PJDRS

Padjadjaran Journal of Dental Researchers and Students

Journal homepage: https://jurnal.unpad.ac.id/pjdrs

p-ISSN: 2656-9868 e-ISSN: 2656-985X

Laporan Penelitian

Uji aktivitas antibakteri ekstrak tulang ikan patin terhadap *Prevotella intermedia*: Studi eksperimental

Ni Made Puja Laksmi Dewi[1*], Sinar Yani[2], Silvia Anitasari[3], Alhawaris[4], Cicih Bhakti Purnamasari[1]

*Korespondesi:
madedesvita2001@gmail.com

[1]Program Studi Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia
[2]Departemen Oral Biologi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia
[3]Departemen Ilmu Material dan Teknologi Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia
[4]Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia

Submisi: 29 Agustus 2026
Revisi: 20 September 2026
Penerimaan: 27 Oktober 2026
Publikasi Online: 31 Oktober 2026
DOI: 10.24198/pjdrs.v10i3.70426

ABSTRAK

Pendahuluan: Penyakit periodontal merupakan masalah kesehatan gigi yang umum di masyarakat Indonesia, sering kali disebabkan oleh aktivitas bakteri patogen anaerob seperti *Prevotella intermedia*. Pemanfaatan limbah tulang ikan patin (*Pangasius djambal*) sebagai agen antibakteri alami merupakan inovasi yang mendukung konsep *Green Dentistry* karena kandungan senyawa bioaktifnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak tulang *Pangasius djambal* terhadap pertumbuhan bakteri *Prevotella intermedia*. **Metode:** Penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimental laboratoris dengan desain penelitian *post-test only control group design*. Metode ekstraksi yang digunakan dalam proses ini, yaitu maserasi (etanol) pada rentang konsentrasi 40%, 20%, 10%, 5%, 2,5%, 1,25%, dan 0,625%. Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode mikrodilusi untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan media subkultur untuk Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). **Hasil:** Ekstrak etanol tulang ikan patin memiliki nilai KHM 5% dilihat dari sumuran yang tidak mengalami perubahan warna setelah diberi pewarna MTT. Pada uji subkultur tidak ditemukan pertumbuhan bakteri pada seluruh replikasi pada konsentrasi 20%. **Simpulan:** Ekstrak etanol tulang ikan patin memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Prevotella intermedia* dengan nilai KHM 5% dan KBM 20%.

KATA KUNCI : Aktivitas antibakteri, *pangasius djambal*, *prevotella intermedia*, maserasi

Antibacterial Activity Test of Pangasius djambal Fish Bone Extract Against Prevotella intermedia: An Experimental Study

ABSTRACT

Introduction: *Periodontal disease is a common oral health problem in Indonesian society, often caused by anaerobic pathogenic bacteria such as Prevotella intermedia. The use of waste catfish (Pangasius djambal) bones as a natural antibacterial agent is an innovation that supports the concept of Green Dentistry because of their bioactive compounds. This study aimed to determine the antibacterial activity of Pangasius djambal fish bone extract against the growth of Prevotella intermedia.* ***Methods:*** *This study employed a laboratory experimental design using a post-test only control group design. The extraction was performed by ethanol maceration. The extract was tested at concentrations of 40%, 20%, 10%, 5%, 2.5%, 1.25%, and 0.625%. Antibacterial activity was evaluated using the microdilution method to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and subculture medium for the Minimum Bactericidal Concentration (MBC).* ***Results:*** *The ethanol extract of catfish bones exhibited an MIC of 5%, as indicated by the absence of color change in the wells after the addition of MTT stain. In the subculture test, no bacterial growth was observed in any replicate at a concentration of 20%, establishing the MBC at 20%.* ***Conclusions:*** *The ethanol extract of catfish bones exhibited antibacterial activity against Prevotella intermedia, with an MIC of 5% and an MBC of 20%.*

KEYWORDS: *Antibacterial activity, Pangasius djambal, Prevotella intermedia, maceration*

Sitasi: Dewi NMPL, Yani S, Anitasari S, Alhawaris A, dan Purnamasari CB. Uji aktivitas antibakteri ekstrak tulang ikan patin *angasius djambal*) terhadap *Prevotella intermedia:* Studi eksperimental.Padjadjaran Journal of Dental Researchers and Students. 2026; 10(3): 363-371. DOI: 10.24198/pjdrs.v10i3.70426. Submitted to Padjadjaran Journal of Dental Researchers and Students for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY-NC 4.0) license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

PENDAHULUAN

Penyakit Periodontal merupakan salah satu masalah kesehatan gigi dan mulut yang memiliki prevalensi tinggi. Berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2018, prevalensi penyakit periodontal di Indonesia mencapai 74,1%.[1] Penyakit periodontal, khususnya periodontitis, merupakan penyakit inflamasi yang dapat menyebabkan kerusakan progresif pada jaringan pendukung gigi, termasuk ligamen periodontal dan tulang alveolar. Kerusakan jaringan periodontal yang berlangsung progresif dapat menyebabkan kehilangan perlekatan dan, apabila tidak ditangani secara tepat, berujung pada kehilangan gigi.[2–4] Oleh karena itu, pengendalian faktor penyebab, khususnya mikroorganisme yang berperan dalam perkembangan penyakit periodontal, menjadi salah satu aspek penting dalam menghambat progresivitas kerusakan jaringan periodontal.

Etiologi utama dari periodontitis berkaitan dengan akumulasi dan perubahan komposisi biofilm subgingiva yang didominasi oleh bakteri periodontopatogen, termasuk bakteri anaerob Gram-negatif.[5] Salah satu mikroorganisme yang berperan dalam penyakit periodontal adalah *Prevotella intermedia*, yang merupakan anggota kompleks oranye dalam ekosistem biofilm oral.[6,7]

Bakteri anaerob Gram-negatif ini dikenal sangat virulen karena kemampuannya menghasilkan protease sistein dan lipopolisakarida (LPS) yang memicu respons inflamasi destruktif, menyebabkan degradasi ligamen periodontal hingga resorpsi tulang alveolar secara progresif.[6,8] Sayangnya, pengendalian infeksi *Prevotella intermedia* menjadi tantangan yang semakin besar akibat meningkatnya fenomena resistensi antibiotik terhadap agen antimikroba konvensional seperti metronidazole dan amoksilin, yang merupakan terapi kombinasi antibiotik pengobatan periodontal.[9,10] Kondisi tersebut mendorong eksplorasi sumber bahan alam sebagai kandidat agen antibakteri yang dapat dikembangkan lebih lanjut.

Salah satu sumber bahan alam yang berpotensi dimanfaatkan adalah hasil samping perikanan, termasuk tulang ikan. Pemanfaatan tulang ikan sebagai bahan penelitian antibakteri dapat memberikan nilai tambah terhadap hasil samping pengolahan perikanan. Tulang *Pangasius djambal* diketahui memiliki berbagai komponen yang berpotensi dimanfaatkan. Beberapa penelitian terdahulu melaporkan adanya golongan metabolit sekunder, seperti flavonoid, saponin, dan alkaloid, pada ekstrak tulang ikan yang diperoleh menggunakan pelarut tertentu. Senyawa-senyawa tersebut diketahui memiliki potensi aktivitas antibakteri melalui berbagai mekanisme, antara lain gangguan terhadap integritas dan permeabilitas membran sel serta penghambatan proses metabolisme bakteri.[11]

Penelitian mengenai aktivitas antibakteri ekstrak tulang ikan terhadap bakteri rongga mulut telah dilakukan sebelumnya. Syam et al.[12] melaporkan bahwa ekstrak tulang ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis*) dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis* secara *in vitro*. Penelitian tersebut menunjukkan adanya zona hambat pada berbagai konsentrasi ekstrak terhadap kedua bakteri uji.[12] Hasil tersebut memberikan dasar bahwa ekstrak tulang ikan dapat dieksplorasi sebagai sumber bahan antibakteri terhadap mikroorganisme rongga mulut. Namun, penelitian tersebut menggunakan spesies ikan dan bakteri uji yang berbeda dari penelitian ini, sehingga hasil aktivitas antibakteri yang diperoleh belum dapat memberikan informasi mengenai respons *Prevotella intermedia* terhadap ekstrak tulang *Pangasius djambal*.

Berdasarkan uraian tersebut, research gap penelitian ini terletak pada masih terbatasnya informasi mengenai aktivitas antibakteri ekstrak etanol tulang *Pangasius djambal* terhadap *Prevotella intermedia*. Perbedaan spesies ikan dan bakteri uji pada penelitian terdahulu menyebabkan hasil penelitian tersebut tidak dapat secara langsung diekstrapolasikan terhadap kombinasi bahan dan bakteri yang digunakan dalam penelitian ini. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri ekstrak etanol tulang ikan patin terhadap *P. intermedia* melalui penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan evaluasi pertumbuhan bakteri pada pengujian subkultur untuk mengidentifikasi konsentrasi terendah yang tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri pada kondisi penelitian.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan data awal mengenai aktivitas antibakteri ekstrak etanol tulang ikan patin terhadap *P. intermedia* serta menjadi dasar bagi

penelitian lebih lanjut mengenai karakterisasi komponen aktif dan pengujian aktivitas antibakteri secara kuantitatif.

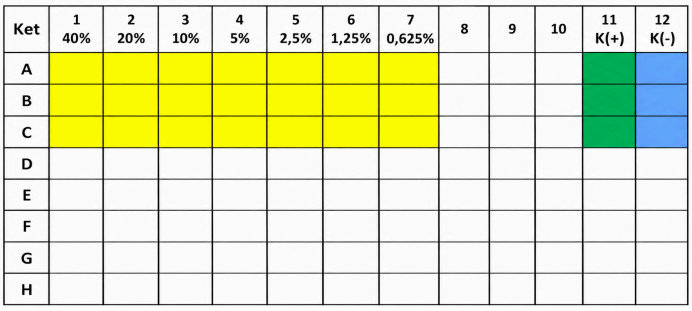
Kebaruan penelitian ini terletak pada evaluasi aktivitas antibakteri ekstrak etanol tulang *Pangasius djambal* terhadap Prevotella intermedia, yang masih terbatas dilaporkan dalam penelitian sebelumnya. Berbeda dengan penelitian terdahulu yang menggunakan spesies ikan maupun bakteri uji lainnya, penelitian ini secara khusus mengevaluasi kemampuan ekstrak etanol tulang *Pangasius djambal* dalam menghambat pertumbuhan dan menunjukkan aktivitas bakterisidal terhadap Prevotella intermedia melalui metode mikrodilusi dan subkultur. Penelitian ini memberikan data awal mengenai KHM dan KBM ekstrak tersebut, sekaligus memperluas informasi ilmiah mengenai potensi pemanfaatan limbah tulang *Pangasius djambal* sebagai sumber bahan antibakteri alami terhadap bakteri periodontopatogen. Pemanfaatan limbah perikanan ini juga menawarkan pendekatan yang sejalan dengan prinsip Green Dentistry. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak tulang *Pangasius djambal* terhadap pertumbuhan bakteri *Prevotella intermedia*.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris murni (*In Vitro*) dengan desain *Posttest Only Control Group Design*. Subjek bakteri uji adalah *Prevotella intermedia* dengan standar ATCC 25611. Sampel penelitian berupa limbah tulang *Pangasius djambal* yang diperoleh dari pembudidaya di Bendungan Benanga, Samarinda, Kalimantan Timur.

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2025 hingga Januari 2026. Proses preparasi sampel dan ekstraksi maserasi dilakukan di Laboratorium Pendidikan Kimia dan Laboratorium Kimia Hasil Hutan Universitas Mulawarman. Uji aktivitas antibakteri dilaksanakan di Laboratorium Kesehatan Provinsi Kalimantan Timur.

Penentuan besar sampel dalam penelitian ini dilakukan berdasarkan perhitungan rumus Federer, yang menghasilkan 3 kali replikasi untuk setiap kelompok uji. Penelitian ini terbagi menjadi 9 kelompok perlakuan, yang meliputi ekstrak tulang *Pangasius djambal* pada konsentrasi 0,625%, 1,25%, 2,5%, 5%, 10%, 20%, dan 40% (baris 1A – 7C), serta penggunaan chlorhexidine gluconate 0,2% sebagai kontrol positif (11A – 11C) dan Phosphate Buffered Saline (PBS) sebagai kontrol negatif (12A – 12C)



Gambar 1. Representasi visual tata letak *microplate* yang menunjukkan distribusi kelompok perlakuan pada baris 1A-7C (kode kuning), kelompok kontrol positif pada baris 11A-11C (kode hijau), dan kelompok kontrol negatif pada baris 12A-12C (kode biru)

Gambar 1 menunjukkan tata letak *microplate* yang terdiri atas 8 baris (A–H) dan 12 kolom. Warna kuning menunjukkan kelompok perlakuan dengan konsentrasi 40% hingga 0,625%, warna hijau menunjukkan kontrol positif, dan warna biru menunjukkan kontrol negatif. Susunan ini memudahkan identifikasi posisi setiap kelompok dalam pengujian laboratorium.

Instrumen penelitian terdiri atas alat dan bahan. Alat yang digunakan meliputi *microplate* 96-*well*, *anaerobic jar*, densitometer McFarland, *vortex mixer*, oven, neraca analitik, blender, mikropipet, autoklaf, dan ose steril. Bahan penelitian terdiri atas tulang *Pangasius djambal*, etanol 96%, kultur *Prevotella intermedia*, *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB), *Blood Agar Plate* (BAP), Phosphate Buffered Saline (PBS), indikator Micro Tetrazolium (MTT), serta Chlorhexidine gluconate (CHX) 0,2% sebagai kontrol positif.

Kultur *P. intermedia* serta media BHIB dan BAP diperoleh atau disiapkan oleh Laboratorium Kesehatan Provinsi Kalimantan Timur dan digunakan dalam pengujian sesuai prosedur laboratorium.

Bakteri uji yang digunakan adalah *Prevotella intermedia* ATCC 25611. Strain bakteri diperoleh dari ATCC dan selanjutnya dikultur di Laboratorium Kesehatan Provinsi Kalimantan Timur untuk digunakan sebagai sumber inokulum pada pengujian aktivitas antibakteri. Suspensi bakteri distandarkan berdasarkan kekeruhan menggunakan densitometer McFarland. Suspensi dengan kekeruhan 1 McFarland digunakan pada sumur awal, sedangkan suspensi 0,5 McFarland digunakan pada sumur berikutnya sesuai prosedur pengenceran bertingkat. Seluruh pengujian bakteri dilakukan dalam kondisi anaerob menggunakan *anaerobic jar* dengan sistem GasPak pada suhu 37°C selama 24 jam.

Prosedur pembuatan ekstrak dalam penelitian ini merupakan modifikasi dari metode yang dikembangkan oleh Syam *et al.*[12] Tahapan diawali dengan pembersihan limbah tulang ikan patin dari sisa jaringan lunak, dilanjutkan dengan pengukusan pada suhu 80 selama 30 menit. Sampel kemudian melalui tahap penjemuran di bawah sinar matahari selama 18 jam dan dikeringkan lebih lanjut menggunakan oven pada suhu 45˚C – 48˚C selama 72 jam.

Tulang yang telah kering dihaluskan menggunakan blender dan diayak hingga menjadi bubuk halus. Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dengan rasio serbuk dan pelarut 1:10 b/v. Campuran disimpan pada suhu ruang selama tiga hari dengan pengadukan berkala setiap hari serta terlindung dari cahaya matahari langsung. Filtrat yang diperoleh kemudian disaring menggunakan kertas saring dan diuapkan hingga didapatkan ekstrak kental.

Tahap selanjutnya adalah penyiapan suspensi bakteri *Prevotella intermedia*. Kultur *Prevotella intermedia* yang digunakan dalam penelitian diperoleh dari Laboratorium Kesehatan Provinsi Kalimantan Timur. Kultur tersebut digunakan sebagai sumber inokulum untuk pengujian aktivitas antibakteri. Suspensi bakteri disiapkan dalam media *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB) dan dihomogenkan menggunakan *vortex mixer*. Kekeruhan suspensi kemudian distandarkan menggunakan densitometer McFarland. Suspensi dengan kekeruhan 1 McFarland digunakan pada sumur 1A–1C, sedangkan suspensi dengan kekeruhan 0,5 McFarland digunakan pada sumur 2A–7C sesuai tahapan pengujian.

Penggunaan suspensi dengan kekeruhan 1 McFarland pada sumur 1A–1C dan 0,5 McFarland pada sumur 2A–7C dilakukan untuk menyesuaikan konsentrasi inokulum akhir setelah pencampuran dengan ekstrak dan selama proses *two-fold serial dilution*. Setiap suspensi dihomogenkan sebelum dilakukan pemindahan ke sumur berikutnya untuk meminimalkan variasi distribusi bakteri selama proses pengenceran bertingkat.

Penentuan konsentrasi uji KHM dilakukan melalui teknik serial dilusi dua kali lipat (*two-fold serial dilution*) di dalam sumuran *microplate* 96 *well*. Ekstrak kental yang diperoleh dilarutkan terlebih dahulu dalam PBS untuk membuat larutan stok dengan konsentrasi 80%.

Sebanyak 75 µL suspensi *P. intermedia* dengan kekeruhan 1 McFarland dimasukkan ke dalam sumur 1A–1C, sedangkan 75 µL suspensi *P. intermedia* dengan kekeruhan 0,5 McFarland dimasukkan ke dalam sumur 2A–7C. Kelompok perlakuan, sebanyak 75 µL larutan stok ekstrak konsentrasi 80% ditambahkan ke sumur 1A, kemudian dilakukan *two-fold serial dilution* hingga sumur terakhir. Prosedur yang sama dilakukan pada baris B dan C. Setelah pengenceran bertingkat, sumur terakhir memiliki volume 150 µL. Sebanyak 75 µL larutan dari sumur terakhir, kemudian diambil dan dibuang untuk menyamakan volume akhir setiap sumur menjadi 75 µL. Setiap pemindahan pada proses pengenceran bertingkat dilakukan setelah larutan dihomogenkan untuk meminimalkan variasi konsentrasi bakteri dan ekstrak antar-sumur.

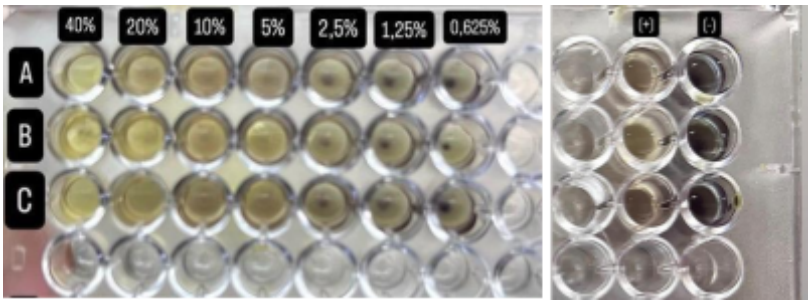
Intervensi pada kelompok kontrol, pertama, sumur 11A–11C hingga 12A–12C diisi dengan 75 µL BHIB 1 McFarland. Kemudian, ke dalam sumur 11A–11C diisi dengan 75 µL chlorhexidine gluconate 0,2% sebagai kontrol positif, serta sumur 12A – 12C diisi dengan 75 µL PBS sebagai kontrol negatif. Seluruh *microplate* kemudian diinkubasi dalam kondisi anaerob pada suhu 37°C selama 24 jam menggunakan *anaerobic jar* dengan sistem GasPak untuk menghasilkan kondisi anaerob.

Setelah inkubasi, penentuan KHM secara visual dapat dilakukan dengan penambahan 20 µL pewarna MTT ke dalam masing-masing sumuran, dengan indikator jika ekstrak mampu menghambat maka warna akan tetap jernih, sedangkan jika terjadi perubahan warna menjadi ungu atau gelap maka ekstrak tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri.

Penentuan KBM dilakukan melalui teknik subkultur dari seluruh sumuran yang menunjukkan hambatan pertumbuhan pada uji KHM ke media *Blood Agar Plate* (BAP). Inokulasi dilakukan secara aseptik menggunakan ose steril, dengan penandaan nomor konsentrasi pada bagian dasar cawan petri. Seluruh sampel kemudian diinkubasi di dalam *anaerobic jar* pada suhu 37°C selama 48–72 jam untuk mengamati ada tidaknya pertumbuhan koloni bakteri. Data kualitatif dalam penelitian ini dianalisis secara deskriptif dengan menginterpretasikan perolehan nilai KHM dan KBM pasca-paparan ekstrak etanol tulang ikan patin terhadap bakteri *Prevotella intermedia*.

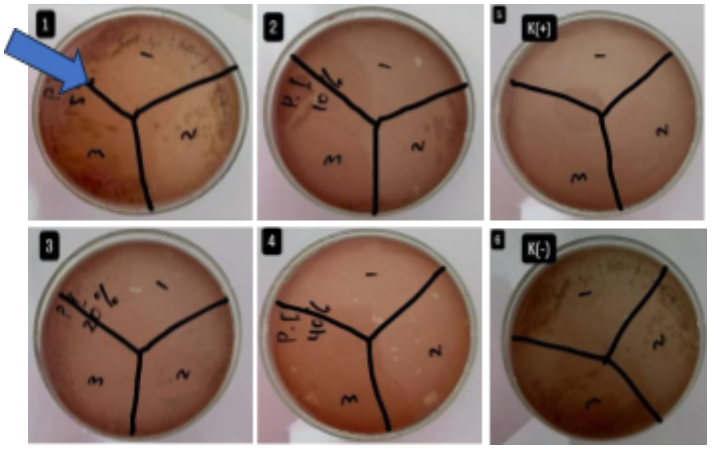
HASIL

Hasil penelitian menunjukkan adanya aktivitas antibakteri ekstrak etanol tulang *Pangasius djambal* terhadap *Prevotella intermedia* pada beberapa konsentrasi yang diuji. Penentuan nilai KHM dilakukan secara visual melalui pengamatan perubahan warna setelah penambahan indikator MTT.



Gambar 2. Gambaran hasil uji KHM tulang *Pangasius djambal* terhadap bakteri *Prevotella intermedia* dengan metode mikrodilusi setelah dilakukan inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37˚C dan diberikan MTT.

Konsentrasi pada ekstrak 40%, 20%, 10%, dan 5%, larutan tetap berwarna kuning pada ketiga replikasi, sedangkan pada konsentrasi 2,5%, 1,25%, dan 0,625% larutan berubah menjadi ungu atau gelap pada ketiga replikasi. Berdasarkan kriteria tersebut, KHM ditetapkan sebesar 5%, yaitu konsentrasi terendah yang masih menunjukkan tidak adanya perubahan warna menjadi ungu yang mengindikasikan aktivitas metabolisme bakteri pada kondisi pengujian. Hasil pengamatan masing-masing replikasi disajikan pada Gambar 2.



Gambar 3. Gambaran hasil uji KBM tulang *Pangasius djambal* terhadap bakteri *Prevotella intermedia* dengan metode gores setelah dilakukan inkubasi selama 48 jam dengan suhu 37˚C. 1. Konsentrasi 5%; 2. Konsentrasi 10%; 3. Konsentrasi 20%; 4. Konsentrasi 40%; 5. Kontrol Positif (Chlorhexidine 0,2%); 6.Kontrol Negatif (PBS).

Pengujian dilanjutkan dengan penentuan nilai KBM melalui metode subkultur pada media BAP. Hasil pengamatan menunjukkan ketiadaan pertumbuhan koloni bakteri secara total dan konsisten pada seluruh replikasi dimulai dari konsentrasi 20% dan 40%, sehingga nilai KBM ditetapkan sebesar 20% (Gambar 3). Hasil pada konsentrasi 10%, ditemukan variasi hasil di mana satu replikasi tidak menunjukkan pertumbuhan, namun dua replikasi lainnya masih menunjukkan adanya koloni bakteri. Hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi 10% ekstrak belum mencapai daya bunuh yang stabil, sehingga baru dikategorikan sebagai fase bakteriostatik (Gambar 3). Hasil lengkap pengujian antibakteri ini terangkum dalam Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji aktvitas antibakteri

Kelompok Perlakuan	Konsentrasi	KHM (Visual/MTT)			KBM (Subkultur BAP)		
		R1	R2	R3	R1	R2	R3
Ekstrak Etanol	40%	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	20%	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	10%	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)
	5%	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)
	2,5%	(+)	(+)	(+)	Tidak diuji	Tidak diuji	Tidak diuji
	1,25%	(+)	(+)	(+)	Tidak diuji	Tidak diuji	Tidak diuji
	0,625%	(+)	(+)	(+)	Tidak diuji	Tidak diuji	Tidak diuji
Kontrol Positif (CHX)	0,2%	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Kontrol Negatif (PBS)	-	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)

(-) Menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri.
(+) Menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri.

Konfirmasi nilai KBM melalui metode subkultur pada media BAP menunjukkan bahwa ketiadaan pertumbuhan koloni bakteri secara konsisten pada seluruh replikasi tercapai pada konsentrasi 20% dan 40% (Gambar 3, Plate 3 dan 4). Pada konsentrasi 10% (Plate 2), masih ditemukan adanya pertumbuhan koloni pada dua replikasi, sementara satu replikasi lainnya tampak jernih, mengindikasikan konsentrasi tersebut merupakan ambang batas fase bakteriostatik menuju bakterisidal. Validitas pengujian diperkuat oleh kontrol positif yang tidak menunjukkan pertumbuhan (Plate 5) dan kontrol negatif yang menunjukkan pertumbuhan bakteri sangat padat (Plate 6).

PEMBAHASAN

Hasil pada penelitian menunjukkan ekstrak tulang *Pangasius djambal* menunjukkan nilai KHM sebesar 5%. Pertumbuhan bakteri secara kualitatif pada subkultur mulai konsentrasi 20% terhadap *Prevotella intermedia* tidak ditemukan. Hasil penelitian ini jika dibandingkan dengan studi terdahulu pada spesies yang berkerabat dekat. Pratama *et al*.,[13] melaporkan bahwa ekstrak tulang ikan patin jenis *Pangasius sutchi* memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Porphyromonas gingivalis* dengan nilai KHM 20% dan KBM 40%. Perbedaan hasil tersebut tidak dapat digunakan untuk menyatakan bahwa salah satu ekstrak memiliki efektivitas yang lebih tinggi karena kedua penelitian menggunakan spesies ikan, bakteri uji, metode ekstraksi, serta prosedur penetapan KHM dan KBM yang berbeda. Oleh karena itu, perbedaan nilai KHM dan hasil subkultur antara kedua penelitian perlu dipandang sebagai perbedaan deskriptif yang masih memerlukan pengujian komparatif dengan kondisi eksperimental yang sama.

Perbedaan metode ekstraksi dapat menjadi salah satu faktor yang mungkin berkontribusi terhadap perbedaan hasil tersebut. Pratama *et al*.,[13] menggunakan metode hidrolisis enzimatis untuk mengisolasi peptida bioaktif dan kolagen, sedangkan penelitian ini menggunakan metode maserasi dengan etanol 96%. Hal ini mengindikasikan bahwa penggunaan pelarut etanol 96% mampu menarik senyawa metabolit sekunder (seperti flavonoid dan saponin) yang bersifat lebih toksik terhadap bakteri Gram-negatif anaerob dibandingkan peptida hasil hidrolisis.[14]

Temuan ini sejalan dan mendukung penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Syam *et al*.,[12] menggunakan metode maserasi, yang melaporkan bahwa limbah tulang ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis*) memiliki aktivitas antibakteri efektif terhadap bakteri oral *Porphyromonas gingivalis* dan *Streptococcus mutans* menggunakan metode difusi cakram. Penelitian tersebut, konsentrasi 5% hingga 15% dapat menghambat bakteri. Kesamaan

hasil ini mengindikasikan bahwa matriks tulang ikan baik dari spesies patin maupun cakalang secara konsisten memiliki potensi bioaktif dalam menghambat bakteri patogen periodontal. Meskipun terdapat perbedaan metode antara penggunaan zona hambat oleh Syam *et al*.,[12] dengan penentuan nilai KHM dan KBM pada penelitian ini, keduanya menunjukkan pola aktivitas yang sama terhadap bakteri uji.

Potensi limbah tulang ikan sebagai *reservoir* agen antibakteri alami juga diperkuat oleh studi terbaru dari Dewi *et al*.,[15] pada tulang ikan gabus (*Channa striata*) yang diformulasikan dalam bentuk nano-hidroksiapatit terhadap *Streptococcus mutans* dengan nilai KBM 15%, serta studi Theodorea *et al*.,[16] pada tulang ikan tuna (*Thunnus* sp.) terhadap *Porphyromonas gingivalis*. Data dari berbagai spesies ikan ini mengonfirmasi bahwa pemanfaatan limbah tulang ikan merupakan langkah inovatif yang mendukung konsep *Green Dentistry*. Keberhasilan ekstrak etanol tulang ikan patin dalam membunuh bakteri pada penelitian ini juga memvalidasi laporan fitokimia dari Dewi *et al*.,[11] yang menyatakan bahwa tulang ikan patin (*Pangasius* sp.) mengandung metabolit sekunder berupa flavonoid, dan saponin pada ekstrak maserasi etanol 96%.

Aktivitas antibakteri ekstrak etanol tulang ikan patin terlihat dari adanya penghambatan aktivitas metabolik bakteri pada uji mikrodilusi serta tidak ditemukannya pertumbuhan bakteri pada hasil subkultur pada konsentrasi tertentu. Hasil pada konsentrasi 5% dan 10%, hasil uji mikrodilusi menunjukkan tidak adanya perubahan warna yang mengindikasikan aktivitas metabolik bakteri, sedangkan hasil subkultur menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut masih terdapat variasi hasil antar-replikasi. Khusus pada konsentrasi 10% (Gambar 3), perbedaan hasil antar-replikasi menunjukkan adanya inkonsistensi pada hasil pengujian.

Perbedaan hasil antar-replikasi dapat dipengaruhi oleh variasi teknis selama proses pengujian, seperti pengambilan inokulum menggunakan ose, distribusi bakteri dalam suspensi, homogenisasi inokulum, maupun proses pemindahan sampel pada tahap subkultur. Selain itu, karena penentuan hasil subkultur dilakukan secara kualitatif tanpa pengukuran jumlah bakteri viabel menggunakan *colony-forming unit* (CFU), tingkat perbedaan viabilitas bakteri antar-replikasi tidak dapat ditentukan secara kuantitatif. Oleh karena itu, hasil pada konsentrasi 10% perlu diinterpretasikan secara hati-hati sebagai adanya variasi hasil antar-replikasi pada kondisi pengujian penelitian ini. Penelitian lebih lanjut dengan metode kuantitatif, seperti penghitungan CFU atau *time-kill assay*, diperlukan untuk mengevaluasi pola viabilitas bakteri dan mekanisme respons terhadap peningkatan konsentrasi ekstrak secara lebih akurat.

Hasil pada konsentrasi 5% dan 10%, ekstrak mampu menghambat aktivitas metabolik bakteri (fase bakteriostatik), namun bakteri terbukti masih viabel saat dikultur ulang pada media *blood agar*. Fenomena variasi pada konsentrasi 10% (Gambar 3) mengindikasikan adanya fase transisi atau ambang batas (*threshold*) efektivitas ekstrak. Hal ini didukung oleh Brauner *et al*.,[17] yang menjelaskan adanya fenomena *persistence* atau heterogenitas respons pada populasi bakteri terhadap agen antibakteri, di mana pada dosis tertentu sebagian sel bakteri menunjukkan toleransi sementara sebelum mencapai konsentrasi bunuh yang stabil secara konsisten pada seluruh replikasi.[18] Variasi dalam rentang satu tingkat pengenceran ini juga dianggap sebagai batas toleransi yang wajar dalam standarisasi pengujian mikrobiologi.[19] Kematian total (bakterisidal) baru tercapai pada konsentrasi 20%, di mana akumulasi senyawa aktif telah melampaui ambang batas toleransi bakteri, menyebabkan kerusakan seluler yang bersifat *irreversible*.

Secara spesifik, keberhasilan ekstrak maserasi dalam mencapai efek bakterisidal (bunuh) pada konsentrasi 20% sangat mungkin dikaitkan dengan mekanisme aksi flavonoid. Menurut literatur, flavonoid bekerja dengan cara mendestabilisasi membran sel bakteri melalui interaksi langsung dengan lipid bilayer, yang menyebabkan peningkatan permeabilitas dan kebocoran isi sitoplasma.[20,21] Flavonoid juga diketahui mampu membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan dinding sel bakteri, serta menghambat sintesis asam nukleat yang penting bagi pembelahan sel.[21,22] Mekanisme perusakan dinding sel ini sangat relevan untuk mengatasi *Prevotella intermedia* yang memiliki pelindung membran luar berupa lipopolisakarida (LPS).

Efektivitas bakterisidal ini juga dipengaruhi oleh kandungan saponin dari ekstrak etanol tulang ikan patin. Saponin berperan sebagai surfaktan alami yang mampu menurunkan tegangan permukaan membran sel bakteri dan berinteraksi dengan

komponen lipid pada dinding sel.[23-25] Mekanisme ini menyebabkan gangguan pada integritas membran sel dan perubahan permeabilitas yang memicu kebocoran material genetik serta konstituen intraseluler vital lainnya.[26,27] Hasil pada bakteri Gram-negatif, gangguan pada barier membran luar oleh saponin memberikan efek sinergis yang memudahkan penetrasi senyawa antibakteri lainnya ke dalam sel bakteri.[28-30]

Validitas internal hasil penelitian ini dikonfirmasi melalui performa kelompok kontrol yang menunjukkan hasil konsisten. Kelompok pada kontrol positif, penggunaan *Chlorhexidine gluconate* 0,2% menunjukkan aktivitas bakterisidal total (tidak ada pertumbuhan), menegaskan posisinya sebagai standar emas antiseptik periodontal yang bekerja cepat mempresipitasi sitoplasma bakteri. Sebaliknya, pada kelompok kontrol negatif, bakteri *Prevotella intermedia* menunjukkan pertumbuhan yang subur pada media agar. Kondisi ini secara krusial memvalidasi bahwa sistem inkubasi berjalan optimal serta pelarut yang digunakan tidak bersifat toksik bagi bakteri.

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan yang perlu dipertimbangkan dalam menginterpretasikan hasil. Selain menggunakan desain *in vitro* yang belum sepenuhnya merepresentasikan kompleksitas lingkungan rongga mulut, termasuk pengaruh saliva dan biofilm multispesies, penentuan *endpoint* KHM dan KBM dalam penelitian ini dilakukan berdasarkan pengamatan visual atau kualitatif. Jumlah replikasi yang terbatas serta tidak dilakukannya penghitungan bakteri *viabel* menggunakan CFU juga dapat membatasi ketepatan penentuan nilai KHM dan KBM serta interpretasi rasio KBM/KHM.

Selain itu, penelitian ini belum mencakup karakterisasi kimia ekstrak secara lebih mendalam. Oleh karena itu, hasil penelitian ini perlu dipandang sebagai landasan awal bagi pengembangan ekstrak etanol tulang ikan patin sebagai kandidat bahan antibakteri. Penelitian lanjutan diperlukan, meliputi penetapan KBM secara kuantitatif melalui perhitungan CFU, Karakterisasi senyawa aktif, uji toksisitas terhadap jaringan lunak rongga mulut, serta pengujian stabilitas sediaan untuk memperoleh bukti keamanan dan efektivitas yang lebih kuat sebelum dikembangkan untuk aplikasi klinis.

SIMPULAN

Ekstrak etanol tulang *Pangasius djambal* menunjukkan aktivitas penghambatan pertumbuhan *prevotella intermedia* secara *in vitro,* dengan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) sebesar 5% berdasarkan uji mikrodilusi dengan indikator MTT. Pada uji subkultur, tidak ditemukan pertumbuhan bakteri pada seluruh replikasi pada konsentrasi 20%, sehingga konsentrasi tersebut merupakan konsentrasi terendah yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan pada kondisi pengujian penelitian ini. Implikasi temuan dari penelitian ini adalah memberikan bukti awal mengenai potensi ekstrak etanol tulang *Pangasius djambal* sebagai sumber bahan antibakteri alami terhadap *prevotella intermedia* secara *in vitro*. Pemanfaatan limbah tulang ikan patin juga berpotensi mendukung pendekatan yang sejalan dengan konsep *Green Dentistry*.

Ucapan terima kasih: Semua peneliti mengucapkan sangat terima kasih atas semua pihak yang terlibat dalam penelitian ini

Kontribusi Penulis: Kontribusi peneliti "Konseptualisasi, D.N.M.P.L dan Y.S.; metodologi, D.N.M.P.L., Y.S. dan A.S.; perangkat lunak, D.N.M.P.L; validasi, D.N.M.P.L., Y.S., A.S. dan A.; analisis formal, A.S.; investigasi, Y.S.; sumber daya, D.N.M.P.L; penulisan—penyusunan draft awal, D.N.M.P.L.; penulisan-tinjauan dan penyuntingan, D.N.M.P.L., Y.S. dan A.S.; visualisasi, D.N.M.P.L., Y.S. dan A.S.; supervisi, Y.S.; administrasi proyek, D.N.M.P.L.; perolehan pendanaan, D.N.M.P.L. Semua penulis telah membaca dan menyetujui versi naskah yang diterbitkan.

Pendanaan: Penelitian ini tidak menerima dana dari pihak luar

Persetujuan Etik: Penelitian ini dilaksanakan sesuai dengan deklarasi Helsinki, dan telah disetujui oleh atau Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Mulawarman (No. 211/KEPK-FK/XI/2025 dan tanggal pengesahan pada 26 November 2025)

Pernyataan Persetujuan Subjek Penelitian: Ketersediaan data penelitian dapat diperoleh melalui email korespondensi penulis

Pernyataan Ketersediaan Data: Ketersediaan data penelitian dapat diperoleh melalui email korespondensi penulis

Konflik Kepentingan: Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan

DAFTAR PUSTAKA

1. Tim Riskesdas 2018. Laporan Nasional Riskesdas 2018. Jakarta: Lembaga Penerbit Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan; 2019.
2. Hajishengallis G, Chavakis T, Lambris JD. Current Understanding of Periodontal Disease Pathogenesis and Targets for Host-Modulation Therapy. Periodontol 2000. 2020;84:14–34. https://doi.org/10.1111/prd.12331
3. Setiawan PB, Tandelilin RTC, Nur'aini B. Pementaan dan Faktor Risiko Sosioekonomi dan Perilaku terhadap Kejadian Penyakit Periodontal di Kecamatan Pundong Kabupaten Bantul. J Teknosains. 2020;9(2):91–180. https://doi.org/10.22146/teknosains.44013
4. Castro MML, Duarte NN, Nascimento PC, Magno MB, Fagundes NCF, Flores-Mir C, et al. Antioxidants as Adjuvants in Periodontitis Treatment: A Systematic Review and Meta-Analysis. Oxid Med Cell Longev. 2019;2019:1–24. https://doi.org/10.1155/2019/9187978
5. Łasica A, Golec P, Laskus A, Zalewska M, Gędaj M, Popowska M. Periodontitis: Etiology, Conventional Treatments, and Emerging Bacteriophage and Predatory Bacteria Therapies. Front Microbiol. 2024 Sep 26;15. https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1469414
6. Zhang S, Zhao Y, Lalsiamthara J, Peng Y, Qi L, Deng S, et al. Current Research Progress on Prevotella intermedia and Associated Diseases. Crit Rev Microbiol. 2024 Aug 14;51(4):545–62. htpps://doi.org/10.1080/1040841X.2024.2390594
7. Nomura Y, Takeuchi H, Okamoto M, Sogabe K, Okada A, Hanada N. Chair-Side Detection of Prevotella Intermedia in Mature Dental Plaque by its Fluorescence. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2017 Apr 24;18:335–41. https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2017.04.010
8. Sharma G, Garg N, Hasan S, Shirodkar S. Prevotella: An insight Into its Characteristics and Associated Virulence Factor. Microb Pathog. 2022 Jul 6;169. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2022.105673
9. Feres M, Retamal-Valdes B, Mestnik MJ, de Figueiredo LC, Faveri M, Duarte PM, et al. The ideal time of systemic Metronidazole and Amoxicillin Administration in the Treatment of Severe Periodontitis: Study Protocol For a Randomized controlled trial. Trials. 2018 Mar 27;19(1). https://doi.org/10.1186/s13063-018-2540-8
10. Castillo Y, Delgadillo NA, Neuta Y, Hernández A, Acevedo T, Cárdenas E, et al. Antibiotic Susceptibility and Resistance Genes in Oral Clinical Isolates of Prevotella intermedia, Prevotella nigrescens, and Prevotella melaninogenica. Antibiotics. 2022 Jul 1;11(7). https://doi.org/10.3390/antibiotics11070888
11. Dewi SRP, Sinulingga S, Fatmawati, Natasya M, Utami SD, Dunda PRAID. Determination of Secondary Compounds in Extracts from Catfish (Pangasius sp). J Kimia Mulawarman. 2023(1):67–72. https://doi.org/10.30872/jkm.v21i1.1009
12. Syam S, Asmah N, Lestari NAL. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Tulang Ikan Cakalang (Katsuwonus pelamis) terhadap Streptococcus mutans dan Porphyromonas gingivalis. e-GiGi. 2023;11(2):306–12. https://doio.org/10.35790/eg.v11i2.46
13. Pratama MR, Dewi SRP, Awalia H. The effect of antibacterial agent of Pangasius sutchi bone extract against Porphyromonas gingivalis. Sriwijaya J Dent. 2023;4(1):11-18. https://doi.org/10.32539/sjd.v4i1.39
14. Iqbal M, Jariah AA. Phytochemical Screening of Secondary Metabolite Compounds in Tammate Leaf Extract (Lannea coromandelica (HOUTT.) MERR.) from Pangkep Regency Using Various Extraction Methods. J Current Health Sci. 2025 Feb 21;5(1):59–66. https://doi.org/10.47679/jchs.2025107
15. Dewi N, Rahmadella A, Hatta I, Apriasari ML, Putri DKT. Antibacterial activity of nano-hydroxyapatite paste of snakehead fish bone against S. mutans: an in vitro study. Padjadjaran J Dent. 2024;36(1):1-8. https://doi.org/10.24198/pjd.vol36no1.51018
16. Theodorea CF, Nurkolis F, Idrus E, Yusuf TW, Vivo CD, Subali D, Taslim NA, Nugraha AP. Physicochemical characterization of novel toothpaste from Caulerpa racemosa and Thunnus fish bone: antibacterial potency against colonization of selected cariogenic-periodontal bacteria. Pharmacia. 2024;71:1-8. https://doi.org/10.3897/pharmacia.71.e118021
17. Brauner A, Fridman O, Gefen O, Balaban NQ. Distinguishing between resistance, tolerance and persistence to antibiotic treatment. Nat Rev Microbiol. 2016;14(5):320-330. https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.34
18. Balaban NQ, Helaine S, Lewis K, Ackermann M, Aldridge B, Andersson DI, Brynildsen MP, et al. Definitions and guidelines for research on antibiotic persistence. Nat Rev Microbiol. 2019;17(7):441-448. https://doi.org/10.1038/s41579-019-0196-3
19. Mouton JW, Muller AE, Canton R, Giske CG, Kahlmeter G, Turnidge J. MIC-based dose adjustment: facts and fables. J Antimicrob Chemother. 2018;73(3):564-568. https://doi.org/10.1093/jac/dkx427
20. Zhang Z, Cao M, Shang Z, Xu J, Chen X, Zhu Z, Wang W, Wei X, Zhou X, Bai Y, Zhang J. Research progress on the antibacterial activity of natural flavonoids. Antibiotics (Basel). 2025;14(4):334. https://doi.org/10.3390/antibiotics14040334
21. Zhou H, Chen L, Ouyang K, Zhang Q, Wang W. Antibacterial activity and mechanism of flavonoids from Chimonanthus salicifolius S. Y. Hu. and its transcriptome analysis against Staphylococcus aureus. Front Microbiol. 2023;13:1103476. https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1103476
22. Górniak I, Bartoszewski R, Króliczewski J. Comprehensive review of antimicrobial activities of plant flavonoids. Phytochem Rev. 2019;18:241–272. https://doi.org/10.1007/s11101-018-9591-z
23. bubakar AR, Haque M. Preparation of medicinal plants: basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes. J Pharm Bioallied Sci. 2020;12(1):1–10. https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_175_19
24. Li J, Monje-Galvan V. Effect of glycone diversity on the interaction of triterpenoid saponins and lipid bilayers. ACS Appl Bio Mater. 2024;7(2):553–563. https://doi.org/10.1021/acsabm.2c00928
25. Efimova SS, Ostroumova OS. Is the membrane lipid matrix a key target for action of pharmacologically active plant saponins? Int J Mol Sci. 2021;22(6):3167. https://doi.org/10.3390/ijms22063167
26. Dong S, Yang X, Zhao L, Zhang F, Hou Z, Xue P. Antibacterial activity and mechanism of action saponins from Chenopodium quinoa Willd. husks against foodborne pathogenic bacteria. Ind Crops Prod. 2020;149:112350. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112350
27. Wei M, Chen Q, Zhou Y, Tie H. The influence of synergistic antibacterial saponins, sapindoside A and B, on the fatty acid composition and membrane properties of Micrococcus luteus. J Sci Food Agric. 2025;105(5):2777–2786. https://doi.org/10.1002/jsfa.14056
28. Koczurkiewicz P, Klaś K, Grabowska K, Piska K, Rogowska K, Wójcik-Pszczoła K, Podolak I. Saponins as chemosensitizing substances that improve effectiveness and selectivity of anticancer drug: minireview of in vitro studies. Phytother Res. 2019;33(9):2141–2151. https://doi.org/10.1002/ptr.6371
29. Mułek W, Rojewska M, Pacholak A, Machrowicz O, Prochaska K, Kaczorek E. Co-interaction of nitrofurantoin and saponins surfactants with biomembrane leads to an increase in antibiotic's antibacterial activity. J Mol Liq. 2022;364:120070. https://doi.org/10.1016/j.molliq.2022.120070
30. Kaczorek E, et al. Co-interaction of nitrofuran antibiotics and the saponin-rich extract on gram-negative bacteria and colon epithelial cells. World J Microbiol Biotechnol. 2023. https://doi.org/10.1007/s11274-023-03669-2