

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 70% DAUN BIDURI (*Calotropis gigantea*)
TERHADAP *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ATCC 29523**

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF 70% ETHANOL EXTRACT OF LEAF BIDURI
(*Calotropis gigantea*) AGAINST *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ATCC 29523**

Zulfan M Alibasyah, Diana Setya Ningsih, Maya Putri Sinda

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Syiah Kuala

Corresponding Author: ufanraiz@yahoo.com

Abstrak

Aggregatibacter actinomycetemcomitans ATCC 29523 merupakan bakteri biakan murni yang bersifat anaerob fakultatif Gram-negatif. Bakteri ini dominan pada periodontitis agresif lokalisata dan berperan penting dalam patogenesisnya. Daun biduri (*Calotropis gigantea*) mengandung flavonoid, fenol, tanin, saponin, terpenoid, dan alkaloid yang merupakan senyawa antibakteri. Metode maserasi dilakukan untuk pembuatan ekstrak *Calotropis gigantea* dengan menggunakan etanol 70% sebagai bahan pelarut. Penelitian ini termasuk eksperimen laboratorium menggunakan metode difusi sumuran dalam pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% daun *Calotropis gigantea* terhadap *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ATCC 29523 pada konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, dan 30%. Setiap konsentrasi menunjukkan hasil zona hambat sebesar 3,3 mm, 9,6 mm, 11 mm, 12,7 mm, 14,4 mm, dan 16,6 mm. Didapatkan hasil zona hambat yang berbeda pada berbagai konsentrasi, dan hasil hambatan semakin besar pada konsentrasi yang semakin tinggi. Analisis dengan uji *one way Anova* menunjukkan nilai signifikansi $p < 0,05$ yang menyatakan semua hasil penelitian ini memiliki perbedaan bermakna. Berarti bahwa ekstrak etanol 70% daun biduri (*Calotropis gigantea*) dalam berbagai konsentrasi di atas dapat menghambat pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ATCC 29523.

Kata Kunci: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, Daun biduri, Difusi Sumuran

Abstract

Aggregatibacter actinomycetemcomitans ATCC 29523 is a purely culture of Gram-negative facultative anaerobes. This bacterium is dominant in localized aggressive periodontitis and plays an important role in its pathogenesis. Biduri leaves (*Calotropis gigantea*) contain flavonoids, phenols, tannins, saponins, terpenoids, and alkaloids which are antibacterial compounds. The maceration method was carried out for the production of *Calotropis gigantea* extract using 70% ethanol as a solvent. This research is an experimental laboratory using diffusion well method in testing antibacterial activity of 70% ethanol extract of *Calotropis gigantea* leaves against *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ATCC 29523 at concentrations of 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, and 30%. Each concentration showed inhibition zone results of 3.3 mm, 9.6 mm, 11 mm, 12.7 mm, 14.4 mm and 16.6 mm. There are different inhibitory zone results at various concentrations, where the inhibition results will be greater at higher concentrations. Analysis with one way ANOVA test showed a significance value of $p < 0.05$ which means that this study had significant differences. It can be concluded that 70% ethanol extract of the leaves of biduri (*Calotropis gigantea*) in various concentrations as written above can inhibit the growth of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ATCC 29523.

Keyword: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, biduri leaves, well diffusion

PENDAHULUAN

Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*) merupakan Gram-negatif anaerob yang bersifat fakultatif, dengan bentuk *cocobacillus*, dan non-motil. Bakteri ini tidak bercabang, berukuran sekitar 0,4x1,0 µm dengan suhu pertumbuhan optimum 37°C, dan kolonisasi utamanya berada dalam plak subgingiva.^{1,2} *A. actinomycetemcomitans* ditemukan sebagai patogen utama pada periodontitis agresif lokalisata, yang dikarakteristikan dengan kerusakan ligamen periodontal dan tulang alveolar secara cepat.^{2,3}

Terapi utama periodontitis agresif dapat dilakukan dengan terapi mekanis (*scaling* dan *root planing*) serta terapi penunjang berupa terapi kimiawi (antibiotik dan obat kumur) untuk menghilangkan bakteri yang masih tersisa. Dewasa ini masyarakat telah meminimalisir penggunaan obat-obatan sebagai bahan terapi, karena dapat menimbulkan efek samping berupa resistensi bakteri terhadap antibiotika serta gangguan pengecapan dan perubahan warna gigi.⁴ Masyarakat telah beralih memanfaatkan tumbuhan herbal sebagai bahan terapi, salah satunya adalah tumbuhan biduri (*Calotropis gigantea*).⁵ Tumbuhan biduri (*Calotropis gigantea*) di Provinsi Aceh biasa dikenal sebagai tumbuhan rubik. Berbagai bagian pada tumbuhan biduri (*Calotropis gigantea*) seperti getah, batang, akar, daun, dan bunganya telah teridentifikasi mengandung senyawa bioaktif.⁵

Beberapa penelitian telah dikembangkan untuk meneliti tumbuhan biduri (*Calotropis gigantea*). Penelitian Ishnava *et al.* (2011)⁶ menggunakan ekstrak getah biduri (*Calotropis gigantea*) ditemukan dapat menghambat *S. mutans* dan *L. acidophilus* dengan aktivitas sebesar 19 mm. Penelitian Radhakrishnan *et al.* (2014)⁷ dengan ekstrak batang dan akar biduri (*Calotropis gigantea*) menunjukkan aktivitas antibakteri yang efektif terhadap bakteri *S. aureus*, *E. coli*, *V. chloerae*, *P. aeruginosa*, dan *S. Typhi*. Pada ekstrak batang didapatkan jangkauan hambat 9-12 mm, sedangkan pada ekstrak akar didapatkan zona hambat sebesar 8-11 mm. Selain itu, penelitian Dutta *et al.* (2014)⁸ yang menggunakan ekstrak etanol daun biduri (*Calotropis gigantea*) juga menemukan daya antibakteri yang signifikan terhadap *E. coli* dengan luas hambat 2,8 cm.

Seluruh bagian pada tumbuhan biduri (*Calotropis gigantea*) dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan berbagai bakteri. Beberapa penelitian sebelumnya yang membandingkan ekstrak daun, bunga, dan buah biduri (*Calotropis gigantea*), mendapatkan hasil bahwa ekstrak daun mengandung sifat antibakteri yang paling tinggi.^{5,9,10} Penelitian Dutta *et al.* (2014)⁸ terhadap uji fitokimiawi ekstrak etanol daun biduri (*Calotropis gigantea*) berhasil mengidentifikasi kandungan flavonoid yang menghasilkan warna hijau, fenol berwarna biru kehitaman, alkaloid berwarna merah kecoklatan, terpenoid berwarna oranye, tanin berwarna biru kehitaman, serta pada tes karbohidrat terbentuk cincin berwarna ungu. Penelitian Dewi dkk. (2018)¹¹ menggunakan ekstrak etanol daun biduri (*Calotropis gigantea*) dengan berbagai konsentrasi sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* menunjukkan bahwa konsentrasi terkecil 20% dapat menghambat pertumbuhan bakteri sebesar 26,2 mm; sedangkan konsentrasi tertinggi 100% menghambat pertumbuhan bakteri sebesar 31,5 mm. Perbedaan zona hambat dapat disebabkan oleh adanya pengenceran pada setiap konsentrasi.¹¹ Berdasarkan uraian latar belakang di atas, maka akan dilakukan penelitian mengenai aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% daun biduri (*Calotropis gigantea*) terhadap *A. actinomycetemcomitans* ATCC 29523.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris menggunakan *post test design only control group* dan dikerjakan pada bulan Desember 2018. Sampel penelitian ini adalah daun biduri (*Calotropis gigantea*) dengan karakteristik berwarna hijau segar yang didapat dari pantai Ulelheu, Banda Aceh. Bakteri biakan murni *A. Actinomycetemcomitans* ATCC 29523 didapat dari Laboratorium Oral Biology FKG UI. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi, digunakan untuk menguji antibakteri dari ekstrak yang dihasilkan menggunakan metode difusi sumuran.

Untuk pembuatan ekstrak etanol 70% daun biduri (*Calotropis gigantea*) dibutuhkan sebanyak 2 kg daun dan di cuci terlebih dahulu di bawah air mengalir, ditiriskan, dipisahkan dengan tulang daun, dan dibiarkan selama

tujuh hari pada suhu ruangan hingga kering. Simplisia daun yang sudah kering di potong kecil-kecil dan di blender, kemudian dimasukkan ke dalam larutan etanol 70% dan dimaserasi selama 3x24 jam pada suhu ruangan. Hasil maserasi disaring dengan corong *bucher* dan kertas *Whatmann* no.1 untuk memisahkan filtrat dan residu. Filtrat ditampung ke dalam tabung *Erlenmeyer*. Kemudian dilakukan pemekatan filtrat dengan *rotary evaporatory* untuk mendapatkan ekstrak yang kental. Selanjutnya dilakukan uji fitokimia untuk mengidentifikasi kandungan kimiawi pada ekstrak etanol 70% daun biduri (*Calotropis gigantea*). Kandungan kimia yang diuji adalah flavonoid, fenol, tanin, saponin, terpenoid, dan alkaloid.

Ekstrak murni (100%) daun biduri (*Calotropis gigantea*) yang telah didapat diencerkan dengan akuades agar didapatkan konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, dan 30% kemudian dihomogenkan dengan menggunakan *vortex*. Rumus yang digunakan untuk mengencerkan ekstrak adalah

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$$

Keterangan:

C_1 → konsentrasi awal

C_2 → konsentrasi akhir

V_1 → volume awal

V_2 → volume akhir

Selanjutnya ekstrak diencerkan untuk mendapatkan volume menggunakan rumus sebagai berikut:

$$V_{\text{pengencer}} = V_2 - V_1$$

Dilanjutkan dengan uji konfirmasi *A. actinomycetemcomitans* ATCC 29523 dengan pewarnaan Gram. Langkah pertama yang dilakukan pada pewarnaan Gram dengan jarum ose yang telah dipijarkan untuk mengambil bakteri dari media, kemudian dioleskan pada permukaan kaca preparat, lakukan di atas lampu spiritus agar terfiksasi. Tetesi kaca preparat dengan *crystal violet* dan biarkan selama 60 detik, lalu cuci di bawah aliran akuades. Selanjutnya teteskan lugol di atas kaca preparat dan biarkan selama 60 detik, dicuci kembali menggunakan akuades mengalir. Tetesi dengan alkohol 96% hingga berwarna jernih, kemudian ditetesi safranin dan tunggu 45 detik lalu gunakan kembali

akuades mengalir untuk pencucian. Selanjutnya teteskan minyak emersi pada kaca preparat yang sudah kering, kemudian diamati di bawah mikroskop cahaya. Hasil yang terlihat pada morfologi *A. actinomycetemcomitans* ATCC 29523 adalah berwarna merah karena termasuk bakteri Gram-negatif yang tidak mampu mempertahankan zat warna *crystal violet*.

Selanjutnya dilakukan peremajaan pada bakteri dengan mengambil sebanyak 1-3 goresan ose *A. actinomycetemcomitans* pada media, kemudian *Mueller Hinton Agar* (MHA) dalam *petri dish* digunakan sebagai media untuk inokulasi bakteri dengan metode *streak* T. *Petri dish* dimasukkan ke dalam *anaerobic jar* lalu dimasukkan ke dalam inkubator CO₂ dengan suhu 37°C selama 24 jam untuk proses inkubasi. Pekerjaan dilanjutkan dengan pembuatan suspensi *A. Actinomycetemcomitans* dengan menggunakan jarum ose yang telah dipijarkan untuk mengambil bakteri, lalu bakteri di ose dimasukkan ke 5ml larutan NaCl 0,85% dalam tabung reaksi. Kemudian larutan dalam tabung reaksi dihomogenkan menggunakan *vortex*. Larutan *Mc.Farland* 0,5 (5×10^8 CFU/ml) dapat digunakan untuk menyetarakan kekeruhan larutan.

Uji aktivitas antibakteri yang diperoleh dari ekstrak etanol 70% daun biduri (*Calotropis gigantea*) terhadap *A. actinomycetemcomitans* ATCC 29523 pada media *Mueller Hilton Agar* (MHA) diuji menggunakan metode difusi sumuran. Pada pengujian dilakukan replika sebanyak 3 kali. Sumuran berdiameter 6 mm dengan kedalaman 4 mm dibuat menggunakan perforator sebanyak 6 lubang pada media MHA yang telah diinokulasi *A. actinomycetemcomitans* ATCC 29523, kemudian ekstrak etanol daun biduri (*Calotropis gigantea*) dengan konsentrasi kelipatan 5 dari 5% hingga 30% dimasukkan masing-masing 0,5 µl dalam lubang sumuran yang telah ditandai. Digunakan metronidazol sebagai kontrol positif dan akuades sebagai kontrol negatif. *Petri dish* yang sudah diisi media, bakteri, dan ekstrak dimasukkan ke dalam inkubator CO₂ dengan suhu 37°C selama 1 hari untuk proses inkubasi. Selanjutnya digunakan alat ukur (jangka sorong) untuk mengukur diameter dari zona hambat yang diperoleh. Hasil pengukuran

yang diperoleh diinterpretasikan berdasarkan tabel klasifikasi Davis dan Stout (Tabel 1).

Tabel 1. Klasifikasi Davis dan Stout.¹²

Diameter Zona Terang (mm)	Kemampuan Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri
> 20	Sangat Kuat
11-20	Kuat
5-10	Sedang
<5	Lemah

Perangkat lunak SPSS digunakan untuk menganalisis data. Uji yang dilakukan adalah *One Way Analysis of Variance* (ANOVA) untuk melihat antibakteri yang diperoleh dari ekstrak etanol 70% daun biduri (*Calotropis gigantea*) terhadap *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ATCC 29523.

HASIL

Hasil ekstraksi daun biduri (*Calotropis gigantea*) dengan pelarut etanol didapatkan sebanyak 40 ml ekstrak murni 100% dengan warna hijau kehitaman seperti yang terlihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil ekstrak etanol 70% daun biduri (*Calotropis gigantea*)

Uji fitokimiawi ekstrak etanol 70% daun *Calotropis gigantea* menunjukkan flavonoid, tanin, saponin, terpenoid, dan alkaloid positif terkandung dalam ekstrak yang dapat dilihat dalam Tabel 2.

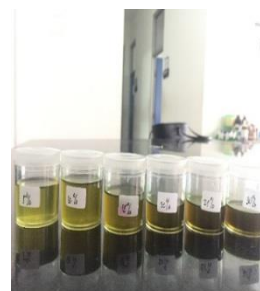
Tabel 2. Hasil uji fitokimiawi ekstrak etanol 70% daun *Calotropis gigantea*.

Uji Fitokimia	Hasil Uji
Flavonoid	+
Fenol	+
Tanin	+
Saponin	+
Terpenoid	+
Alkaloid	+

Keterangan : (+) ada kandungan

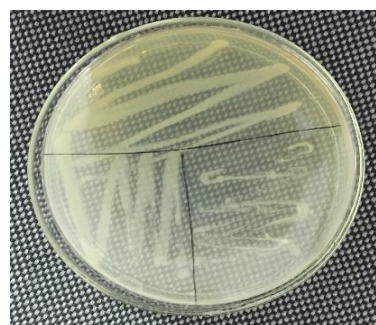
Hasil ekstrak murni 100% diencerkan dengan akuades untuk menghasilkan beberapa

variabel konsentrasi yaitu 5, 10, 15, 20, 25, dan 30 (%) yang terlihat dalam Gambar 2.



Gambar 2. Ekstrak etanol 70% daun biduri (*Calotropis gigantea*) yang telah diencerkan

Aggregatibacter actinomycetemcomitans ATCC 29523 yang telah di kultur dalam media *Mueller Hinton Agar* (MHA) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 hari menunjukkan adanya koloni *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ATCC 29523 berwarna putih kekuningan dan memiliki permukaan yang cembung. Morfologi koloni *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ATCC 29523 pada media MHA terlihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Hasil kultur *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ATCC 29523 pada media MHA.

Uji antibakteri yang diperoleh dari ekstrak etanol 70% daun biduri (*Calotropis gigantea*) terhadap *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ATCC 29523 dilakukan dengan tiga kali pengulangan (triplo). Hasil yang didapat menunjukkan adanya daya hambat yang dinyatakan dengan adanya zona bening (*clear zone*) di sekitar lubang/sumuran yang telah berisi ekstrak daun biduri (*Calotropis gigantea*).

Rata-rata zona hambat yang didapat dikelompokkan mengikuti klasifikasi kemampuan daya hambat menurut Davis dan Stout seperti yang terlihat dalam Tabel 3.

Tabel 3. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% daun *Calotropis gigantea* terhadap *Aggregatibacter actinomycetem comitans*

Konsetrasi bahan uji	Rata-rata zona hambat (mm)	Kemampuan daya hambat
5%	3,3	Lemah
10%	9,6	Sedang
15%	11,0	Kuat
20%	12,7	Kuat
25%	14,4	Kuat
30%	16,6	Kuat
Kontrol negatif (akuades)	0	Tidak Ada
Kontrol positif (metronidazole)	30,5	Sangat Kuat

Berdasarkan klasifikasi kemampuan daya hambat David dan Stout, didapatkan hasil zona hambat yang bervariasi pada setiap konsentrasi ekstrak. Pada tabel di atas dapat disimpulkan konsentrasi yang semakin tinggi menghasilkan zona hambat yang semakin besar. Pada kontrol negatif menggunakan akuades tidak didapatkan zona hambat, sedangkan hasil pengamatan pada kontrol positif menggunakan metronidazol menunjukkan zona hambat paling besar di antara setiap konsentrasi yang di uji.

Uji *One way Anova* digunakan sebagai uji statistik pada penelitian ini, dengan syarat kelompoknya lebih dari dua dan data harus terdistribusi normal serta homogen. Terdapat 8 kelompok perlakuan pada penelitian ini. Didapatkan hasil yang normal pada uji normalitas dan homogenitas terhadap varian data dengan nilai $p > 0,05$. Tabel 4

Tabel 4. Hasil *Least Significant Difference* (LSD)

	K 5%	K 10%	K 15%	K 20%	K 25%	K 30%
K 5%	-	.014*	.004*	.001*	.000*	.000*
K 10%	.014	-	.545	.187	.049	.008*
K 15%	.004*	.545	-	.453	.143	.024*
K 20%	.001*	.187	.453	-	.445	.096
K 25%	.000*	.049*	.143	.445	-	.329
K 30%	.000*	.008*	.024*	.096	.329	-

*= $p < 0,05$: memiliki perbedaan yang bermakna

Uji *one way Anova* juga menunjukkan bahwa kelompok uji berpengaruh terhadap pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetem comitans* ATCC 29523 dengan nilai $p < 0,05$. Kemudian hasil uji statistik pada penelitian ini dianalisis menggunakan *Least Significant*

Difference (LSD). Hasil LSD menunjukkan adanya perbedaan bermakna pada beberapa konsentrasi yang diuji dengan menghasilkan nilai $p < 0,05$ yang tertera dalam Tabel 4.

PEMBAHASAN

Penelitian dilakukan terhadap bakteri yang dinyatakan sebagai patogen utama pada periodontitis agresif lokal. Salah satu penyakit yang mengenai jaringan periodontal gigi adalah periodontitis agresif, ditandai oleh terjadinya kerusakan dengan sangat cepat pada tulang alveolar dan ligamentum periodontal.² Bakteri yang berperan penting dalam periodontitis agresif lokal adalah *Aggregatibacter actinomycetem comitans* yang merupakan bakteri fakultatif anaerob Gram-negatif yang berbentuk *coccobacillus*.¹ Hasil kultur *Aggregatibacter actinomycetem comitans* ATCC 29523 pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA) menunjukkan pertumbuhan bakteri berbentuk bulat dan cembung berwarna putih kekuningan. Uji konfirmasi bakteri *Aggregatibacter actinomycetem comitans* ATCC 29523 dengan pewarnaan Gram yang diamati dengan mikroskop cahaya pada pembesaran 100 kali memperlihatkan koloni berbentuk *coccobacillus* dan berwarna merah muda. Koloni yang tampak berwarna merah muda membuktikan bahwa *Aggregatibacter actinomycetem comitans* ATCC 29523 adalah bakteri yang memiliki senyawa lipid tinggi pada dinding sel dengan susunan yang tipis sehingga berpengaruh pada saat proses pewarnaan Gram, bakteri ini tidak dapat berupaya mempertahankan zat warna *crystal violet*.¹³

Penelitian ini dilakukan dengan menguji efek antibakteri yang diperoleh dari ekstrak etanol 70% daun biduri (*Calotropis gigantea*) terhadap bakteri *A. actinomycetem comitans* ATCC 29523. Daun biduri (*Calotropis gigantea*) adalah tumbuhan yang biasa digunakan sebagai bahan dasar untuk pengobatan tradisional. Daun biduri (*Calotropis gigantea*) mengandung senyawa metabolit sekunder yang memiliki kegunaan sebagai antibakteri seperti senyawa flavonoid, fenol, tanin, saponin, terpenoid, dan senyawa alkaloid. Kandungan antibakteri pada ekstrak daun biduri (*Calotropis gigantea*) sangat mudah didapat dengan menggunakan pelarut etanol. Penggunaan pelarut etanol dapat bereaksi dengan baik karena pelarut etanol

memiliki toksisitas rendah, titik didih rendah, dan tidak berbahaya, serta memiliki sifat non polar yang mampu melarutkan lebih banyak senyawa antibakteri pada daun biduri (*Calotropis gigantea*) yang bersifat sitotoksik. Berdasarkan pengujian fitokimiawi yang dilakukan, didapatkan hasil bahwa ekstrak etanol 70% daun biduri (*Calotropis gigantea*) positif mengandung senyawa-senyawa antibakteri yaitu flavonoid, fenol, tanin, saponin, terpenoid, serta senyawa alkaloid yang merupakan kandungan metabolit sekunder. Uji fitokimiawi pada penelitian ini memiliki hasil yang sama dengan penelitian Dutta *et al.* (2014)⁸ terhadap kandungan ekstrak etanol daun biduri (*Calotropis gigantea*). Dinyatakan bahwa ekstrak tersebut juga memiliki senyawa flavonoid, saponin, tanin, alkaloid, dan terpenoid.

Kandungan metabolit sekunder ekstrak etanol 70% daun biduri (*Calotropis gigantea*) pada penelitian ini berhasil menghambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ATCC 29523. Kemampuan ekstrak daun biduri (*Calotropis gigantea*) untuk menghambat pertumbuhan bakteri *A. actinomycetemcomitans* ATCC 29523 terlihat mulai dari konsentrasi rendah (5%) hingga konsentrasi tinggi (30%), kemampuan ini disebabkan karena setiap konsentrasi yang digunakan mengandung senyawa antibakteri dan memiliki aktivitas bakteristatik yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Senyawa flavonoid dapat menonaktifkan adhesin mikroba, enzim, dan protein pembawa sel untuk menghambat pertumbuhan bakteri.¹⁴ Senyawa flavonoid juga dapat menghambat replikasi DNA.¹¹ Senyawa saponin bekerja dengan menghancurkan sifat permeabilitas bakteri sehingga menyebabkan kematian sel bakteri. Saponin juga dapat menyebar dari membran luar dan mengakibatkan terganggu serta berkurangnya kestabilan dari membran sel.¹⁵ Senyawa tanin dapat membentuk ikatan kompleks dengan protein polipeptida dalam menghambat pertumbuhan bakteri, sehingga terganggunya proses sintesis protein dan akibatnya terjadi kerusakan pada sel bakteri.¹¹ Senyawa alkaloid memiliki kemampuan mensintesis dinding dari sel bakteri dan juga dapat menghancurkan DNA.¹⁶

Besar kemampuan antibakteri yang diperoleh dari ekstrak etanol 70% daun biduri

(*Calotropis gigantea*) berupa dapat menghambat pertumbuhan bakteri, berbeda-beda tergantung pada penggunaan konsentrasinya. Penelitian ini menunjukkan daya hambat paling besar terdapat pada konsentrasi tertinggi yaitu 30%. Konsentrasi yang semakin tinggi dari ekstrak etanol 70% daun biduri (*Calotropis gigantea*) yang digunakan, menghasilkan kemampuan hambat yang lebih besar terhadap bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ATCC 29523 (Tabel 5.1). Semakin banyak kandungan metabolit sekunder maka semakin tinggi kemampuan antibakteri dari ekstrak etanol 70% daun biduri (*Calotropis gigantea*). Semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol 70% daun biduri (*Calotropis gigantea*) akan semakin baik digunakan sebagai antibakteri, hal ini disebabkan karena akan semakin banyak jumlah kandungan metabolit sekunder pada konsentrasi yang semakin tinggi. Hasil dalam penelitian ini sejalan dengan penelitian Majumdar (2014)¹⁷ yang juga menggunakan ekstrak tumbuhan biduri (*Calotropis gigantea*) sebagai antibakteri. Hasil penelitian Alluri dan Majumdar menunjukkan ekstrak tumbuhan biduri (*Calotropis gigantea*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 0.125 mg/ml, 0.25 mg/ml, 0.5 mg/ml, 1.0 mg/ml, dan 2.0 mg/ml yang digunakan, berdasarkan hasil diperoleh bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak tumbuhan biduri (*Calotropis gigantea*) maka efek antibakteri yang didapatkan akan semakin besar pula.¹⁷ Konsentrasi hambat minimal yang diperoleh dari ekstrak etanol 70% daun biduri (*Calotropis gigantea*) terhadap *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ATCC 29523 juga dipengaruhi oleh banyak atau sedikitnya tingkat pengenceran ekstrak yang dilakukan. Semakin sedikit akuades yang digunakan untuk pengenceran maka akan semakin banyak kandungan metabolit sekunder yang didapat, sebaliknya jika semakin banyak akuades yang digunakan untuk pengenceran maka akan semakin sedikit kandungan metabolit sekundernya. Banyak atau sedikitnya kandungan metabolit sekunder pada ekstrak daun biduri (*Calotropis gigantea*) yang dihasilkan oleh tingkat pengenceran ekstrak daun biduri (*Calotropis gigantea*) sesuai dengan penelitian Dewi (2018)¹¹ yang menyatakan bahwa perbedaan ekstrak daun biduri (*Calotropis gigantea*) dalam

menghambat pertumbuhan bakteri pada setiap konsentrasi disebabkan oleh pengenceran yang dilakukan. Semakin rendah pengenceran maka semakin banyak dan semakin besar kemampuan senyawa antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri.¹¹

Analisis data terhadap diameter zona hambat bakteri *A. actinomycetemcomitans* ATCC 29523 menggunakan *one-way* Anova menghasilkan nilai $p < 0.05$ (Lampiran 8). Nilai $p < 0.05$ berarti memiliki kesimpulan perbedaan bermakna dari daya hambat bakteri pada berbagai kelompok konsentrasi ekstrak daun biduri (*Calotropis gigantea*). Berbagai konsentrasi ekstrak etanol 70% daun biduri (*Calotropis gigantea*) yang digunakan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ATCC 29523, namun daya hambat bakteri yang dihasilkan berbeda. Perbedaan besarnya daya hambat bakteri yang dihasilkan oleh berbagai konsentrasi pada ekstrak etanol 70% daun biduri (*Calotropis gigantea*) ini terjadi karena perbedaan jumlah kandungan metabolit sekunder sebagai antibakteri pada masing-masing konsentrasi. Konsentrasi yang paling tinggi menghasilkan daya hambat bakteri yang lebih besar terhadap *A. actinomycetemcomitans* ATCC 29523 karena memiliki lebih banyak komponen senyawa antibakteri.

Hasil uji lanjut *Least Significant Difference* (LSD) terhadap diameter zona hambat bakteri *A. actinomycetemcomitans* ATCC 29523 berdasarkan Tabel 5.2 memiliki kesimpulan perbedaan bermakna dengan nilai $p < 0.05$ yang diperoleh dari setiap konsentrasi, kontrol negatif (*aquades*), dan kontrol positif (*metronidazole*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Perbedaan bermakna nilai signifikansi pada diameter zona hambat bakteri *A. actinomycetemcomitans* ATCC 29523 disebabkan oleh pengaruh dari berbagai konsentrasi ekstrak etanol 70% daun biduri (*Calotropis gigantea*) serta kontrol positif (*metronidazol*) dan kontrol negatif (*akuades*). Aktivitas antibakteri pada masing-masing konsentrasi ekstrak etanol 70% daun biduri (*Calotropis gigantea*) memberikan efek yang berbeda. Perbedaan zona hambat bakteri pada tiap kelompok perlakuan dapat disebabkan oleh setiap peningkatan konsentrasi yang berpengaruh terhadap peningkatan efektifitas antibakteri yang terkandung dalam daun biduri (*Calotropis gigantea*), sehingga setiap

konsentrasi akan menghasilkan perbedaan pada zona hambatnya.¹⁸ *Metronidazol* sebagai kontrol positif dalam penelitian ini dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ATCC 29523 sangat lebih baik dari pada berbagai konsentrasi ekstrak etanol 70% daun biduri (*Calotropis gigantea*). Kontrol positif menghasilkan zona hambat bakteri yang lebih besar dibandingkan dengan berbagai konsentrasi ekstrak etanol 70% daun biduri (*Calotropis gigantea*) yang digunakan. Keadaan ini terjadi karena kontrol positif (*metronidazol*) termasuk dalam obat golongan antibiotika yang memiliki spektrum luas serta juga efektif melawan bakteri anaerob Gram negatif, salah satunya adalah bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Selain itu antibiotik *metronidazol* juga memiliki kandungan bahan aktif yang bersifat murni. *Metronidazol* dapat merusak DNA, mengakibatkan terhambatnya sintesis asam nukleat sehingga dapat mengganggu pertumbuhan bakteri. Konsentrasi ekstrak etanol 70% daun biduri (*Calotropis gigantea*) yang tinggi akan lebih banyak mengandung senyawa antibakteri dan semakin efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Berbeda dengan *metronidazol* sebagai kontrol positif, hasil dari *akuades* sebagai kontrol negatif tidak memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ATCC 29523. Hal ini terbukti dengan tidak terdapatnya zona hambat bakteri di sekitar *akuades*. Tidak adanya zona hambat bakteri yang dapat diamati karena *akuades* sebagai kontrol negatif tidak memiliki sifat antibakteri, hanya bekerja secara *short acting* dan tidak persistens, sehingga tidak efektif menjadi salah satu bahan penghambat dalam pertumbuhan bakteri.

Berdasarkan uraian di atas dapat disimpulkan bahwa ekstrak yang diperoleh dari etanol 70% daun biduri (*Calotropis gigantea*) dapat menghambat pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ATCC 29523 dengan kemampuan hambat yang berbeda-beda pada setiap konsentrasi.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol 70% daun biduri (*Calotropis gigantea*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *A. actinomycetemcomitans* ATCC 29523.

Berdasarkan klasifikasi kemampuan daya hambat David dan Stout, ekstrak *Calotropis gigantea* pada konsentrasi 5% dapat menghambat pertumbuhan *A. actinomycetemcomitans* ATCC 29523 dengan kemampuan daya hambat lemah yaitu 3,3mm, konsentrasi 10% memiliki kemampuan daya hambat sedang yaitu 9,6mm, sedangkan konsentrasi 15%, 20%, 25%, dan 30% memiliki kemampuan daya hambat dengan kategori kuat yaitu masing-masing 12,7mm, 14,4mm, dan 16,6mm.

DAFTAR PUSTAKA

- Zhou X, Lie Y. Atlas of Oral Microbiology From Healthy Microflora to Disease. London, UK: Academic press; 2015.p.67-93
- Sriraman P, Mohanraj R, Neelakantan P. Research Journal of Pharmaceutical , Biological and Chemical Sciences *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* In Periodontal Disease. Res J Pharm Biol Chem Sci. 2014;5(2):406–19.
- Nofak KF, Nofak JM. Aggressive Periodontitis. Carranza's Clinical Periodontology. 11th ed. Elsevier Saunders; 2012. P.169-173
- Gunardi I, Wimardhani YS. Oral probiotik: Pendekatan baru terapi halitosis. Indones J Dent. 2009;16(1):64–71.
- Kumar PS, E S, Kalavanthy S. Review on A Potential Herb *Calotropis gigantea* (L.) R. Br Sch Acad J Pharm 2013;2(2):135–43.
- Ishnava KB, Chauhan JB, Garg AA, Thakkar AM. Antibacterial and phytochemical studies on *Calotropis gigantea* (L.) R. Br. latex against selected cariogenic bacteria. Saudi J Biol Sci 2012;19(1):87–91.
- Radhakrishnan K, Thangamani P, Balakrishnan V. Antibacterial and phytochemical analysis of stem and root extracts of *Calotropis gigantea* against selected pathogens. Malaya J Biosci 2014;1(1):49–55.
- Dutta M, Rej S, Jamal S, Das S, Chatterjee S. Study of phytochemical constituents and antibacterial activity of *Calotropis gigantea*. Int Sci J 2014;1(4):15–28.
- Singh M, Javed K. Comparative study of chemical composition of *Calotropis Gigantea* flower, leaf and fruit essential oil. Eur Chem Bull 2015;4(10–12):477–80.
- Kumar G, Karthik L, Venkata K, Rao B. Antibacterial activity of aqueous extract of *Calotropis gigantea* leaves - an *in vitro* study. Int J of Pharm Sci 2010;4(2):141–4.
- Dewi DGDP, Mastra N, Jirna IN. Perbedaan Zona Hambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Pada Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Biduri Secara *In Vitro*. meditory. 2018;6(5):39–45.
- Davis W, Stout T. Disc Plate Methode of Microbiological Antibiotic Assay. J Microbiol. 1997;22(4)(4):666–70.
- Karachewski NO, Busch EL, Wells CL. Comparison of PRAS II, RapID ANA, and API 20A systems for identification of anaerobic bacteria. J Clin Microbiol 1985;21(1):122–6.
- Kumar S, Pandey AK. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. Sci World J 2013; ID:162730
- Ernawati, Sari K. Kandungan Senyawa Kimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Alpukat (*Persea americana P.Mill*) Terhadap Bakteri *Vibrio alginolyticus*. J Kaji Vet 2015;3(2):203–11.
- Ningsih DR, Zufahair, Kartika D. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak Sebagai Antibakteri. Molekul, UJS 2016;12(2):114–24.
- Alluri N, Majumdar M. Phytochemical analysis and *in vitro* antimicrobial activity of *calotropis gigantea* , *inermis* and *trigonella foecum-lawsonia graecum*. Int J of Pharm and Pharm Sci 2014;6(4):10–3.
- Nuria MC, Arvin F, Sumantri. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas L*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. J Ilmu-Ilmu Pertan 2009;5(2):26–37.