

Uji efektivitas antibakteri daun Biduri (*Calotropis gigantea*) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*: studi eksperimental laboratoris

Alaya Dwi Salvahira Widodo¹ 

Sari Setyaningsih² 

Pudji Astuti² 

Zahara Meilawaty² 

Agustin Wulan Suci

Dharmayanti^{2*} 

¹Program Studi Kedokteran Gigi
Universitas Jember, Indonesia
²Departemen Biomedik Fakultas
Kedokteran Gigi Universitas
Jember, Indonesia

*Korespondensi

Email | agustinwulan.fko@unej.ac.id

Submisi | 1 Agustus 2024

Revisi | 2 Desember 2024

Penerimaan | 17 Desember 2024

Publikasi Online | 31 Desember 2024

DOI: [10.24198/jka.v36i3.57014](https://doi.org/10.24198/jka.v36i3.57014)

p-ISSN [0854-6002](https://doi.org/10.24198/jka.v36i3.57014)

e-ISSN [2549-6514](https://doi.org/10.24198/jka.v36i3.57014)

Sitasi | Widodo ADS, Setyaningsih S, Astuti P, Meilawaty Z, Dharmayanti AWS. Uji efektivitas antibakteri daun Biduri (*Calotropis gigantea*) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*. J Ked Gi Univ Padj. 2024;36(3):312-320. DOI: [10.24198/jka.v36i3.57014](https://doi.org/10.24198/jka.v36i3.57014)



Copyright: © 2024 oleh penulis. diserahkan ke Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran untuk open akses publikasi di bawah syarat dan ketentuan dari Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

ABSTRAK

Pendahuluan: Karies merupakan penyakit jaringan keras pada gigi yang disebabkan oleh asam hasil bakteri plak yang menumpuk pada permukaan gigi. Salah satu bakteri plak adalah *Streptococcus mutans*. Penggunaan obat kumur *Chlorhexidine gluconate* 0,2% terbukti mampu menghambat *S.mutans*. Namun penggunaan *Chlorhexidine gluconate* 0,2% dalam jangka panjang dapat menimbulkan efek samping. Oleh karena itu, diperlukan bahan alami seperti tanaman biduri yang memiliki efek antibakteri untuk menghindari efek samping tersebut. Penelitian ini bertujuan menganalisis ekstrak daun biduri (*Calotropis gigantea*) dapat menghambat pertumbuhan *S.mutans*. **Metode:** Jenis penelitian eksperimental laboratorium. Penelitian ini menggunakan 6 kelompok perlakuan yaitu kelompok perlakuan ekstrak daun biduri dengan konsentrasi 15%, 20%, 25%, 30%, K(-) akuades, dan K(+)*Chlorhexidine gluconate* 0,2%. Kelompok perlakuan dan kelompok kontrol dipaparkan *S.mutans* untuk melihat efek antibakterinya dan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis dan hitung koloni bakteri (*total plate count*). **Hasil:** Hasil penelitian menunjukkan, masing-masing konsentrasi menunjukkan hasil laju penghambatan sebesar 0 pada kelompok K(-), 45,78% pada kelompok 15%, 34,93% pada kelompok 20%, 76,5% pada kelompok 25%, 64,45% pada kelompok 30%, dan 89,45% pada kelompok K(+). Hasil hitung koloni bakteri penghambatan bakteri terbesar yaitu pada konsentrasi 25%. Hasil yang diperoleh dilakukan analisis data. Data sebelum dan sesudah inkubasi dilakukan uji *Paired T Test* dan menunjukkan perbedaan yang signifikan. Analisis data laju penghambatan dilakukan dengan uji *Kruskal Wallis* dilanjutkan uji *Mann Whitney* Ekstrak daun biduri konsentrasi 15% dibandingkan dengan konsentrasi 20% dan 30% dibandingkan dengan 25% memiliki nilai $p>0,05$ sehingga tidak memiliki perbedaan yang bermakna. **Simpulan:** Daun biduri efektif menghambat pertumbuhan *S.mutans*.

Kata kunci

calotropis gigantea, antibakteri, *Streptococcus mutans*, spektrofotometri UV-Vis, nilai penghambatan

Antibacterial effectiveness test of biduri leaf (*Calotropis gigantea*) against *Streptococcus mutans*: experimental laboratory study

ABSTRACT

Introduction: Caries is a disease that affects the hard tissue of the teeth, caused by acid deposits produced by plaque bacteria that accumulate on the tooth surface. One of the plaque bacteria is *Streptococcus mutans*. *Chlorhexidine gluconate* 0.2% mouthwash has been shown to inhibit *S. mutans*. However, prolonged use of *Chlorhexidine gluconate* 0.2% mouthwash can cause side effects. To avoid these side effects, natural ingredients like biduri plant that have antibacterial effects are needed. This research aims to analyze the inhibitory effects of biduri (*Calotropis gigantea*) leaf extract on the growth of *S. mutans*. **Methods:** This research is experimental laboratory study. Six treatment groups were used, four groups treated with biduri leaf extract at concentrations of 15%, 20%, 25%, 30%; the K(-) using distilled water; and K(+) using *Chlorhexidine gluconate* 0.2%. The treatment and control group were exposed to *S. mutans* to evaluate its antibacterial effect and assessed using the UV-Vis spectrophotometric and total plate count method. **Results:** In the research conducted, each concentration showed varying inhibition rates. The inhibition rates observed were as follows: 0% for the K(-), 45,78% for the 15% group, 34,93% for the 20% group, 76,5% for the 25% group, 64,45% for the 30% group, and 89,45% for the K(+). In bacterial colony count, the greatest bacterial inhibition was observed at concentration of 25%. Statistical analysis was performed on the obtained data. A *Paired T-Test* demonstrated a significant difference between the data before and after incubation. Further analysis using the *Kruskal Wallis* and *Mann Whitney* tests revealed no significant difference in inhibition rates between 15% and 25% concentrations, or between 25% and 30%. **Conclusion:** Biduri leaf extract effectively inhibits the growth of *S. mutans*.

Keywords

calotropis gigantea, antibacterial, *Streptococcus mutans*, UV-Vis Spectrophotometry, inhibition rate

PENDAHULUAN

Karies gigi merupakan suatu penyakit jaringan keras gigi berupa demineralisasi yang ditandai dengan terbentuknya kavitas pada permukaan email mahkota gigi.¹ Secara global, diperkirakan 2 miliar orang dewasa dan 514 juta anak menderita karies gigi.² Di Indonesia, menurut Survei Kesehatan Indonesia (SKI) tahun 2023 Indeks DMF-T rendah (1,3) terjadi pada kelompok umur 12 tahun, namun seiring dengan bertambahnya umur indeks DMF-T juga semakin tinggi dan tertinggi pada kelompok umur 65+ tahun dengan kategori sangat tinggi ($\geq 6,6$). Untuk indeks dmf-t gigi sulung kelompok umur 3-4 tahun dan 5 tahun juga mengalami peningkatan masuk dalam kategori sangat tinggi.³

Bakteri *Streptococcus mutans* telah diakui sebagai bakteri utama penyebab karies gigi.⁴ *S. mutans* merupakan bakteri yang dominan ditemukan pada karies gigi dengan persentase 37,4%.⁵ *S. Mutans*, juga ditemukan dalam jumlah yang signifikan pada plak gigi (56,8%) dan saliva (79,9%).⁶ Semakin banyak jumlah koloni *S. mutans* pada saliva semakin tinggi nilai indeks DMF-T.⁷

Klorida (Cl) dan fluor (F) merupakan senyawa yang digunakan sebagai bahan antibakteri pencegah karies golongan halogen. Golongan ini memiliki sifat antibakteri dengan melakukan denaturasi enzim yang bersifat permanen dan dapat menghentikan semua aktivitas metabolisme mikroba.⁸ Penggunaan *Chlorhexidine* pada obat kumur telah diteliti sangat berpotensi menghambat *S. mutans* dan karies gigi. Namun, penggunaan obat kumur *Chlorhexidine* dalam jangka waktu panjang dapat menyebabkan efek samping. Oleh karena itu, dibutuhkan terapi alternatif lain dari bahan alam untuk mengurangi penggunaan bahan kimia.⁹

Salah satu bahan alam yang dapat digunakan sebagai terapi pencegahan antibakteri adalah tanaman biduri. Daun biduri memiliki kandungan fitokimia daun biduri sebagai antibakteri berupa flavonoid, fenol, tanin, saponin, terpenoid, dan alkaloid.¹⁰ Komponen bioaktif ini memiliki mekanisme antibakteri yang mirip dengan ikatan senyawa halogen sebagai antibakteri yaitu mendenaturasi ikatan protein atau enzim pada membran sel bakteri.^{11,12}

Penelitian Dewi, *et al.*,¹³ mengenai ekstrak etanol daun biduri terhadap *Staphylococcus aureus* menunjukkan konsentrasi 20% merupakan konsentrasi efektif dikarenakan dapat menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi terendah. Hasil penelitian Dewi, *et al.*,¹³ menunjukkan potensi ekstrak etanol daun biduri dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, penelitian mengenai efektivitas ekstrak daun biduri terhadap *Streptococcus mutans* pada rentang konsentrasi 15% hingga 30% masih menjadi hal yang perlu diketahui lebih lanjut lagi.

Penggunaan metode spektrofotometri UV-Vis yang telah dinilai akurat dan efisien dapat diaplikasikan untuk mengukur pertumbuhan *S. mutans* secara kuantitatif.^{14,15} Dengan demikian, penelitian ini diharapkan dapat mengisi kekosongan pengetahuan dan memberikan data empiris mengenai potensi daun biduri dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*. Penelitian ini bertujuan menganalisis ekstrak daun biduri (*Calotropis gigantea*) dapat menghambat pertumbuhan *S. mutans*.

METODE

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan *pre-post test control group design* menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis dan hitung koloni bakteri (*total plate count*). Metode spektrofotometri UV-Vis adalah mengukur selisih nilai absorbansi (OD) sebelum dan sesudah inkubasi (ΔOD) selama 24 jam, dilanjutkan perhitungan daya penghambatan (*inhibition rate*), dan menghitung koloni bakteri menggunakan *colony counter* untuk melihat ada atau tidaknya penghambatan bakteri. Penelitian ini dilakukan di laboratorium mikrobiologi Fakultas MIPA Universitas Jember. Penelitian ini menggunakan enam kelompok perlakuan yaitu kelompok ekstrak daun biduri konsentrasi 15, 20, 25, dan 30%, kelompok kontrol negatif dengan akuades dan

positif dengan *Chlorhexidine gluconate* 0,2%. Masing-masing kelompok dilakukan empat kali pengulangan yang dihitung menggunakan rumus Daniel.

Alat yang digunakan pada penelitian adalah blender, ayakan nomor 30 *mesh*, kertas saring whatman no. 1, toples kaca, *rotary evaporator*, *syringe* 10 ml, Spektrofotometer UV-Vis, vortex, *laminar air flow*, kaca arloji, tube, inkubator, tabung reaksi, tabung erlenmeyer, mikropipet, neraca analitik, oven, autoklaf, jarum ose, *hot plate magnetic stirrer*, bunsen, dan millipore 0,2 μ m. Bahan yang digunakan adalah daun biduri, bakteri *S. mutans*, etanol 70%, *Chlorhexidine gluconate* 0,2% (minosep), akuades steril, alkohol 70%, NaCl 9%, media Mueller Hinton Agar (MHA) dan Mueller Hinton Broth (MHB).

Pembuatan Ekstrak dilakukan menggunakan metode maserasi. Daun biduri dikumpulkan kemudian dilakukan pengeringan dengan suhu kamar selama 3 hari dan dilanjutkan pengeringan menggunakan oven dengan suhu 40°C selama kurang lebih 24 jam. Kemudian dihaluskan menggunakan blender dan diayak menggunakan ayakan nomor 30 *mesh*.¹⁶ Serbuk simplisia dimasukkan ke dalam bejana maserasi dan 70% etanol dengan perbandingan 1:5 dan dimaserasi selama 1 hari menggunakan *shaker*. Hasil maserasi disaring dengan corong buchner dan kertas Whatman no.1 untuk memisahkan filtrat dan residu. Kemudian dilakukan pemekatan filtrat dengan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C dan putaran 90 rpm untuk mendapatkan ekstrak yang kental.^{10,17} Kemudian dilakukan pengenceran ekstrak sesuai konsentrasi 15, 20, 25, dan 30% menggunakan akuades steril dan dilanjutkan sterilisasi ekstrak menggunakan millipore ukuran 0,2 μ m.¹⁸

Bakteri uji yaitu isolat murni bakteri *Streptococcus mutans* didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Isolat murni tersebut ditanam pada media Mueller Hinton Agar (MHA) kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Stok kultur bakteri *S. mutans* yang telah tumbuh diambil dengan jarum ose steril lalu disuspensikan dalam tabung reaksi yang berisi 1 ml Mueller Hinton Broth (MHB) dan diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C. Selanjutnya, tambahkan aquades steril dan dihomogenkan sampai didapat kekeruhan suspensi bakteri sama dengan kekeruhan larutan standard McFarland 0,5.¹⁹ Kemudian, dilakukan pengenceran bertingkat sampai pengenceran 10⁻⁴.²⁰

Suspensi bakteri yang sudah dilakukan pengenceran bertingkat dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi sebanyak 1,5ml. Masing-masing tabung kemudian diisi dengan ekstrak daun biduri dalam berbagai konsentrasi (15, 20, 25, dan 30%), *Chlorhexidine gluconate* 0,2%, dan aquades steril. Semua tabung berisi volume total 3 mL. Selanjutnya, nilai optical density (OD) dari setiap tabung diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis (AMV23PC) pada panjang gelombang 600nm. Tabung-tabung reaksi tersebut diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah inkubasi, nilai OD diukur kembali untuk mengetahui perubahan nilai optical density (Δ OD).

Persentase penghambatan pertumbuhan bakteri oleh masing-masing perlakuan dihitung menggunakan rumus *inhibition rate*, yaitu membandingkan perubahan absorbansi pada sampel yang mengandung antibakteri dengan perubahan absorbansi pada kontrol negatif. Selisih antara nilai absorbansi sampel sesudah inkubasi (antibakteri+bakteri) dan nilai absorbansi sampel sebelum inkubasi (antibakteri+bakteri) menunjukkan perubahan absorbansi pada sampel dengan antibakteri, sementara selisih antara nilai absorbansi kontrol (-) sesudah inkubasi (akuades+bakteri) dan nilai absorbansi kontrol (-) sebelum inkubasi (akuades+bakteri) menunjukkan perubahan absorbansi pada kontrol negatif. Hasilnya kemudian dikalikan 100 untuk mendapatkan persentase penghambatan pertumbuhan bakteri.^{19,21} Sampel perlakuan dalam tabung reaksi yang tersisa kemudian dilakukan uji antibakteri menggunakan metode hitung koloni bakteri (*total plate count*) dengan cara menambahkan 0,1 ml sampel ke cawan petri yang berisi media MHA dan dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.¹⁷

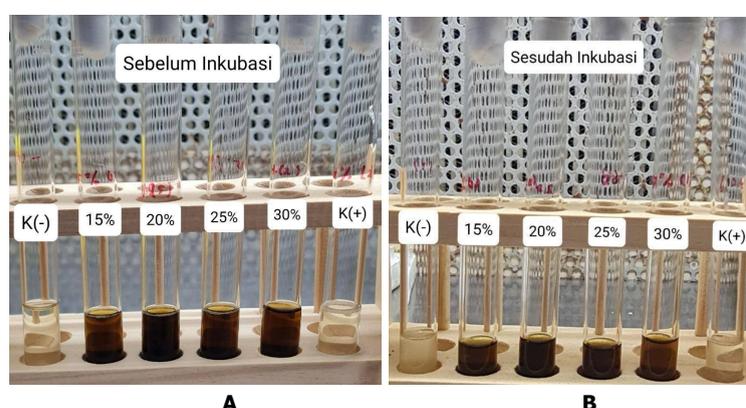
Data hasil penelitian kemudian diuji normalitasnya menggunakan uji Shapiro Wilk dan uji homogenitas data menggunakan uji Levene Test. Data kelompok perlakuan sebelum inkubasi didapatkan hasil normal dan homogen, dilanjutkan uji parametrik One Way Anova. Data kelompok perlakuan sesudah inkubasi didapatkan hasil normal

dan tidak homogen, dilanjutkan analisis data dengan uji non parametrik Kruskal Wallis. Kemudian, dilakukan uji Paired T Test kelompok perlakuan sebelum dan sesudah inkubasi. Data kelompok nilai inhibisi didapatkan hasil normal dan tidak homogen, maka dilanjutkan menggunakan uji Kruskal Wallis, dan dilanjutkan dengan uji Mann Whitney.

HASIL

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis dan hitung koloni bakteri (*total plate count*). Metode spektrofotometri UV-Vis mengukur selisih nilai absorbansi (OD) sebelum dan sesudah inkubasi (ΔOD) selama 24 jam dan dilakukan perhitungan daya penghambatan (*Inhibition rate*) dan koloni bakteri dihitung menggunakan *colony counter* untuk melihat ada atau tidaknya penghambatan bakteri. Hasil pengamatan dari tiap perlakuan dapat dilihat pada gambar 1 dan tabel 1.

Hasil pengamatan dari perlakuan ekstrak daun biduri konsentrasi 15%, 20%, 25%, 30%, kelompok kontrol negatif dengan akuades dan positif dengan *Chlorhexidine gluconate* 0,2% dapat dilihat pada gambar 1 dan tabel 1.



Gambar 1. Larutan uji ekstrak daun biduri (*Calotropis gigantea*) terhadap pertumbuhan *S.mutans* A. sebelum dan B. Sesudah inkubasi.

Tabel 1. Hasil uji ekstrak daun biduri (*Calotropis gigantea*) terhadap pertumbuhan *S.mutans*

Perlakuan	n	Sebelum Inkubasi	Sesudah Inkubasi	ΔOD	<i>Inhibition rate</i> (%)	Hitung Koloni
Akuades	4	0,117 \pm 0,095	0,444 \pm 0,007	0,332 \pm 0,011	0	TBUD
EDB 15%	4	0,860 \pm 0,023	1,041 \pm 0,028	0,180 \pm 0,020	45,78	31 \pm 23,763
EDB 20%	4	1,305 \pm 0,033	1,522 \pm 0,021	0,216 \pm 0,052	34,93	27 \pm 20,255
EDB 25%	4	1,425 \pm 0,020	1,503 \pm 0,025	0,078 \pm 0,018	76,5	3 \pm 1,414
EDB 30%	4	1,227 \pm 0,035	1,346 \pm 0,080	0,121 \pm 0,064	64,45	84 \pm 6,397
CHX 0,2%	4	0,114 \pm 0,004	0,149 \pm 0,004	0,035 \pm 0,008	89,45	0

Keterangan : Data dalam bentuk \bar{x} (*mean*) \pm standar deviasi; TBUD: Terlalu banyak untuk dihitung
 EDB 15%: Ekstrak daun biduri konsentrasi 15%; EDB 20%: Ekstrak daun biduri konsentrasi 20%; EDB 25%: Ekstrak daun biduri konsentrasi 25%; EDB 30% : Ekstrak daun biduri konsentrasi 30%; CHX 0,2%: *Chlorhexidine gluconate* 0,2%

Tabel 1 menunjukkan bahwa pada 6 kelompok sampel mengalami kenaikan nilai absorbansi sesudah inkubasi selama 24 jam. Nilai penghambatan tertinggi ditunjukkan pada ekstrak daun biduri konsentrasi 25% setelah kontrol (+) *Chlorhexidine gluconate* 0,2%. Sedangkan pada kelompok kontrol negatif menunjukkan nilai penghambatan 0 yang berarti pada kelompok kontrol negatif tidak memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri.

Data hasil penelitian kemudian dilakukan analisis data. Analisis data yang dilakukan, yaitu analisis data dari masing-masing kelompok perlakuan sebelum dan sesudah inkubasi untuk mengetahui adanya pertumbuhan bakteri, serta analisis data nilai penghambatan untuk mengetahui perbedaan potensi antibakterinya.

Data hasil penelitian kemudian dilakukan analisis data. Analisis data yang dilakukan, yaitu analisis data dari masing-masing kelompok perlakuan sebelum dan sesudah inkubasi untuk mengetahui adanya pertumbuhan bakteri, serta analisis data nilai penghambatan untuk mengetahui perbedaan potensi antibakterinya. Hasil uji parametrik *One Way Anova* didapatkan hasil nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,005$) yang diartikan data memiliki perbedaan rata-rata yang bermakna dalam kelompok perlakuan (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil analisis data *One Way Anova* kelompok perlakuan sebelum inkubasi

	Sum of Squares	df	Mean Squares	F	P value
Between Groups	7,041	5	1,408	2239,580	0,000
Whitin Groups	0,011	18	0,001		
Total	7,052	23			

*Terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$)

Tabel 3. Hasil analisis data *Paired t test* ekstrak daun biduri (*Calotropis gigantea*) terhadap pertumbuhan *S.mutans* sebelum dan sesudah inkubasi

		<i>Paired Samples Test</i>							
		<i>Paired Differences</i>							
		Mean	SD	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of The Difference		t	df	p value (2-Tailed)
					Lower	Upper			
Pair 1	k(-) Sebelum inkubasi - k(-) Sesudah inkubasi	-0,327000	0,015055	0,007528	-0,350957	-0,303043	-43.439	3	0,000
Pair 2	k(+) Sebelum inkubasi - k(+) Sesudah inkubasi	-0,034500	0,008103	0,004052	-0,047394	-0,021606	-8.515	3	0,003
Pair 3	15% Sebelum inkubasi - 15% Sesudah inkubasi	-0,180500	0,020421	0,010210	-0,212994	-0,148006	-17.678	3	0,000
Pair 4	20% Sebelum inkubasi - 20% Sesudah inkubasi	-0,216000	0,052377	0,026188	-0,299343	-0,132657	-8.248	3	0,004
Pair 5	25% Sebelum inkubasi - 25% Sesudah inkubasi	-0,077500	0,018717	0,009359	-0,107283	-0,047717	-8.281	3	0,004
Pair 6	30% Sebelum inkubasi - 30% Sesudah inkubasi	-0,118000	0,058901	0,029451	-0,211725	-0,024275	-4.007	3	0,028

*Terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$)

Hasil uji non parametrik *Kruskal Wallis* dengan nilai signifikansi 0,001 ($p < 0,05$) berarti data memiliki perbedaan rata-rata yang bermakna dalam kelompok perlakuan. Hasil uji *Paired T Test* dan didapatkan nilai signifikansi $p < 0,05$, maka dapat disimpulkan bahwa semua kelompok perlakuan sebelum inkubasi dengan kelompok sesudah inkubasi memiliki perbedaan yang signifikan. Hasil uji *Paired T Test* dapat dilihat pada tabel 3.

Data yang telah didapatkan dari nilai penghambatan (*inhibition rate*) kemudian dilakukan uji normalitas *Shapiro Wilk* dan didapatkan nilai $p > 0,05$ berarti data berdistribusi normal. Kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas dengan uji *Levene*, didapatkan data dengan nilai $p < 0,05$ berarti data tidak homogen. Kemudian dilakukan uji *Kruskal Wallis* dan didapatkan nilai signifikansi 0,001 ($p < 0,05$), yang diartikan bahwa data memiliki perbedaan rata-rata yang bermakna dalam kelompok perlakuan. Dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* dan didapatkan nilai data signifikan dan tidak signifikan. Ekstrak daun biduri konsentrasi 15% dibandingkan dengan konsentrasi 20% dan ekstrak daun biduri konsentrasi 25% dibandingkan dengan konsentrasi 30% memiliki nilai $p > 0,05$ sehingga tidak memiliki perbedaan yang bermakna.

Data hasil hitung koloni bakteri dilakukan uji normalitas *Shapiro Wilk* didapatkan nilai $p > 0,05$ berarti data berdistribusi normal. Kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas dengan uji *Levene*, didapatkan data dengan nilai $p < 0,05$ berarti data tidak homogen. Kemudian dilakukan uji non parametrik *Kruskal Wallis* dan didapatkan nilai signifikansi $p = 0,001$ ($p < 0,05$), yang diartikan bahwa data memiliki perbedaan rata-rata yang bermakna dalam kelompok perlakuan. Dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* dan didapatkan nilai data signifikan dan tidak signifikan. Ekstrak daun biduri konsentrasi 15% dibandingkan dengan konsentrasi 20% dan 30% dibandingkan dengan 25% memiliki nilai $p > 0,05$ sehingga tidak memiliki perbedaan yang bermakna. Hasil uji *Mann Whitney* dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil analisis data *Mann Whitney* ekstrak daun biduri (*Calotropis gigantea*) terhadap pertumbuhan *S.mutan*

Perlakuan	Akuades	EDB 15%	EDB 20%	EDB 25%	EDB 30%	CHX 0,2%
Akuades		0,014*	0,014*	0,014*	0,014*	0,014*
EDB 15%			0,386	0,021*	0,021*	0,021*
EDB 20%				0,021*	0,021*	0,021*
EDB 25%					0,021*	0,021*
EDB 30%					0,663	0,021*
CHX 0,2%						0,021*

PEMBAHASAN

Tanaman biduri (*Calotropis gigantea*) diketahui memiliki senyawa aktif sebagai antibakteri. sampel yang digunakan pada penelitian adalah daun biduri yang diambil dari pesisir Pantai Watu Ulo Jember pada pagi hari pukul 09.00, dikarenakan pada saat itulah terjadi fotosintesis maksimum.²² Penggunaan daun sebagai sampel didasarkan pada penelitian yang dilakukan oleh Pudji *et al.*,¹⁷ yang menyatakan bahwa tanaman biduri bagian daun merupakan bagian yang memiliki senyawa antibakteri paling tinggi dibandingkan bagian lainnya.

Penghambatan bakteri pada metode spektrofotometri UV-Vis dapat ditandai dengan menurunnya nilai absorbansi sesudah inkubasi dan dilihat dari penurunan kekeruhan pada media cair. Hasil ini sejalan dengan penelitian Bubonja-Sonje *et al.*,²³ yang menyatakan bahwa semakin sedikit kekeruhan (penurunan kepadatan bakteri) pada media cair menunjukkan aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri yang baik. Hasil penelitian menunjukkan tidak adanya penurunan nilai absorbansi oleh karena itu, dilakukan perhitungan nilai penghambatan (*inhibition rate*). Hasil penelitian menunjukkan konsentrasi ekstrak daun biduri 25% memiliki nilai penghambatan pada *S. mutans* tertinggi dibandingkan dengan konsentrasi lainnya, yaitu sebesar 76,5%. Penelitian Henaululu dan kaihena²⁴ menyatakan bahwa konsentrasi efektif suatu bahan tidak selalu merupakan konsentrasi yang paling tinggi, karena apabila konsentrasi senyawa kimia antibakteri melewati suatu konsentrasi tertentu maka peningkatan daya disinfeksi akan berkurang.

Hasil pada uji *Paired t-test* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan pada nilai absorbansi larutan uji sebelum dan sesudah inkubasi. Hal ini dikarenakan pada saat dilakukan inkubasi, ekstrak daun biduri dan kontrol (+) *Chlorhexidine gluconate* 0,2%

memiliki waktu selama 24 jam untuk berkontak dengan bakteri dalam larutan uji sehingga dapat bekerja untuk menghambat pertumbuhan *S. mutans*, sebaliknya pada kontrol (-) akuades, tidak memberikan efek antibakteri sehingga *S. mutans* mengalami pertumbuhan. Penelitian Mawea *et al.*²⁵ dan Rori *et al.*²⁶ juga menunjukkan bahwa setelah dilakukan inkubasi pada larutan uji, nilai absorbansi mengalami kenaikan dan penurunan.

Hasil pada penelitian ini menunjukkan adanya hasil ketidakstabilan pada nilai ΔOD yang ditunjukkan dengan bertambahnya ΔOD lebih tinggi pada konsentrasi yang lebih tinggi (konsentrasi 15% dan 20% serta konsentrasi 25% dan 30%) dimana seharusnya semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin tinggi pula aktivitas penghambatan bakteri (nilai absorbansi berkurang) pada semua kelompok perlakuan. Hal ini dapat dikarenakan kondisi kepekatan pada larutan mempengaruhi bertambahnya nilai OD. Kepekatan ini dapat disebabkan konsentrasi dari senyawa daun biduri yang masih kompleks sehingga mempengaruhi penyerapan cahaya. Sejalan dengan Penelitian Mawea *et al.*²⁵ dengan metode spektrofotometri UV-Vis mendapatkan hasil bahwa kenaikan nilai absorbansi tidak selalu karena pertumbuhan bakteri, tetapi dapat juga dipengaruhi oleh kepekatan dari konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi, sehingga dapat mempengaruhi penyerapan cahaya di dalam larutan.

Hasil uji *Mann Whitney* pada konsentrasi 15% dibandingkan dengan konsentrasi 20% dan konsentrasi 25% dibandingkan dengan konsentrasi 30% tidak memiliki perbedaan yang bermakna, hal ini disebabkan dekatnya rentang konsentrasi antara konsentrasi 15% dan 20% serta 25% dan 30% sehingga memiliki kemampuan yang hampir sebanding dalam menghambat bakteri. Hasil ini didukung oleh penelitian Maulana *et al.*²⁷ dan Ramadhani *et al.*²⁸ yang memiliki rentang konsentrasi ekstrak kecil sehingga tidak memiliki perbedaan bermakna.

Hasil penelitian dengan metode spektrofotometri UV-Vis tidak dapat menjadi acuan apakah perubahan tersebut akibat dari bakteri yang hidup atau mati.²⁵ Oleh karena itu, untuk membuktikan daun biduri dengan konsentrasi tersebut dapat menghambat pertumbuhan, maka dilakukan metode hitung koloni (*Total Plate Count*). Terbukti, pada ekstrak daun biduri konsentrasi 15%, 20%, 25%, dan 30% terdapat penurunan jumlah koloni bakteri, dan pada konsentrasi 25% merupakan konsentrasi yang mampu menurunkan jumlah koloni terbanyak setelah kontrol (+) *Chlorhexidine gluconate* 0,2%. Hasil ini memiliki perbedaan dengan penelitian sebelumnya dimana pada penelitian Dewi *et al.*, semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin efektif menghambat pertumbuhan bakteri.¹³ Penurunan penghambatan bakteri pada konsentrasi 30% dapat disebabkan oleh kandungan alkaloid tertentu pada konsentrasi tinggi dapat meningkatkan pertumbuhan bakteri, hal ini berdasarkan pada penelitian Yan *et al.*²⁹ yang menyatakan bahwa alkaloid *A. carmichaeli* memiliki efek meningkatkan metabolisme bakteri *E. coli*.

Aktivitas antibakteri daun biduri disebabkan oleh adanya bahan aktif yang terkandung dalam daun biduri. Daun biduri diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Pelarut etanol digunakan dikarenakan etanol bersifat polar sehingga mampu mengekstrak senyawa antibakteri dalam daun biduri yang lebih banyak bersifat polar. Berdasarkan hasil skrining fitokimia, didapatkan hasil bahwa daun biduri mengandung bahan aktif yang dapat digunakan sebagai antibakteri. Hasil ini sejalan dengan penelitian Alibasyah *et al.*, mengenai senyawa antibakteri daun biduri, yaitu alkaloid, flavonoid, fenol, saponin, terpenoid, dan tanin.¹⁰

Persentase bahan aktif terbanyak yang terkandung pada daun biduri adalah alkaloid, yaitu sebanyak 4,05% diikuti flavonoid 4,01%, saponin 3,01%, terpenoid 1,82%, dan tanin 0,98%. Mekanisme senyawa antibakteri daun biduri memiliki kesamaan dengan kelompok pembanding *Chlorhexidine gluconate* 0,2%, yaitu kandungan flavonoid yang dapat mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel bakteri. Penelitian ini sejalan dengan penelitian Astuti *et al.*, yang menyatakan bahwa daun biduri dapat menghambat pertumbuhan *S. mutans*. Namun, Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan diantaranya adalah pada ekstrak daun biduri yang digunakan masih ekstrak dengan kandungan senyawa murni dari daun biduri sehingga dapat berpengaruh pada daya antibakteri daun biduri. Selain itu,

kandungan terbanyak daun biduri yaitu alkaloid tidak diketahui tipe alkaloidnya sehingga dapat memengaruhi hasil penelitian.³⁰

SIMPULAN

Ekstrak daun biduri (*Calotropis gigantea*) efektif menghambat pertumbuhan *S. mutans* pada konsentrasi 25%. Temuan penelitian ini diharapkan dapat membuka peluang besar bagi ekstrak daun biduri untuk dijadikan alternatif alami melawan bakteri penyebab karies gigi, mengingat kemampuannya yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans*.

Ucapan terimakasih: Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (LP2M), Universitas Jember yang telah memberikan dana hibah dalam penelitian ini.

Kontribusi Penulis: Konseptualisasi, M.Z dan A.P.; metodologi, S.S.; perangkat lunak, D.A.W.S; validasi, W.A.D.S, D.A.W.S and S.S.; analisis formal, M.Z.; investigasi, W.A.D.S; sumber daya, S.S.; kurasi data, W.A.D.S.; penulisan penyusunan draft awal, W.A.D.S.; penulisan tinjauan dan penyuntingan, W.A.D.S;

Pendanaan: Penelitian ini didanai oleh LP2M Universitas Jember, berdasarkan surat Keputusan Rektor Universitas Jember nomor 14970/UN25/KP/2022 tanggal 15 Juli 2022 dan Perjanjian Penugasan nomor: 4073/UN25.3.2/LT/2022 tanggal 27 Juli 2022, mendapatkan anggaran penelitian dengan sumber dana DIPA PNB.

Persetujuan Etik: Penelitian ini dilaksanakan sesuai dengan deklarasi Helsinki, dan telah disetujui oleh atau Komite Etik *Medical and Health Research Ethics Committee* (MHREC) Universitas Gadjah Mada (KE/FK/0853/EC/2024 disahkan tanggal 11 Juni 2024).

Pernyataan Dewan Peninjau Kelembagaan: Tidak berlaku, karena penelitian tidak melibatkan manusia atau hewan.

Pernyataan Persetujuan (Informed Consent Statement): Tidak berlaku, karena penelitian tidak melibatkan manusia atau hewan.

Pernyataan Ketersediaan Data: Pernyataan Ketersediaan data yang disarankan dapat ditemukan di bagian "etika publikasi jurnal JKG".

Konflik Kepentingan: Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan

DAFTAR PUSTAKA

- Marlinadayanti, Hanum NA, Ismalayani, Heriyanto Y. Manajemen Pencegahan Karies. Kediri: Lembaga Cakra Brahmanda Lentera; 2022. p. 1.
- World Health Organization. Global Oral Health Status Report Towards Universal Health Coverage for Oral Health by 2030. Vol. 57, Who., 2022. p. 30.
- Kementerian kesehatan RI. Laporan Tematik Survei Kesehatan Indonesia Tahun 2023. Badan Kebijakan Pembangunan Kesehatan. 2024. p. 101–113.
- Sutanti V, Fuadiyah D, Prasetyaningrum N, Pratiwi AR, Kurniawati CS, Nugraeni Y, et al. Kariologi dan Manajemen Karies. Malang: UB Press; 2021. h. 17.
- Maru M, Teklemariam Z, Admassu D. Magnitude, associated factors, and antimicrobial susceptibility pattern of bacterial isolates among adult dental caries patients attending Hiwot Fana comprehensive specialized university hospital, Harar, Eastern Ethiopia. *PLoS One*. 2023;18(2):1–17. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0278829>
- Lee YJ, Kim M-A, Kim J-G, Kim J-H. Detection of *Streptococcus mutans* in human saliva and plaque using selective media, polymerase chain reaction, and monoclonal antibodies. *Oral Biol Res*. 2019;43(2):121–9. <https://doi.org/10.21851/obr.43.02.201906.121>
- Wulandari, Widodo, Hatta I. Hubungan antara jumlah koloni bakteri *Streptococcus mutans* Saliva dengan indeks (DMF-T). *DENTIN J Ked Gi*. 2022;6(3):173–80.
- VanMeter KC, Hubert RJ. Microbiology for the Healthcare Professional - E-Book. Elsevier Health Sciences; 2022. p. 146.
- Sari DN, Cholil, Sukmana BI. Perbandingan efektifitas obat kumur bebas alkohol yang mengandung cetylpyridinium chloride dengan chlorexidine terhadap penurunan plak. *Dentino J Ked Gi*. 2014;II(2):197–200.
- Alibasyah ZM, Ningsih DS, Sinda MP. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Daun Biduri (*Calotropis gigantea*) terhadap *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ATCC 29523. *Cakradonya Dent J*. 2020;12(1):56–63. <https://doi.org/10.24815/cdj.v12i1.17831>
- Rosyada AG, Prihastuti CC, Sari DNI, Setiawati S, Ichsyani M, Laksitasari A, et al. Aktivitas antibiofilm ekstrak etanol kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) dalam menghambat pembentukan biofilm *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *J Ked Gig Univ Padj*. 2023;35(1):34. <https://doi.org/10.24198/jkg.v35i1.42451>
- Sulaiha, Mustikaningtyas, Widiatningrum, Dewi. Senyawa Bioaktif *Trichoderma erinaceum* dan *Trichoderma koningiopsis* Serta Potensinya Sebagai Antibakteri. *Life Sci*. 2022;11(2):120–31.
- Dewi DGDP, Mastra N, Jirna IN. Perbedaan zona hambat pertumbuhan *stapylococcus aureus* pada berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun biduri secara in vitro. *Meditory J Med Lab*. 2018;6(1):39–45. <https://doi.org/10.33992/m.v6i1.227>
- Rohmah SAA, Muadifah A, Martha RD. Validasi metode penetapan kadar pengawet natrium benzoat pada sari kedelai di beberapa kecamatan di kabupaten tulungagung menggunakan spektrofotometer Uv-Vis. *J Sains Kes*. 2021;3(2):120-127. <https://doi.org/10.25026/jsk.v3i2.265>
- Furqonita A, Aritonang AB, Wibowo MA. Sintesis TiO2 terdoping Bi3+ dan uji aktivitas fotokatalisis antibakteri *E.coli* dengan bantuan

- sinar tampak. *Ind J of Pure and Applied Chemistry*. 2021;4(2):69–80. <https://doi.org/10.26418/indonesian.v4i2.46976>
16. Pertiwi R, Wulandari S. *Farmakologi Simplisia Minyak Atsiri dan Gula*. Klaten: Penerbit Lakeisha; 2022. p. 48–52.
 17. Pudji A, Meilawaty Z, Suci AW, Dharmayanti, Setyaningsih S. Penapisan fitokimia dan kandungan flavonoid total tanaman *Calotropis gigantea* : studi eksperimental laboratoris. *J Ked Gig Univ Padj*. 2023;35(2):166–71. <https://doi.org/10.24198/jkg.v35i2.47123>
 18. Setyati D, Luthfiah, Arimurti S. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Lumut Hati *Dumortiera hirsuta* (Sw.) Nees terhadap Bakteri Patogen. *Berk Sainstek*. 2021;9(2):75–80. <https://doi.org/10.19184/bst.v9i2.22645>
 19. Fachrizha Munier N, Panjaitan FU, Putri Utami J, Kedokteran Gigi F. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binjai (*Mangifera caesia*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Porphyromonas gingivalis* (Studi in vitro dengan Metode Dilusi). *DENTIN J Ked Gi*. 2021;5(2):64–9. <https://doi.org/10.20527/dentin.v5i2.3790>
 20. Ainutajriani, Artanti D, Rohmayani V. *Bakteriologi Dasar*. Malang: Rena Cipta Mandiri; 2024. h. 30.
 21. Akinduti PA, Motayo B, Idowu OM, Isibor PO, Olasehinde GI, Obafemi YD, et al. Suitability of Spectrophotometric Assay for Determination of Honey Microbial Inhibition. *J Phys Conf Ser*. 2019;1299(1). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1299/1/012131>
 22. Azkiyah SZ. Aktivitas antibakteri ekstrak daun widuri terhadap *escherichia coli* dan *staphylococcus aureus* antibacterial activities of widuri leaves extract on *escherichia coli* and *staphylococcus aureus*. *J Farm Tinctura*. 2020;2(1):1–9. <https://doi.org/10.35316/tinctura.v2i1.1539>
 23. Bubonja-Sonje M, Knežević S, Abram M. Challenges to antimicrobial susceptibility testing of plant-derived polyphenolic compounds. *Arh Hig Rada Toksikol*. 2020;4(71):300–11. <https://doi.org/10.2478/aiht-2020-71-3396>
 24. Henaulu AH, Kaihena M. Potensi antibakteri ekstrak etanol daun kecipir (*psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC) terhadap pertumbuhan *escherichia coli* dan *staphylococcus aureus* in vitro. *Biofaal J*. 2020;1(1):44–54. <https://doi.org/10.30598/biofaal.v1i1pp44-54>
 25. Mawea F, Maarisit W, Datu O, Potalangi N. Efektivitas ekstrak daun cempedak *artocarpus integer* sebagai antibakteri. *Biofarmasetikal Trop*. 2019;2(1):115–22. <https://doi.org/10.55724/jbiofarmtrop.v2i1.52>
 26. Rori BND, Khoman JA, Supit ASR. Uji konsentrasi hambat minimum ekstrak daun geddi (*abelmoschus manihot* L. medik) terhadap pertumbuhan *streptococcus mutans*. *e-GIGI*. 2018;6(2). <https://doi.org/10.35790/eg.6.2.2018.20200>
 27. Maulana AR, Triatmoko B, Hidayat MA. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun waru gunung (*hibiscus macrophyllus*) dan fraksinya terhadap *staphylococcus aureus*. *Pustaka Kes*. 2021;9(1):48. <https://doi.org/10.19184/pk.v9i1.16432>
 28. Putri Ramadheni, Mukhtar H, Prahmono D. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun katuk (*sauropus androgynus* (L.) merr) terhadap bakteri *staphylococcus aureus* dan *escherichia coli* dengan metode difusi agar. *Ind Nat Res Pharm J*. 2018;2(2):34–5.
 29. Yan Y, Li X, Zhang C, LV L, Gao B, Li M. Research progress on antibacterial activities and mechanisms of natural alkaloids: a review. *Antibiot*. 2021;10(3). <https://doi.org/10.3390/antibiotics10030318>
 30. Kholidiya, WRN, Astuti P, Meilawaty Z. Antibacterial potential of biduri leaf extract (*calotropis gigantea*) against the growth of *streptococcus mutans* ATCC 35668 Colonies: an experimental laboratory. *Padj J Dent*. 2024;36(1):67-76. <https://doi.org/10.24198/pjd.vol36no1.52850>