrasi 20% tidak mengalami penurunan ataupun peningkatan *mean* selisih absorbansi sehingga nilai KHM yang didapatkan dari ekstrak daun rambai terhadap pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* adalah konsentrasi 40% dengan *mean* ± SD sebesar -0,24567 ± 0.020646 yang lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol negatif dengan nilai mean ± SD sebesar 0.15533 ± 0.025169.

Tabel 2. Nilai Kadar Bunuh Minimum (KBM) Ekstrak Daun Rambai (*Sonneratia caseolaris*) Terhadap Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

Perlakuan	N	Jumlah Koloni (CFU/µL)	
		Mean	Standar Deviasi
20%	6	1888.00	192.931
40%	6	1397.33	121.423
60%	6	1346.00	128.766
80%	6	740.67	127.434
100%	6	0.00	0.00
K (+)	6	0.00	0.00
K (-)	6	2414.67	244.709

Berdasarkan tabel 2 menunjukkan kelompok ekstrak daun rambai 20%, 40%, 60%, dan 80% diketahui masih terdapat pertumbuhan koloni bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, sedangkan pada kelompok ekstrak daun rambai dengan konsentrasi 100% menunjukkan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*,

sehingga didapat hasil KBM dari ekstrak daun rambai terhadap pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* yaitu pada konsentrasi 100% dengan nilai *mean* ± SD sebesar 0.000 ± 0.000.

Hasil uji statistik data selisih nilai absorbansi untuk nilai KHM, pada uji normalitas menunjukkan data tidak berdistribusi normal dan uji homogenitas menggunakan *levene's test* menghasilkan data tidak homogen karena nilai signifikansi data tersebut senilai 0.014<0.05. Berdasarkan hasil uji tersebut maka data selisih nilai absorbansi dapat diuji dengan *kruskal wallis* dan menghasilkan nilai p=0.000<0.05 yang berarti adanya signifikansi atau hipotesis 1 diterima, maka uji selanjutnya menggunakan uji *post hoc mann whitney* untuk mengetahui perbedaan yang signifikan pada seluruh kelompok konsentrasi dan kelompok kontrol. Uji *post hoc mann whitney* data KHM ditunjukkan pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji *Post Hoc Mann Whitney* KHM Ekstrak Daun Rambai (*Sonneratia caseolaris)* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Konsentrasi Ekstrak Daun Rambai (*Sonneratia caseolaris)* KHM						**Kelompok Kontrol**	
Perlakuan	**20%**	**40%**	**60%**	**80%**	**100%**	**K (+)**	**K (-)**
20%	-	0.002*	0.002*	0.002*	0.002*	0.002*	0.002*
40%		-	0.004*	0.004*	0.004*	0.004*	0.004*
60%			-	0.004*	0.004*	0.006*	0.004*
80%				-	0.004*	0.004*	0.004*
100%					-	0.004*	0.004*
K (+)						-	0.004*
K (-)							-

Keterangan: *Terdapat perbedaan signifikan / bermakna (p < 0.05)

Hasil uji statistik data jumlah koloni untuk nilai KBM, pada uji normalitas data tidak berdistribusi normal dan uji homogenitas menghasilkan nilai signifikansi 0.001<0.05 sehingga varian data tersebut tidak homogen, maka uji yang dapat dilakukan dengan uji *kruskal wallis*. Hasil uji *kruskal wallis* menghasilkan p=0.000<0.05, sehingga data tersebut menunjukkan perbedaan signifikan terhadap beberapa kelompok atau secara statistik hipotesis 1 diterima. Uji selanjutnya yaitu uji *post hoc mann whitney* untuk melihat perbedaan yang signifikan pada seluruh kelompok konsentrasi dan kelompok kontrol. Uji *post hoc mann whitney* data KBM ditunjukkan pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji *Post Hoc Mann Whitney* KBM Ekstrak Daun Rambai (*Sonneratia caseolaris)* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Konsentrasi Ekstrak Daun Rambai (*Sonneratia caseolaris)* KBM						**Kelompok Kontrol**	
Perlakuan	**20%**	**40%**	**60%**	**80%**	**100%**	**K (+)**	**K (-)**
20%	-	0.004*	0.004*	0.004*	0.002*	0.002*	0.006*
40%		-	0.520	0.004*	0.002*	0.002*	0.004*
60%			-	0.004*	0.002*	0.002*	0.004*
80%				-	0.002*	0.002*	0.004*
100%					-	1.000	0.002*
K (+)						-	0.002*
K (-)							-

Keterangan: *Terdapat perbedaan signifikan / bermakna (p < 0.05)
Tidak terdapat perbedaan signifikan / bermakna (p>0.05)

mampu menghambat dan membunuh bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Konsentrasi 20% menunjukkan *mean* nilai absorbansi yang tetap karena pekatnya ekstrak perlakuan tersebut, sehingga tidak dapat terukur oleh *spektrofotometer*. Selain itu, tidak adanya selisih *mean* nilai absorbansi menunjukkan bahwa konsentrasi 20% tidak memiliki daya hambat. Hal tersebut karena pada konsentrasi 20% senyawa metabolik sekunder yang terkandung pada ekstrak daun rambai belum mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, karena bakteri tersebut merupakan bakteri anaerob fakultatif dan gram negatif. Lapisan peptidoglikan dinding sel bakteri gram negatif lebih tipis daripada bakteri gram positif, namun mempunyai lapisan membran luar tambahan yang lebih kompleks sehingga membuat senyawa aktif menjadi lebih sulit melewati dinding sel bakteri gram negatif daripada bakteri gram positif.[15]

Ekstrak daun rambai konsentrasi 40%, 60%, 80% dan 100% terbukti mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* yang ditandai dengan menurunnya nilai absorbansi setelah dilakukan inkubasi disuhu 37℃ dalam waktu 24 jam. Konsentrasi 100% menunjukkan tidak ditumbuhi koloni bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* setelah diinkubasi dalam waktu 24 jam. Hal tersebut menandakan bahwa ekstrak daun rambai memiliki daya hambat dan daya bunuh terhadap bakteri gram negatif seperti *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* yang didukung oleh penelitian Sogandi tahun 2017 yang juga menggunakan bakteri gram negatif yaitu *Escherichia coli*.[12]

Ekstrak daun rambai mengandung senyawa metabolik sekunder diantaranya fenol, flavonoid, tanin, saponin, dan steroid yang mampu berperan sebagai antibakteri dengan mekanisme tertentu.[13,14] Kandungan tersebut mampu menghambat dan membunuh bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* yang sejalan dengan penelitian oleh Sidharta tahun 2021 menggunakan ekstrak eceng gondok (*Eichhornia crassipes*) mampu menghambat dan membunuh bakteri gram negatif yaitu *Porphyromonas gingivalis.* Kandungan eceng gondok tersebut serupa dengan daun rambai yaitu fenol yang merupakan kandungan terbanyak, flavonoid, dan tanin.[16,17] Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Mariam tahun 2020 menggunakan ekstrak kulit batang pohon kayu ulin (*Eusideroxylon zwageri)* mampu menghambat dan membunuh pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans.* Ekstrak kulit batang pohon kayu ulin tersebut memiliki kandungan serupa dengan daun rambai yaitu didominasi oleh fenol, flavonoid, tanin, dan saponin dalam level sedang.[18]

Hasil penelitian Winarti tahun 2019 menyebutkan kadar fenol pada ekstrak daun rambai sebesar 5,9167 mg/ml EAG.[13] Fenol merupakan kandungan senyawa metabolik sekunder yang dominan pada ekstrak daun rambai. Fenol dapat mengganggu pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dengan cara mengganggu permeabilitas membran sel bakteri. Sifat fenol yang asam mampu membuat terjadinya denaturasi protein dan membuat rusaknya membran sel bakteri tersebut.[5,19]

Kandungan ekstrak daun rambai yang tertinggi setelah fenol yaitu flavonoid. Hasil penelitian Winarti tahun 2019 menyebutkan kadar flavonoid pada ekstrak daun rambai sebesar 3,5370 mg/ml EK.[13] Flavonoid dapat mengganggu pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dengan tiga cara yaitu menghambat proses metabolisme energi, menghambat fungsi membran sel, dan menghambat sintesis asam nukleat. Proses penghambatan metabolisme energi, flavonoid akan memperlambat pemakaian oksigen oleh bakteri dengan menghindari terbentuknya energi di membran sitoplasma, memperlambat pergerakan bakteri dalam aktivitas antimikroba dan protein ekstraseluler. Flavonoid dalam menghambat fungsi membran sel akan membuat terbentuknya senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang dapat membuat rusaknya membran sel dan disertai dengan keluarnya senyawa intraseluler bakteri. Cara kerja flavonoid dalam menghambat sintesis asam nukleat, cincin A dan B senyawa flavonoid memiliki peran yang penting dalam proses interkelasi atau ikatan hidrogen, dengan menimbun basa asam nukleat sebagai akibatnya akan mengganggu terbentuknya DNA dan RNA bakteri.[20,21]

Senyawa lain pada ekstrak daun rambai yaitu tanin. Hasil penelitian Winarti tahun 2019 menyebutkan kadar tanin pada ekstrak daun rambai sebesar 1,1667 mg/ml EC.[13] Tanin dapat mengganggu pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dengan cara menginaktivasi adhesin sel bakteri, melalui enzim dan membuat terganggunya pengangkutan protein pada lapisan dalam sel bakteri. Selain itu, tanin memiliki sasaran pada polipeptida dinding sel bakteri yang menyebabkan kurang sempurna dalam pembentukan dinding sel bakteri.[22]

Steroid merupakan kandungan lainnya yang ada pada ekstrak daun rambai dan bisa menghambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans.* Penelitian oleh Srinengri tahun 2019 menunjukkan bahwa esktrak daun rambai mengandung steroid, tetapi tidak diketahui jumlah kadarnya.[14] Steroid memiliki kemampuan berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang sifatnya permeabel terhadap senyawa-senyawa

lipofilik, mengakibatkan menurunnya integritas membran serta morfologi pada membran sel berubah dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, sehingga membuat kuat ikatan polimer yang menyebabkan terjadinya kerusakan porin dan terjadi lisis.[19]

Kandungan lain yang terkandung dalam ekstrak daun rambai yaitu saponin. Hasil penelitian Srinengri tahun 2019 menunjukkan adanya kandungan saponin pada esktrak daun rambai, tetapi tidak diketahui jumlah kadarnya.[14] Saponin mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dengan membuat bocornya enzim dan protein dari dalam sel bakteri tersebut. Saponin sebagai antibakteri dibuktikan melalui sifatnya yang mirip dengan detergen. Saponin akan membuat tegangan permukaan dinding sel bakteri turun, membuat rusak permeabilitas membran sehingga adanya kerusakan membran sel tersebut akan membuat kelangsungan hidup bakteri sangat terganggu.[20,23]

Uji KHM pada kelompok m*etronidazole* menunjukkan adanya penurunan nilai *mean* absorbansi sebesar -0.41384 yang menandakan adanya daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, sedangkan pada uji KBM kelompok *metronidazole* menunjukan tidak ada pertumbuhan koloni bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* pada media padat. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Alibasyah tahun 2020 yang menggunakan kontrol positif berupa *metronidazole* menunjukan hasil adanya daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. M*etronidazole* dipilih sebagai kontrol positif karena memiliki kandungan bahan aktif yang bersifat murni dan tergolong antibiotika spektrum luas, serta efektif melawan bakteri anaerob gram negatif, salah satunya yaitu *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *Metronidazole* mampu berinteraksi dengan DNA bakteri dan mengganggu struktur heliksnya sehingga membuat rusaknya struktur DNA, serta menghambat sintesis asam nukleatnya melalui penghambatan proses transkripsi dan replikasi DNA sehingga memengaruhi seluruh fase pertumbuhan sel bakteri, kemudian mengakibatkan terjadinya kematian sel bakteri.[24,25]

Uji KHM pada kelompok kontrol negatif berupa aquades menunjukkan peningkatan nilai *mean* absorbansi sebesar 0.15533, sedangkan pada uji KBM ditemukan pertumbuhan bakteri pada media *NA* dengan nilai *mean* jumlah koloni sebesar 2414.67 CFU/µL. Hal ini membuktikan bahwa aquades tidak efektif sebagai antibakteri sehingga tidak mampu menghambat dan mambunuh bakteri *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans*. Hasil ini sesuai dengan penelitian Ridhwana tahun 2020 yang menunjukkan aquades tidak mempunyai daya hambat atau daya bunuh terhadap bakteri karena umumnya aquades hanya dipakai untuk pelarut ekstrak atau bahan kimia, untuk membersihkan alat-alat laboratorium, dan sebagai kontrol negatif yang mutlak agar tidak menimbulkan adanya efek antibakteri pada kontrol negatif suatu penelitian.[5]

Berdasarkan uji statistik selisih nilai absorbansi pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, 100%, kontrol positif, dan kontrol negatif diketahui semua kelompok konsentrasi dan kelompok kontrol terdapat perbedaan signifikan atau terdapat perbedaan bermakna satu sama lain. Konsentrasi 40%, 60%, dan 80% menunjukkan *mean* selisih nilai absorbansi yang lebih rendah dibandingkan konsentrasi 100%. Hal tersebut membuktikan bahwa larutan konsentrasi 40%, 60%, dan 80% mempunyai daya hambat yang lebih lemah dibandingkan konsentrasi 100%, tetapi mempunyai efek antibakteri yang lebih tinggi dibandingkan kontrol negatif. Hasil tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi maka semakin kuat sifat antibakteri ekstrak daun rambai terhadap pertumbuhan bakteri. Hal tersebut sejalan dengan penelitian Kumara tahun 2019 yang menyatakan bahwa meningkatkan konsentrasi ekstrak akan menambah kandungan senyawa antibakteri yang terkandung dalam ekstrak tersebut, sehingga daya hambat pertumbuhan bakteri dari ekstrak semakin kuat.[26]

Berdasarkan uji statistik jumlah koloni bakteri *Aggregtaibacter actinomycetemcomitans* tidak terdapat perbedaan signifikan pada beberapa kelompok, yaitu konsentrasi 40% terhadap konsentrasi 60% dan konsentrasi 100% terhadap kontrol positif. Tidak terdapatnya perbedaan signifikan disebabkan karena jumlah koloni yang terbentuk antara kelompok tersebut tidak jauh berbeda atau adanya kesetaraan daya bunuh terhadap bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Adanya kesetaraan tersebut dapat disebabkan oleh ketidakstabilan kemampuan kerja antibakteri pada konsentrasi tertentu yang ditandai dengan tidak terdapatnya daya hambat yang lebih besar (tidak beda nyata) ketika suatu konsentrasi dinaikkan. Ketidakstabilan tersebut disebabkan karena senyawa metabolit sekunder pada peningkatan konsentrasi tertentu mempunyai batas kemampuan dalam bioaktivitasnya, sehingga tidak menunjukkan peningkatan respon yang signifikan atau tidak adanya perbedaan yang nyata.[27]

Konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 80% mempunyai *mean* jumlah koloni yang lebih tinggi daripada konsentrasi 100% dan kontrol positif. Hal tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi semakin turun pertumbuhan jumlah koloni bakteri. Konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 80% tidak mempunyai daya bunuh, sedangkan konsentrasi 100% dan kontrol positif memiliki daya bunuh yang ditandai dengan nilai *mean* jumlah koloni sebesar 0.00 CFU/ µL. Hasil dari uji statistik menunjukkan bahwa konsentrasi 100% tidak terdapat

perbedaan signifikan atau bermakna terhadap kontrol positif, sehingga dapat diartikan memiliki aktivitas antibakteri yang setara. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Ridhwana tahun 2020 yang memperlihatkan hasil tidak adanya perbedaan signifikan pada uji statistik karena perlakuan tersebut memiliki kesetaraan daya bunuh terhadap bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.[5] Dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun rambai memiliki daya hambat dan daya bunuh terhadap pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Nilai KHM pada konsentrasi 40%, sedangkan nilai KBM pada konsentrasi 100%.

DAFTAR PUSTAKA

1. Dwipriastuti D, Putranto RR, Anggarani W. Perbedaan Efektivitas Chlorhexidine Glukonat 0,2% Dengan Teh Hijau (Camellia sinensis). ODONTO Dent. J. 2017; 4(1): 50-54.
2. Asdar, Cindrakori HN. Daya Hambat Gel Propolis dari Sulawesi Selatan Terhadap Pertumbuhan Bakteri Porphyromonas gingivalis. Jurnal B-Dent. 2015: 2(2): 102.
3. Suratri MAL, Jovina TA, Andayasari L, Edwin VA, Ayu GAK. Pengaruh Hipertensi Terhadap Kejadian Penyakit Jaringan Periodontal (Periodontitis) pada Masyarakat Indonesia (Data Riskesdas 2018). Buletin Penelitian Kesehatan. 2020; 48(4): 228.
4. Surya LS. Sutiawan, Besral. Hubungan faktor lokal, faktor sistemik dan faktor perilaku terhadap kejadian penyakit periodontal di Indonesia (Analisis Riskesdas). Makassar Dent. J. 2019; 8(2): 58.
5. Ridhwana L, Panjaitan FUA, Wasiaturrahmah Y. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kasturi (Mangifera casturi) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Aggregatibacter actinomycetemcomitans. Jurnal Kedokeran Gigi. 2020; IV(2): 49-50.
6. Saputri D, Masulili SLC. Perawatan Periodontal Pada Pasien Dengan Periodontitis Agresif (Laporan Kasus). Cakradonya Dent J. 2015; **7**(1): 774.
7. Carranza FA, MG, Newman HT. Carranza's Clinical periodontology. Philadelphia: WB Sauders; 2015: pp. 99-607.
8. Andayani R, Imron A, Rahimi A. Kemampuan Air Rebusan Daun Salam (Eugenia Polyantha Wight) Terhadap Jumlah Makrofag pada Gambaran Histologi Periodontitis Agresif (Penelitian Pada Tikus Model). Cakradonya Dent J. 2016; 8(2): 80.
9. Wulandari I, Emriadi, Supriyanto K. Perbedaan Daya Hambat Madn Konsentrasi 100% Terhadap Pertumbuhan Bakteri Porphyromonas Gingivalis Dan Aggregatibacter Actinomycetemcomitans. Andalas Dental Journal. 2018; 6(1): 2.
10. Tedjasulaksana R. Metronidasol Sebagai Salah Satu Obat Pilihan Untuk Periodontitis Marginalis. Jurnal Kesehatan Gigi. 2016; 4(1): 20-21.
11. Helda, Aspriyanto D, Setyawardhana RHD. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Rambi (Sonneratia Caseolaris) Konsentrasi 70%, 80% dan 90% Terhadap Streptococcus mutans in Vitro. Dentin (Jurnal Kedokteran Gigi). 2020; IV(3): 81-85.
12. Sogandi, Anggelia F, Lilih RK. UJI Aktivitas Antibakteri Ekstrak EtanoL 96% Daun Rambai (Sonneratia caseolaris, (L.) Engl) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Escherichia coli. Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal. 2017; 2(1): 74.
13. Winarti, Rahardja BS, Sudarno. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mangrove Sonneratia caseolaris Berdasarkan Tingkat Kematangan Daun. Journal of Marine and Coastal Science. 2019; 8(3): 34.
14. Srinengri L, Arryati H, Yuniarti. Identifikasi Kandungan Fitokimia Tumbuhan Pidada (Sonneratia caseolaris) dari Hutan Mangrove. Jurnal Sylva Scienteae. 2019; 2(4): 608.
15. Putri NHS, Nurdiwiyati D, Lestari S, Ramdhan B, Efendi M, Nurhidayat N. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Tangkai dan Daun Begonia Multangula Blume. Terhadap Porphyromonas Gingivalis. Jurnal Biologi Universitas Andalas. 2019; 7(1): 55.
16. Sidharta R, Sutanti V, Diah, Santi AN. Efektivitas Ekstrak Daun Eceng Gondok (Eichhornia crassipes) Terhadap Viabilitas Porphyromonas gingivalis Secara In Vitro. E-Prodenta Journal of Dentistry. 2021; 5(1): 403–404.
17. Mohamed WA, Mansour MMA, Salem MZM. Lemna gibba and Eichhornia crassipes extracts: Clean Alternatives For Deacidification, Antioxidation And Fungicidal Treatment Of Historical Paper. Jornal of Cleaner Production. 2019; 219(1): 849.
18. Mariam F, Firdaus IWAK, Panjaitan FUA. Uji Efektivitas Ekstrak Kulit Batang Pohon Kayu Ulin (Eusideroxylon zwageri) Terhadap Aggregatibacter actinomycetemcomitans. Dentin Jurnal Kedokteran Gigi. 2020; IV(2): 44.
19. Sapara TU, Waworuntu O, Juliartri. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pacar Air (Impatiens balsamina L.) Terhadap Pertumbuhan Porphyromonas gingivalis. Jurnal Ilmiah Farmasi. 2016; 5(4); 14.
20. Ernawati, Sari K. Kandungan Senyawa Kimia Dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Alpukat (Persea americana P.Mill) Terhadap Bakteri Vibrio alginolyticus. Jurnal Kajian Veteriner. 2015; 3(2): 208.
21. Khalishah N, Oktiani BW, Adhani R.

Antibacterial Effectiveness Test of Ramania Leaves (Bouea macrophylla Griffith) Flavonoid Extract on Aggregatibacter actinomycetemcomitans. Dentino Jurnal Kedokteran Gigi. 2022; VII(1): 10.
22. Egra S, Mardhiana, Rofin M, Adiwena M, Jannah N, Kuspradini H, Mitsunaga T. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Bakau (Rhizophora mucronata) dalam Menghambat Pertumbuhan Ralstonia Solanacearum Penyebab Penyakit Layu. Agrovigor J. Agroekoteknologi. 2019; 12(1): 26-31.
23. Sudrajat ACL, Hardhani PR, Sholekhah NK. 2020 Efektivitas Ekstrak Daun Jambu Air (Syzygium Aqueum) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Aggregatibacter actinomycetemcomitans. Prosiding Seminar Nasional Unimus: 772-773.
24. Alibasyah ZM, Ningsih DS, Sinda MP. Aktivitas Antibakteri Etanol 70% Daun Biduri (Calotropis gigantea) Terhadap Aggregatibacter actinomycetemcomitans. Cakradonya Dent J. 2020; 12(1): 57.
25. Tani PG, Wowon PM, Khoman JA. Uji Daya Hambat Daging Buah Sirsak (Annona Muricata L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Porphyromonas Gingivalis. Jurnal Ilmiah Farmasi. 2017; 6(3): 101-103.
26. Kumara INC, Pradnyani IGAS, Sidiarta IGAFN. Uji efektivitas ekstrak kunyit (Curcuma longa) Terhadap Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri Streptococcus mutans. Intisari Sains Medis. 2019; 10(3): 464-466.
27. Sinarsih NK, Rita WS, Puspawati NM. Uji Efektifitas Ekstrak Daun Trembesi (Samanea saman (jacq.) Merr) Sebagai Antibakteri Escherichia coli Dan Staphylococcus aureus. Cakra Kimia (Indonesian E-Journal Applied Chemistry). 2016; 4(2): 129-135.