

BUKTI KORESPONDENSI

ARTIKEL JURNAL NASIONAL TERAKREDITASI

Judul Artikel : Judul: Effectiveness Of Tamarind Leaf (*Tamarindus Indica L.*) Ethanol Extract Antibacterial Against *Porphyromonas Gingivalis*

Jurnal : Dentino

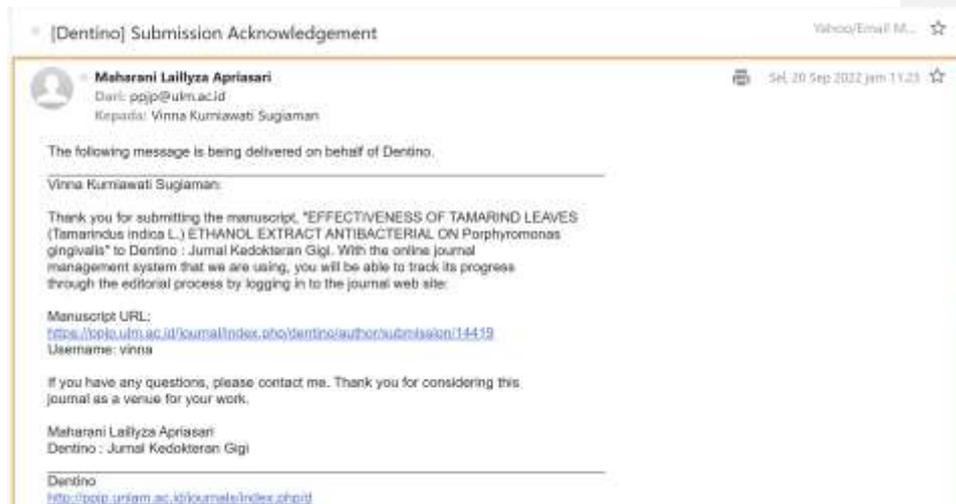
Penulis : Yemima Putri Wijaya Baiin, Henry Y. Mandalas, Vinna Kurniawati Sugiawan

No	Perihal	Tanggal
1.	Register pada Jurnal Dentino	20 September 2022
2.	Bukti konfirmasi submit artikel dan artikel yang disubmit	20 September 2022
3.	Bukti melakukan review yang pertama	09 Februari 2023
4.	Bukti konfirmasi submit revisi pertama yang telah direvisi	19 Maret 2023
5.	Bukti melakukan review yang kedua	
6.	Bukti konfirmasi submit artikel yang telah revisi kedua	
7.	Bukti konfirmasi artikel diterima	April 2023
8.	Bukti Galery Proof Manuscript	April 2023
9.	Bukti Publikasi Online Artikel	April 2023

Register pada Jurnal Dentino (20 September 2022)



Bukti konfirmasi submit artikel dan artikel yang disubmit (20 September 2022)



EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN ASAM JAWA (*Tamarindus indica* L.) TERHADAP *Porphyromonas gingivalis*

EFFECTIVENESS OF TAMARIND LEAVES (*Tamarindus indica* L.) ETHANOL EXTRACT ANTIBACTERIAL ON *Porphyromonas gingivalis*

Yemima Putri Wijaya Baiin¹⁾, Henry Y. Mandalas²⁾, Vinna Kurniawati Sugiaman^{3)*}

¹⁾Student of Faculty of Dentistry, Maranatha Christian University, Bandung, Indonesia

²⁾Department of Periodontics/ Faculty of Dentistry, Maranatha Christian University, Bandung, Indonesia

³⁾Department of Oral Biology/ Faculty of Dentistry, Maranatha Christian University, Bandung, Indonesia

ABSTRACT

Background: One of the initial measures to prevent chronic periodontitis is the use of mouthwash. Chlorhexidine is an antibacterial agent that can be used as a mouthwash. Chlorhexidine has side effects so that a new method is needed to prevent periodontitis with fewer side effects, namely by using plants as a medicine, one of the plants containing active compounds with antibacterial effects. The ethanol extract of tamarind leaves is proven to contain active compounds of flavonoids, tannins, alkaloids, and saponins. **Purpose:** The aim of the study was to analyze the antibacterial effect of ethanol extract of tamarind (*Tamarindus indica* L.) leaves against *Porphyromonas gingivalis* bacteria. **Method:** The research is an experimental laboratory type using the disc diffusion method (Kirby-Bauer), namely the paper disc diffusion method with the test material of ethanol extract of tamarind leaves (*Tamarindus indica* L.) in various concentrations, namely: 3.125%, 6.25%, 12.5 %, 25%, 50%, and 100%. **Results:** Based on the results of the research on the antibacterial effect of the ethanolic extract of tamarind leaves with concentrations of 3.125%, 6.25%, and 12.5% with an average diameter of 0.00 mm of inhibition zone. At concentrations of 25%, 50%, and 100%, they fall into the medium criteria group, because they have an average inhibition zone diameter of 5.21 mm, 7.45, and 9.16 mm, so that the concentration of 100% is closest to the average the mean diameter of the positive control group or chlorhexidine. **Conclusion:** It can be concluded that the ethanol extract of tamarind leaves (*Tamarindus indica* L.) has an antibacterial effect that can inhibit the growth of *Porphyromonas gingivalis* bacteria at a concentration of 100% with an average inhibition zone diameter of 9.16 mm.

Keywords: Tamarind leaves (*Tamarindus indica* L.), *Porphyromonas gingivalis*, antibacterial

ABSTRAK

Latar Belakang: Tindakan awal untuk mencegah timbulnya periodontitis kronis salah satunya adalah penggunaan obat kumur. Klorheksidin merupakan bahan antibakteri yang dapat digunakan sebagai obat kumur, namun memiliki efek samping sehingga diperlukan metode baru untuk mencegah periodontitis dengan efek samping lebih sedikit, yaitu dengan penggunaan tanaman sebagai obat karena mengandung komponen biologi aktif dengan efek antibakteri. Ekstrak etanol daun asam jawa terbukti mengandung senyawa aktif flavonoid, tanin, alkaloid, dan saponin. **Tujuan:** Mengetahui efek ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis* sebagai antibakteri. **Metode:** Penelitian berjenis eksperimental laboratorium dengan metode difusi cakram (*Kirby-Bauer*), yaitu metode difusi kertas cakram dengan bahan uji ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) dalam berbagai konsentrasi, yaitu: 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100%. **Hasil:** Berdasarkan hasil penelitian efek antibakteri ekstrak etanol daun asam jawa dengan konsentrasi 3,125%, 6,25%, dan 12,5% dengan rata-rata diameter zona hambat 0,00 mm. Pada konsentrasi 25%, 50%, dan 100%, masuk ke dalam golongan kriteria sedang, karena memiliki rata-rata diameter zona hambat 5,21 mm, 7,45, dan 9,16 mm, sehingga konsentrasi 100% paling mendekati rata-rata diameter kelompok kontrol positif atau klorheksidin. **Kesimpulan:** Dapat disimpulkan bahwa pada ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) terdapat efek antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada konsentrasi 100% disertai diameter zona hambat rata-rata sebesar 9,16 mm.

Kata kunci: Daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.), *Porphyromonas gingivalis*, antibakteri

*Corresponding:

Vinna Kurniawati Sugiawan

e-mail: vinnakurniawati@yahoo.co.id

Faculty of Dentistry, Maranatha Christian University, jalan Surya Sumantri No.65, Sukawarna, Kec. Sukajadi, Kota Bandung 40164, Jawa Barat, Indonesia;

PENDAHULUAN

Penyakit periodontal merupakan kondisi patologi yang menyebabkan inflamasi dan kerusakan pada jaringan pendukung, yaitu sementum, gingiva, ligamen periodontal, dan tulang alveolar.¹ Penyakit periodontal menjadi masalah kesehatan gigi masyarakat kedua setelah karies, dilaporkan prevalensi penyakit periodontal di Indonesia mencapai 74,1%.^{2,3} Laporan di atas cukup menggambarkan tingginya risiko masyarakat Indonesia mengalami penyakit periodontal.⁴ Berdasarkan *American Academy of Periodontology* (AAP) penyakit periodontal diklasifikasikan menjadi periodontitis kronis dan periodontitis agresif.^{4,5} Salah satu penyakit periodontal paling umum terjadi pada usia dewasa adalah periodontitis kronis.⁴

Periodontitis kronis adalah keadaan peradangan pada jaringan pendukung gigi yang terdiri dari gingiva, ligamen periodontal, tulang alveolar, dan sementum, hal ini disebabkan oleh bakteri tertentu yang mampu merusak jaringan pendukung gigi sehingga gigi mengalami kegoyangan, terbentuknya poket, dan hilangnya perlekatan gingiva.^{6,7} Bakteri yang sering terlibat sebagai penyebab timbulnya periodontitis kronis adalah *Porphyromonas gingivalis*.⁸ Penelitian

Putri dan Bachtiar (2020) menyatakan bahwa bakteri *Porphyromonas gingivalis* ditemukan sebanyak 85,75% pada plak subgingiva pasien periodontitis kronis dan dapat ditemukan kasus periodontitis kronis sekitar 40-100% disebabkan oleh bakteri ini.⁹

Bakteri *Porphyromonas gingivalis* mampu menyebabkan perubahan patologi pada jaringan pendukung gigi sehingga mampu menyebabkan inflamasi yang mempengaruhi sel-sel periodonsium secara langsung.¹⁰ *Porphyromonas gingivalis* adalah bakteri paling berperan sebagai penyebab terjadinya periodontitis, ciri utama dari bakteri ini adalah bakteri gram negatif, *non-motile*, berbentuk batang, *assacharolytic*, dan bersifat anaerob.⁹

Tujuan perawatan periodontitis kronis adalah untuk menghilangkan biofilm patologis dan menyembuhkan inflamasi. Perawatan kasus ini dapat dilakukan tindakan *scalling*, *root planning*, dan penggunaan antibiotik untuk menghambat pertumbuhan patogen periodontal. Tindakan awal untuk mencegah timbulnya periodontitis kronis salah satunya adalah penggunaan obat kumur.^{11,12} Klorheksidin dapat digunakan sebagai obat yang bersifat antibakteri. Namun, dapat menyebabkan beberapa efek

samping seperti menyebabkan resisten, apabila digunakan jangka panjang menyebabkan warna kuning sampai coklat, memiliki rasa yang pahit, serta dapat menyebabkan gangguan pada lidah atau kelenjar parotis.^{13,14} Berdasarkan efek samping klorheksidin di atas, diperlukan metode baru untuk mencegah periodontitis dengan efek samping yang lebih sedikit.

Penggunaan tanaman sebagai obat telah lama dikenal, salah satu tanaman yang memiliki daya antibakteri karena kandungan biologinya yaitu daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.).^{15,16} Ekstrak etanol daun asam jawa terbukti mengandung senyawa aktif flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin.^{16,17} Senyawa flavonoid dan alkaloid mampu menghambat protein sel bakteri sehingga mengendap dan terhentinya aktifitas metabolisme sel bakteri. Kemampuan senyawa tanin yang mampu menghambat pembentukan dinding sel dan enzim pada bakteri, serta senyawa saponin yang mampu merusak membran bakteri.¹⁶⁻¹⁸

Penelitian Kalirajan (2018) terhadap bakteri *Escherichia coli* membuktikan bahwa ekstrak etanol daun asam jawa memiliki efek antibakteri.¹⁸ Berdasarkan uraian di atas peneliti tertarik ingin mengetahui efektivitas antibakteri ekstrak etanol daun asam jawa dengan konsentrasi 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100% terhadap *Porphyromonas gingivalis* dengan pertimbangan perlakuan ke bakteri berbeda dengan penelitian sebelumnya.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode difusi kertas cakram dengan bahan uji ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) dalam berbagai konsentrasi, yaitu: 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100% , kontrol negatif dengan larutan DMSO dan kontrol positif larutan klorheksidin. Sampel penelitian ini adalah *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277.

Daun asam jawa diperoleh dari Kebun Percobaan Manoko, Lembang, kab. Bandung Barat, Bandung, yang kemudian dilakukan determinasi tanaman di Direktorat Pengelolaan Koleksi Ilmiah BRIN, Cibinong dengan nomor identifikasi tanaman B-1843/II.6.2/DI.05.07/6/2022. Uji fitokimia dilakukan di Laboratorium Sentral Universitas Padjadjaran Bandung dengan No Analisis S-392/LS-BA.36/2022.

Pembuatan ekstrak etanol daun asam jawa dilakukan dengan mencuci 8kg daun asam jawa, kemudian dikeringkan selama 2x24 jam dalam oven. Haluskan daun asam jawa yang sudah kering sehingga diperoleh simplisia. Masukkan simplisia ke dalam bejana maserasi, bersama dengan etanol 96% untuk dilakukan maserasi. Letakkan bejana maserasi di tempat gelap sehingga terlindung dari udara, cahaya, atau

kelembaban, saring simplisia. Simplisia cair yang sudah disaring, diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C, hingga diperoleh ekstrak kental selama 3 jam untuk mendapatkan ekstrak etanol daun asam jawa.¹⁹ Setelah menjadi ekstrak kental menjadi sebanyak 500 ml, ekstrak diencerkan menggunakan DMSO untuk memperoleh konsentrasi 0% sebagai kontrol negatif, 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100%.

Proses pembuatan media tumbuh *Porphyromonas gingivalis* adalah sebagai berikut:

Medium MHA dibuat dengan melarutkan 19 gram medium MHA dalam 500 mL ddH₂O, sedangkan medium MHB dibuat dengan melarutkan 10,5 gram medium MHB dalam 500 mL ddH₂O. Dididihkan medium menggunakan *microwave* dan homogeny dan disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dengan tekanan 1,5 atm selama 20 menit. Selanjutnya medium MHA dituangkan pada cawan petri untuk membuat lempeng agar.

Prosedur kerja agar *disk diffusion method* terdiri dari persiapan inokulum bakteri. Inokulasi koloni *Porphyromonas gingivalis* pada MHA ke dalam medium MHB. Menggunakan *vortex mixer* suspensi dihomogenisasi, selanjutnya kekeruhan larutan disesuaikan dengan kekeruhan McFarland 0,5 dengan tujuan memperoleh inokulum dengan rentang jumlah bakteri 1-2×10⁸ CFU/mL.

Agar Disk Diffusion dapat dilakukan dengan mencelupkan *cotton swab* steril ke dalam suspensi bakteri, lalu tekan *cotton swab* ke dinding agar suspensi tidak berlebih. Usapkan *cotton swab* secara merata ke permukaan MHA, diamkan 3-5 menit hingga suspensi terserap. Letakkan kertas cakram (6 mm) pada lempeng agar dan teteskan 20 µL ekstrak etanol daun asam jawa berbagai konsentrasi, kontrol negatif, dan kontrol positif dan diamkan sampai larutan terserap sepenuhnya. Setiap perlakuan dilakukan 4 kali pengulangan dan inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Diameter zona hambat diukur, yaitu zona yang tidak ditemukan adanya pertumbuhan atau terbentuknya bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada cakram disk dengan menggunakan jangka sorong. Menurut *Davis-Stout* kriteria kekuatan antibakteri, yaitu diameter zona hambat dibedakan menjadi beberapa kategori, yaitu Lemah (≤ 5 mm); Sedang (5-10 mm); Kuat (10-20 mm); dan sangat kuat (> 20 mm).²⁰

Data yang dinilai adalah diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* dalam satuan mm yang telah diberi perlakuan dengan ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) secara *in vitro*. Penelitian menggunakan metode difusi cakram *Kirby-Bauer* untuk menentukan diameter zona hambat. Uji normalitas dilakukan yang dilanjutkan dengan uji

homogenitas berdasarkan *Kruskal-Wallis test*. Kemudian dilakukan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan signifikan terhadap tingkat efektivitas antibakteri terhadap *Porphyromonas gingivalis*. Uji statistik dilakukan dengan menggunakan aplikasi IBM Statistics SPSS 22.

HASIL

Hasil uji skrining fitokimia daun asam jawa dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Asam Jawa

No	Metabolit Sekunder	Metode Uji	Hasil Uji
1	Tanin	Pereaksi FeCl ₃ 1%	+
2	Flavonoid	a. Pereaksi HCl pekat + Mg	-
		b. Pereaksi H ₂ SO ₄ 2N	-
		c. Pereaksi NaOH 10%	+
3	Saponin	Dipanaskan	-
4	Alkaloid	Pereaksi Dragendorff	+

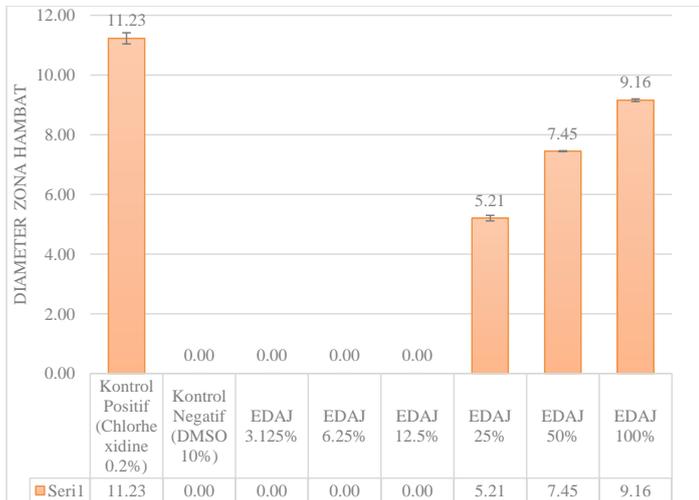
Keterangan:

- + : Terdeteksi
- : Tidak terdeteksi

Penelitian ini dilakukan pemberian ekstrak etanol daun asam jawa sebanyak 8 perlakuan pada bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Terdapat 6 konsentrasi ekstrak etanol daun asam jawa yang diberikan, yaitu: 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, 100%. Perlakuan selanjutnya adalah kontrol positif dengan larutan klorheksidin 0,2% dan kontrol negatif dengan akuades untuk mengamati efek antibakteri yang dihasilkan oleh ekstrak etanol daun asam jawa secara *in vitro*.

Tabel 2. Hasil pengukuran zona hambat ekstrak daun asam jawa terhadap *Porphyromonas gingivalis*

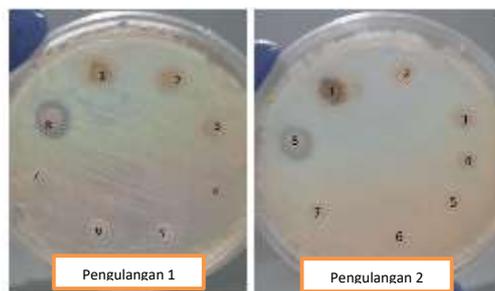
Perlakuan	Diameter Zona Hambat		Kategori Zona Hambat (David-Stout)
	Rata-rata (mean)	Simpangan Baku (stdev)	
Kontrol Positif (Klorheksidin 0,2%)	11.23	0.19	Kuat
Kontrol Negatif (DMSO 10%)	0.00	0.00	Lemah
Ekstrak Daun Asam Jawa 3,125%	0.00	0.00	Lemah
Ekstrak Daun Asam Jawa 6,25%	0.00	0.00	Lemah
Ekstrak Daun Asam Jawa 12,5%	0.00	0.00	Lemah
Ekstrak Daun Asam Jawa 25%	5.21	0.09	Sedang
Ekstrak Daun Asam Jawa 50%	7.45	0.02	Sedang
Ekstrak Daun Asam Jawa 100%	9.16	0.05	Sedang



Grafik 1. Diameter zona hambat ekstrak daun asam jawa terhadap *Porphyromonas gingivalis*

Berdasarkan Tabel 2 dan Grafik 1 penelitian ini menghasilkan rata-rata diameter zona hambat ekstrak daun asam jawa pada kelompok kontrol positif sebesar 11,23 mm, rata-rata zona hambat pada kelompok ekstrak daun asam jawa 100% sebesar 9,16 mm, kelompok ekstrak daun asam jawa 50% sebesar 7,45 mm, kelompok ekstrak daun asam jawa 25% sebesar 5,21 mm, kelompok ekstrak daun asam jawa 12,5% sebesar 0,00 mm, kelompok ekstrak daun asam jawa 6,25% sebesar 0,00 mm dan pada kelompok ekstrak daun asam jawa 3,125% sebesar 0,00 mm. Berdasarkan

hasil tersebut menunjukkan bahwa pada kelompok ekstrak daun asam jawa 100% paling mendekati rata-rata diameter kelompok kontrol positif atau klorheksidin. Berdasarkan Tabel 1 terdapat simpangan baku (*stdev*) atau ukuran penyimpangan data terhadap hasil rata-rata yang diperoleh, semakin kecil nilainya semakin baik tingkat ketelitian analisis data, semakin kecil simpangan baku (mendekati nilai 0) menunjukkan data semakin homogen, sedangkan semakin besar simpangan baku menunjukkan data heterogen.





Gambar 1. Pengamatan zona hambat ekstrak daun asam jawa terhadap *Porphyromonas gingivalis* (pengulangan 1, 2, 3, dan 4)

Keterangan label kertas cakram:

- (1) Ekstrak Daun Asam Jawa 100%;
- (2) Ekstrak Daun Asam Jawa 50%;
- (3) Ekstrak Daun Asam Jawa 25%;
- (4) Ekstrak Daun Asam Jawa 12.5%;
- (5) Ekstrak Daun Asam Jawa 6.25%;
- (6) Ekstrak Daun Asam Jawa 3.125%;
- (7) Kontrol Negatif (DMSO 10%);
- (8) Kontrol Positif (Klorheksidin 0.2%).

Penelitian ini melakukan uji normalitas sebelum menganalisis perbandingan tiap kelompok. Uji normalitas bertujuan untuk menentukan data yang diperoleh untuk analisis perbandingan tersebut berdistribusi normal atau tidak. Data dikatakan berdistribusi normal jika nilai signifikansi $\geq 0,05$. Uji normalitas menggunakan Shapiro-Wilk test, yaitu metode yang dapat digunakan untuk data dengan jumlah sampel di bawah 50. Berdasarkan hasil dari uji normalitas pada konsentrasi 25%, 50%, dan 100% memiliki nilai signifikansi $\geq 0,05$, namun pada konsentrasi 3,125%, 6,25%, dan 12,5% didapatkan nilai 0,000, artinya data tidak berdistribusi normal atau signifikansi $\leq 0,05$. Karena terdapat data tidak berdistribusi normal, maka tidak dapat dilanjutkan uji One-Way ANOVA, mengingat syarat uji One-Way ANOVA adalah data harus berdistribusi normal.

Tabel 3. Hasil uji perbandingan *Kruskall-Wallis*

<i>Test Statistics^{a,b}</i>	
	Konsentrasi
<i>Chi-Square</i>	30,740
<i>df</i>	7
<i>Asymp. Sig.</i>	0,000

a. *Kruskall-Wallis Test*

b. *Grouping Variabel* : Zona hambat

Uji homogenitas adalah uji yang digunakan untuk mengetahui data yang digunakan homogen atau tidak. Data yang tidak berdistribusi normal akan dianalisis dengan statistik non-parametrik, yaitu *Kruskall-Wallis test*. *Kruskall-Wallis test* adalah alternatif yang dapat digunakan jika uji *One-Way ANOVA* tidak berdistribusi normal atau tidak homogen. Berdasarkan Tabel 2 *Kruskall-Wallis test* menghasilkan nilai 0,000 atau signifikansi $\leq 0,05$ sehingga didapat H_1 diterima dan H_0 ditolak.

Penelitian ini melakukan uji *Post Hoc Non-Parametric Mann Whitney* untuk mengetahui perbandingan kelompok sampel, uji *Post Hoc Non-Parametric Mann Whitney* dapat digunakan jika data tidak memenuhi asumsi kenormalan. Berdasarkan hasil uji *Post Hoc Non-Parametric Mann Whitney* menghasilkan nilai signifikansi $\leq 0,05$ yang menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan, berarti H_1 diterima, sehingga dapat disimpulkan dari setiap kelompok konsentrasi yang diuji terdapat perbedaan bermakna, karena nilainya $\leq 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa antar kelompok konsentrasi ekstrak etanol daun asam jawa memiliki efektivitas berbeda signifikan, yaitu semakin tinggi konsentrasi, maka semakin tinggi daya hambat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*.

PEMBAHASAN

Kriteria yang digunakan untuk menggolongkan zona hambat kontrol dan bahan sampel pada penelitian ini adalah menurut *Davis-Stout*. Berdasarkan *Davis-Stout*, zona hambat dengan kategori lemah memiliki ukuran diameter 5 mm atau kurang, kategori sedang memiliki diameter zona hambat 5-10 mm, kategori kuat dengan memiliki diameter zona hambat 10-20 mm, kategori sangat kuat memiliki diameter zona hambat ukuran 20 mm atau lebih.²⁰ Hasil penelitian menyatakan bahwa kelompok kontrol negatif, dan ekstrak etanol daun asam jawa pada konsentrasi 3,125%, 6,25%, 12,5% tergolong dalam kategori lemah, sedangkan pada kelompok kontrol positif tergolong dalam kategori kuat, dan ekstrak etanol daun asam jawa pada konsentrasi 25%, 50%, 100% tergolong dalam kategori sedang.

Penelitian Kalirajan (2018) melaporkan ekstrak etanol daun asam jawa terbukti memiliki efek antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*.¹⁸ Penelitian Norkholisoh (2018) menyatakan ekstrak etanol daun asam jawa mengandung senyawa aktif saponin, tanin, flavonoid, dan alkaloid, namun pada hasil uji skrining fitokimia pada sampel ekstrak etanol daun asam jawa yang digunakan untuk penelitian ini, sampel mengandung senyawa aktif tanin, flavonoid, dan alkaloid, dan tidak terdeteksi adanya saponin.¹⁷ Kandungan senyawa aktif saponin tidak terdeteksi karena adanya proses pengeringan daun sebelum dibuat menjadi ekstrak, senyawa aktif saponin rentan terhadap suhu tinggi, sehingga senyawa aktif tersebut dapat mengalami kerusakan bila dipanaskan dengan suhu sangat tinggi, kandungan senyawa aktif saponin tidak terdeteksi juga dapat terjadi karena dilakukannya proses

ekstraksi yang terlalu cepat sehingga mengakibatkan senyawa aktif saponin dari daun asam jawa tidak terekstrak dengan baik.²¹

Mekanisme kerja senyawa aktif tanin sebagai agen antibakteri terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis*, yaitu dengan menghambat produksi enzim pada lapisan dalam sel karena senyawa aktif tanin memiliki target pada polipeptida dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan terganggunya proses pembentukan dinding sel bakteri. Hal ini menyebabkan tidak terbentuknya dinding sel bakteri secara sempurna. Pembentukan dinding sel yang tidak sempurna mengakibatkan terjadinya kebocoran sel bakteri dan mempermudah masuknya senyawa antibakteri, senyawa antibakteri akan merusak aktivitas enzim dengan menghambat produksi enzim dalam sel yang menyebabkan terjadinya kematian bakteri.²²⁻²⁴

Mekanisme kerja senyawa aktif flavonoid sebagai agen antibakteri, yaitu dengan merusak permeabilitas dinding bakteri, mikrosom, serta lisosom dari *Porphyromonas gingivalis*, hal ini terjadi karena senyawa aktif flavonoid mampu menghambat metabolisme bakteri dengan cara mendenaturasi protein dan merusak membran sel, kerusakan membran sel akan mengganggu proses pembentukan energi dengan menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri dan mengakibatkan metabolisme energi bakteri terhenti dan bakteri lisis.^{22,23,25,26}

Mekanisme kerja senyawa aktif alkaloid sebagai agen antibakteri terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis*, yaitu dengan menghambat pembentukan dinding sel bakteri sehingga menyebabkan terjadinya perubahan permeabilitas membran sel yang akan mempermudah masuknya senyawa antibakteri ke dalam sel dan keluarnya substansi sel seperti asam nukleat dan protein sel bakteri hingga menyebabkan kematian sel bakteri tersebut.^{22,24,27}

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun asam jawa mampu menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Porphyromonas gingivalis* pada konsentrasi 25%, 50%, dan 100%.

DAFTAR PUSTAKA

1. Duwisda B, Rusminah N, Susanto A. Perbandingan efektifitas pasta gigi yang mengandung sodium bikarbonat dan sodium monofluorofosfat terhadap plak dan gingivitis. *J Kedokt Gigi Univ Padjadjaran*. 2016;28(3):160–5.
2. Harapan IK, Ali A, Fione VR. Gambaran penyakit periodontal berdasarkan umur dan jenis kelamin pada pengunjung poliklinik gigi puskesmas tikala baru kota manado tahun 2017. *JIGIM (Jurnal Ilm Gigi dan Mulut)*. 2020;3(1):20–6.
3. Indonesia KKR. Laporan nasional riset kesehatan dasar 2018. *Kementeri Kesehat RI*. 2018;1(1):204.
4. Rahmania R, Epsilawati L, Rusminah N. Densitas tulang alveolar pada penderita periodontitis kronis dan periodontitis agresif melalui radiografi. *J Radiol Dentomaksilofasial Indones*. 2019;3(2):7.
5. Nazir M, Al-Ansari A, Al-Khalifa K, Alhareky M, Gaffar B, Almas K. Global Prevalence of periodontal disease and lack of its surveillance. *Sci World J*. 2020;2020(1):1–8.
6. Reddy S. *Essentials of clinical periodontology and periodontics*. 3rd ed. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers (P) Ltd; 2018; 2011: 39.
7. Amin MN, Permatasari N. Aspek biologis pergerakan gigi secara ortodonsi. *Stomatognatic*. 2016;3(1):22–7.
8. Tamara A, Oktiani BW, Taufiqurrahman I. Pengaruh Ekstrak flavonoid propolis kelulut (*G.thoracica*) terhadap jumlah sel neutrofil pada periodontitis (Studi in vivo pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan. *J Kedokt Gigi*. 2019;3(1):10–6.
9. Putri CF, Bachtiar EW. *Porphyromonas gingivalis* dan patogenesis disfungsi kognitif: analisis peran sitokin neuroinflamasi (tinjauan pustaka). *Cakradonya Dent J*. 2020;12(1):15–23.
10. Wedarti YR, Loekito LI, Pangabdian F, Andriani D. Potensi kitosan kepiting rajungan (*Portunus pelagicus*) dalam penghambatan pembentukan biofilm *Porphyromonas gingivalis* dan pertumbuhan *Candida albicans*.

Padjadjaran J Dent Res Students. 2020;4(2):121.

11. Walters J, Lai P-C. Should antibiotics be prescribed to treat chronic periodontitis? *Dent Clin North Am*. 2015;59(4):139–48.
12. Sinaredi BR, Pradopo S, Wibowo TB. Daya antibakteri obat kumur chlorhexidine, povidone iodine, fluoride suplementasi zinc terhadap *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis*. *Dent J*. 2014;47(4):211.
13. Parwani SR, Parwani RN, Chitnis PJ, Dadlani HP, Sai Prasad S V. Comparative evaluation of anti-plaque efficacy of herbal and 0.2% chlorhexidine gluconate mouthwash in a 4-day plaque re-growth study. *J Indian Soc Periodontol*. 2013;17(1):72–7.
14. Hernawati S. Daya hambat obat kumur ekstrak buah delima (*Punica granatum L.*) terhadap jumlah koloni bakteri rongga mulut. Sukorejo, Ponorogo: *Forum Ilmiah Kesehatan (FORIKES)*; 2019. 55–9 p.
15. Faradiba A, Gunadi A, Praharani D. Daya antibakteri infusa daun asam jawa (*Tamarindus indica L.*) terhadap *Streptococcus mutans*. *Pustaka Kesehatan*. 2016;4(1):55–60. Available from: <http://jurnal.unej.ac.id/index.php/JPK/article/view/2496>
16. Mun A, Hanani E. Karakterisasi ekstrak etanolik daun asam jawa (*Tamarindus indica L.*). *Pharm Sci Res*. 2009;6(1):38–44.
17. Norkholisoh S, Sari EP, Hamidi F. Uji efektivitas antimikroba ekstrak daun asam jawa (*Tamarindus indica L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. *STIKES Insa Cendekia Med Repos*. 2018;1(1):1–5.
18. Inbadarshini Kalirajan. Uji efek antimikroba ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica*) terhadap *Escherichia coli* secara in vitro. 2018. Fakultas Kedokteran. Universitas Brawijaya.
19. Alexander B, Procop G, Dufresne P, Fuller J, Ghannoum M, Hanson K, et al. *Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts*. 4th ed. Clinical, And Laboratory Standards Institute. 2017. 7–13 p.
20. R R, Sudarwanto M, Wientarsih I. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kari (*Murraya koenigii*) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas sp.* *J Kedokt Hewan - Indones J Vet Sci*. 2015;9(2):185–8.
21. Puspitasari D. Pengaruh metode perebusan terhadap uji fitokimia daun *Mangrove Excoecaria agallocha*. *Acta Aquat Aquat Sci J*. 2018;3(2):423–8.
22. Rijayanti RP. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun mangga bacang (*Mangifera foetida L.*) terhadap *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *J Mhs PSPD FK Univ Tanjungpura*. 2014;1(1):1–18. Available from: <http://juka.kedokteran.unila.ac.id/index.php/majority/article/view/994>
23. Amalia A, Sari I, Nursanty R. Aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun sembung (*Blumea balsamifera (L.) DC.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)*. *J UIN Ar-Raniry*. 2017;5(1):387–91.
24. Asriani, Laksmi BS, Yasni S, Sudirman I. Mekanisme antibakteri metabolit *Lb. plantarum kik* dan monoasilgliserol minyak kelapa terhadap bakteri patogen pangan. *J Teknol dan Ind Pangan*. 2007;18(2):126–32.
25. Nomer NMGR, Duniaji AS, Nociantri KA. Kandungan senyawa flavonoid dan antosianin ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*) serta aktivitas antibakteri terhadap *Vibrio cholerae*. *J Ilmu dan Teknol Pangan*. 2019;8(2):216-25.
26. Sapara TU, Waworuntu O. Efektifitas antibakteri ekstrak daun pacar air (*Impatiens balsamina L.*) terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. *Pharmacol J Ilm Farm*. 2016;5(4):10–7.
27. Yan Y, Li X, Zhang C, Lv L, Gao B, Li M. Research progress on antibacterial activities and mechanisms of natural alkaloids: A review. *Antibiotics*. 2021;10(3):1–30.

Bukti melakukan review yang pertama (09 Februari 2023)



Bukti konfirmasi submit revisi pertama yang telah direvisi (19 Maret 2023)



EFFECTIVENESS OF TAMARIND LEAVES (*Tamarindus indica* L.) ETHANOL EXTRACT ANTIBACTERIAL ON *Porphyromonas gingivalis*

Dikomentari [u1]: Hasil revisi tolong di stabilo

Yemima Putri Wijaya Baiin¹⁾, Henry Y. Mandalas²⁾, Vinna Kurniawati Sugiaman³⁾*

¹⁾Student of Faculty of Dentistry, Maranatha Christian University, Bandung, Indonesia

²⁾Department of Periodontics/ Faculty of Dentistry, Maranatha Christian University, Bandung, Indonesia

³⁾Department of Oral Biology/ Faculty of Dentistry, Maranatha Christian University, Bandung, Indonesia

ABSTRACT

Background: One of the initial measures to prevent chronic periodontitis is the use of mouthwash. Chlorhexidine is an antibacterial agent that can be used as a mouthwash. Chlorhexidine has side effects so that a new method is needed to prevent periodontitis with fewer side effects, namely by using plants as a medicine, one of the plants containing active compounds with antibacterial effects. The ethanol extract of tamarind leaves is proven to contain active compounds of flavonoids, tannins, alkaloids, and saponins. **Purpose:** The aim of the study was to analyze the antibacterial effect of ethanol extract of tamarind (*Tamarindus indica* L.) leaves against *Porphyromonas gingivalis* bacteria. **Method:** The research is an experimental laboratory type using the disc diffusion method (Kirby-Bauer), namely the paper disc diffusion method with the test material of ethanol extract of tamarind leaves (*Tamarindus*

indica L.) in various concentrations, namely: 3.125%, 6.25%, 12.5 %, 25%, 50%, and 100%. **Results:** Based on the results of the research on the antibacterial effect of the ethanolic extract of tamarind leaves with concentrations of 3.125%, 6.25%, and 12.5% with an average diameter of 0.00 mm of inhibition zone. At concentrations of 25%, 50%, and 100%, they fall into the medium criteria group, because they have an average inhibition zone diameter of 5.21 mm, 7.45, and 9.16 mm, so that the concentration of 100% is closest to the average the mean diameter of the positive control group or chlorhexidine. **Conclusion:** It can be concluded that the ethanol extract of tamarind leaves (*Tamarindus indica* L.) has an antibacterial effect that can inhibit the growth of *Porphyromonas gingivalis* bacteria at a concentration of 100% with an average inhibition zone diameter of 9.16 mm.

Keywords: Antibacterial, *Porphyromonas gingivalis*, Tamarind leaves (*Tamarindus indica* L.)

Correspondence author : Vinna Kurniawati Sugiawan, Faculty of Dentistry, Maranatha Christian University, jalan Surya Sumantri No.65, Sukawarna, Kec. Sukajadi, Kota Bandung 40164, Jawa Barat, Indonesia, e-mail: vinnakurniawati@yahoo.co.id

PENDAHULUAN

Penyakit periodontal merupakan kondisi patologi yang menyebabkan inflamasi dan kerusakan pada jaringan pendukung, yaitu sementum, gingiva, ligamen periodontal, dan tulang alveolar.¹ Penyakit periodontal menjadi masalah kesehatan gigi masyarakat kedua setelah karies, dilaporkan prevalensi penyakit periodontal di Indonesia mencapai 74,1%.^{2,3} Laporan di atas cukup menggambarkan tingginya risiko masyarakat Indonesia mengalami penyakit periodontal.⁴ Berdasarkan *American Academy of Periodontology* (AAP) penyakit periodontal diklasifikasikan menjadi periodontitis kronis dan periodontitis agresif.^{4,5} Salah satu penyakit periodontal paling umum terjadi pada usia dewasa adalah periodontitis kronis.⁴

Periodontitis kronis adalah keadaan peradangan pada jaringan pendukung gigi yang terdiri dari gingiva, ligamen periodontal, tulang alveolar, dan sementum. Penyakit ini disebabkan oleh bakteri tertentu yang mampu merusak jaringan pendukung gigi sehingga gigi mengalami kegoyangan, terbentuknya poket, dan hilangnya perlekatan gingiva.^{6,7} Bakteri yang sering terlibat sebagai penyebab timbulnya periodontitis kronis adalah *Porphyromonas gingivalis*.⁸ Penelitian Putri dan Bachtiar (2020) menyatakan bahwa bakteri *Porphyromonas gingivalis* ditemukan sebanyak 85,75% pada plak subgingiva pasien periodontitis kronis dan dapat ditemukan kasus periodontitis kronis sekitar 40-100% disebabkan oleh bakteri ini.⁹

Bakteri *Porphyromonas gingivalis* mampu menyebabkan perubahan patologi pada jaringan pendukung gigi sehingga mampu menyebabkan inflamasi yang mempengaruhi sel-sel periodonsium secara langsung.¹⁰ *Porphyromonas gingivalis* adalah bakteri paling berperan sebagai penyebab terjadinya periodontitis, ciri utama dari bakteri ini adalah bakteri gram negatif, *non-motile*, berbentuk batang, *assacharolytic*, dan bersifat anaerob.⁹

Tujuan perawatan periodontitis kronis adalah untuk menghilangkan biofilm patologis dan menyembuhkan inflamasi. Perawatan kasus ini dapat dilakukan tindakan *scalling*, *root planning*, dan penggunaan antibiotik untuk menghambat pertumbuhan patogen periodontal. Tindakan awal untuk mencegah terjadinya periodontitis kronis salah satunya adalah dengan menggunakan obat kumur.^{11,12} Dibidang kedokteran gigi, klorheksidin banyak digunakan sebagai obat kumur antibakteri karena merupakan gold standard yang efektif dalam menurunkan pertumbuhan bakteri di rongga mulut.¹³ Namun, dapat menyebabkan beberapa efek samping seperti menyebabkan resisten, apabila digunakan jangka panjang menyebabkan warna kuning sampai coklat, memiliki rasa yang pahit, serta dapat menyebabkan gangguan pada lidah atau kelenjar parotis.^{14,15} Berdasarkan efek samping klorheksidin di atas, diperlukan metode baru untuk mencegah periodontitis dengan efek samping yang lebih sedikit, yaitu menggunakan tanaman herbal.¹⁶

Penggunaan tanaman sebagai obat telah lama dikenal, salah satu tanaman yang memiliki daya antibakteri karena kandungan biologi aktifnya yaitu daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.).¹⁷⁻¹⁹ Penelitian sebelumnya juga melaporkan bahwa ekstrak etanol daun asam jawa terbukti memiliki efek antibakteri terhadap beberapa jenis bakteri.²⁰ Ekstrak etanol daun asam jawa terbukti mengandung senyawa aktif flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin.^{18,19} Senyawa flavonoid dan alkaloid mampu menghambat protein sel bakteri sehingga mengendap dan terhentinya aktifitas metabolisme sel bakteri. Kemampuan senyawa tanin yang mampu menghambat pembentukan dinding sel dan enzim pada bakteri, serta senyawa saponin yang mampu merusak membran bakteri.¹⁸⁻²⁰

Penelitian Kalirajan (2018) terhadap bakteri *Escherichia coli* membuktikan bahwa ekstrak etanol

daun asam jawa memiliki efek antibakteri.¹⁹ Berdasarkan uraian di atas peneliti tertarik ingin mengetahui efektivitas antibakteri ekstrak etanol daun asam jawa dengan konsentrasi 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100% terhadap *Porphyromonas gingivalis*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode difusi kertas cakram dengan bahan uji ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) dalam berbagai konsentrasi, yaitu: 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100%, kontrol negatif dengan larutan DMSO karena tidak memiliki aktivitas antibakteri dan kontrol positif larutan klorheksidin. Sampel penelitian ini adalah *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277.

Daun asam jawa diperoleh dari Kebun Percobaan Manoko, Lembang, kab. Bandung Barat, Bandung, yang kemudian dilakukan determinasi tanaman di Direktorat Pengelolaan Koleksi Ilmiah BRIN, Cibinong dengan nomor identifikasi tanaman B-1843/Il.6.2/DI.05.07/6/2022. Uji fitokimia dilakukan di Laboratorium Sentral Universitas Padjadjaran Bandung dengan No Analisis S-392/LS-BA.36/2022.

Pembuatan ekstrak etanol daun asam jawa dilakukan dengan mencuci 8kg daun asam jawa, kemudian dikeringkan selama 2x24 jam dalam oven. Haluskan daun asam jawa yang sudah kering sehingga diperoleh simplisia. Masukkan simplisia ke dalam bejana maserasi, bersama dengan etanol 96% untuk dilakukan maserasi. Letakkan bejana maserasi di tempat gelap sehingga terlindung dari udara, cahaya, atau kelembaban, saring simplisia. Simplisia cair yang sudah disaring, diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C, hingga diperoleh ekstrak kental selama 3 jam untuk mendapatkan ekstrak etanol daun asam jawa.²¹ Setelah menjadi ekstrak kental menjadi sebanyak 500 ml, ekstrak diencerkan menggunakan DMSO untuk memperoleh konsentrasi 0% sebagai kontrol negatif, 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100%.

Pengenceran stok Ekstrak Daun Asam Jawa (EDAJ) dilakukan dengan menggunakan DMSO 10% untuk membuat seri konsentrasi. Seri konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah sebagai berikut:

EDAJ 100% : Larutan stok (1 mg ekstrak + 1 mL DMSO 100%)
EDAJ 50% : 500 µL larutan stok + 500 µL DMSO 10% (Larutan A)
EDAJ 25% : 500 µL larutan A + 500 µL DMSO 10% (Larutan B)
EDAJ 12.5% : 500 µL larutan B + 500 µL DMSO 10% (Larutan C)

EDAJ 6.25% : 500 µL larutan C + 500 µL DMSO 10% (Larutan D)

EDAJ 3.125% : 500 µL larutan D + 500 µL DMSO 10%

Pembuatan Media Tumbuh *Porphyromonas gingivalis*

Proses pembuatan media tumbuh *Porphyromonas gingivalis* adalah sebagai berikut:

Medium MHA dibuat dengan melarutkan 19 gram medium MHA dalam 500 mL ddH₂O, sedangkan medium MHB dibuat dengan melarutkan 10,5 gram medium MHB dalam 500 mL ddH₂O. Dididihkan medium menggunakan *microwave* dan homogeny dan disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dengan tekanan 1,5 atm selama 20 menit. Selanjutnya medium MHA dituangkan pada cawan petri untuk membuat lempeng agar.

Prosedur kerja agar *disk diffusion method* terdiri dari persiapan inokulum bakteri. Inokulasi koloni *Porphyromonas gingivalis* pada MHA ke dalam medium MHB. Menggunakan *vortex mixer* suspensi dihomogenisasi, selanjutnya kekeruhan larutan disesuaikan dengan kekeruhan McFarland 0,5 dengan tujuan memperoleh inokulum dengan rentang jumlah bakteri 1-2×10⁸ CFU/mL.

Agar Disk Diffusion dapat dilakukan dengan mencelupkan *cotton swab* steril ke dalam suspensi bakteri, lalu tekan *cotton swab* ke dinding agar suspensi tidak berlebih. Usapkan *cotton swab* secara merata ke permukaan MHA, diamkan 3-5 menit hingga suspensi terserap. Letakkan kertas cakram (6 mm) pada lempeng agar dan teteskan 20 µL ekstrak etanol daun asam jawa berbagai konsentrasi, kontrol negatif, dan kontrol positif dan diamkan sampai larutan terserap sepenuhnya. Setiap perlakuan dilakukan 4 kali pengulangan dan inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Diameter zona hambat diukur, yaitu zona yang tidak ditemukan adanya pertumbuhan atau terbentuknya bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada cakram disk dengan menggunakan jangka sorong. Menurut *Davis-Stout* kriteria kekuatan antibakteri, yaitu diameter zona hambat dibedakan menjadi beberapa kategori, yaitu Lemah (≤ 5 mm); Sedang (5-10 mm); Kuat (10-20 mm); dan sangat kuat (> 20 mm).²²

Data yang dinilai adalah diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* dalam satuan mm yang telah diberi perlakuan dengan ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) secara *in vitro*. Penelitian menggunakan metode difusi cakram *Kirby-Bauer* untuk menentukan diameter zona hambat. Uji normalitas dilakukan yang dilanjutkan dengan uji homogenitas berdasarkan *Kruskal-Wallis test*. Kemudian dilakukan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan signifikan terhadap tingkat

efektivitas antibakteri terhadap *Porphyromonas gingivalis*. Uji statistik dilakukan dengan menggunakan aplikasi IBM Statistics SPSS 22.

HASIL

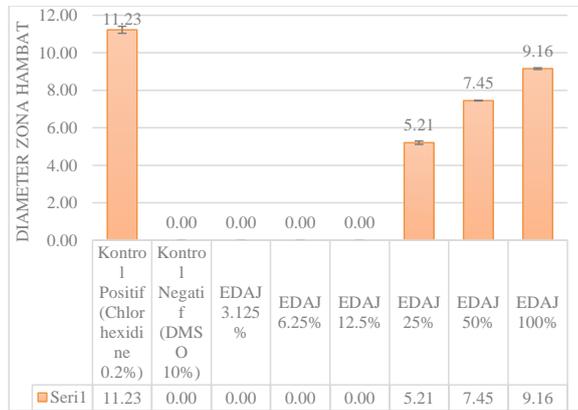
Hasil uji skrining fitokimia daun asam jawa dapat dilihat pada Tabel 1.

Penelitian ini dilakukan pemberian ekstrak etanol daun asam jawa sebanyak 8 perlakuan pada bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Terdapat 6 konsentrasi ekstrak etanol daun asam jawa yang diberikan, yaitu: 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, 100%. Perlakuan selanjutnya adalah kontrol positif dengan larutan klorheksidin 0,2% dan kontrol negatif dengan akuades untuk mengamati efek antibakteri yang dihasilkan oleh ekstrak etanol daun asam jawa secara *in vitro*.

Tabel 1. Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Asam Jawa

No	Metabolit Sekunder	Metode Uji	Hasil Uji
1	Tanin	Pereaksi FeCl ₃ 1%	+
2	Flavonoid	d. Pereaksi HCl pekat + Mg	-
		e. Pereaksi H ₂ SO ₄ 2N	-
		f. Pereaksi NaOH 10%	+
3	Saponin	Dipanaskan	-
4	Alkaloid	Pereaksi Dragendorff	+

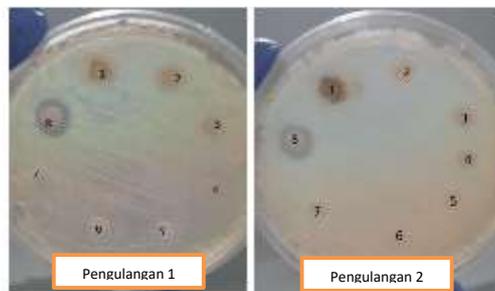
Keterangan:



Grafik 1. Diameter zona hambat ekstrak daun asam jawa terhadap *Porphyromonas gingivalis*

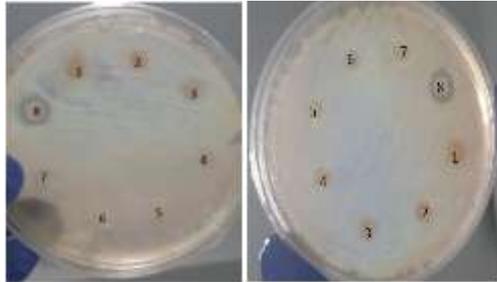
Berdasarkan Tabel 2 dan Grafik 1 penelitian ini menghasilkan rata-rata diameter zona hambat ekstrak daun asam jawa pada kelompok kontrol positif sebesar 11,23 mm, rata-rata zona hambat pada kelompok ekstrak daun asam jawa 100% sebesar 9,16 mm, kelompok ekstrak daun asam jawa 50% sebesar 7,45 mm, kelompok ekstrak daun asam jawa 25% sebesar 5,21 mm, kelompok ekstrak daun asam jawa 12,5% sebesar 0,00 mm, kelompok ekstrak daun asam jawa 6,25% sebesar 0,00 mm dan pada kelompok ekstrak daun asam jawa 3,125% sebesar 0,00 mm. Berdasarkan

hasil tersebut menunjukkan bahwa pada kelompok ekstrak daun asam jawa 100% paling mendekati rata-rata diameter kelompok kontrol positif atau klorheksidin. Berdasarkan Tabel 1 terdapat simpangan baku (*stdev*) atau ukuran penyimpangan data terhadap hasil rata-rata yang diperoleh, semakin kecil nilainya semakin baik tingkat ketelitian analisis data, semakin kecil simpangan baku (mendekati nilai 0) menunjukkan data semakin homogen, sedangkan semakin besar simpangan baku menunjukkan data heterogen.



Pengulangan 3

Pengulangan 4



Gambar 1. Pengamatan zona hambat ekstrak daun asam jawa terhadap *Porphyromonas gingivalis* (pengulangan 1, 2, 3, dan 4)
Keterangan: (1) Ekstrak Daun Asam Jawa 100%; (2) Ekstrak Daun Asam Jawa 50%; (3) Ekstrak Daun Asam Jawa 25%; (4) Ekstrak Daun Asam Jawa 12.5%; (5) Ekstrak Daun Asam Jawa 6.25%; (6) Ekstrak Daun Asam Jawa 3.125%; (7) Kontrol Negatif (DMSO 10%); (8) Kontrol Positif (Klorheksidin 0.2%).

Penelitian ini melakukan uji normalitas sebelum menganalisis perbandingan tiap kelompok. Uji normalitas bertujuan untuk menentukan data yang diperoleh untuk analisis perbandingan tersebut berdistribusi normal atau tidak. Data dikatakan berdistribusi normal jika nilai signifikansi $\geq 0,05$. Uji normalitas menggunakan Shapiro-Wilk test, yaitu metode yang dapat digunakan untuk data dengan jumlah sampel di bawah 50. Berdasarkan hasil dari uji normalitas pada konsentrasi 25%, 50%, dan 100% memiliki nilai signifikansi $\geq 0,05$, namun pada konsentrasi 3,125%, 6,25%, dan 12,5% didapatkan nilai 0,000, artinya data tidak berdistribusi normal atau signifikansi $\leq 0,05$. Karena terdapat data tidak berdistribusi normal, maka tidak dapat dilanjutkan uji One-Way ANOVA, mengingat syarat uji One-Way ANOVA adalah data harus berdistribusi normal.

Tabel 2. Hasil uji perbandingan *Kruskall-Wallis*

<i>Test Statistics^{a,b}</i>	
	Konsentrasi
<i>Chi-Square</i>	30,740
<i>df</i>	7
<i>Asymp. Sig.</i>	0,000

a. *Kruskall-Wallis Test*

b. *Grouping Variabel* : Zona hambat

Uji homogenitas adalah uji yang digunakan untuk mengetahui data yang digunakan homogen atau tidak. Data yang tidak berdistribusi normal akan dianalisis dengan statistik non-parametrik, yaitu *Kruskall-Wallis test*. *Kruskall-Wallis test* adalah alternatif yang dapat digunakan jika uji *One-Way ANOVA* tidak berdistribusi normal atau tidak homogen. Berdasarkan Tabel 2 *Kruskall-Wallis test* menghasilkan nilai 0,000 atau signifikansi $\leq 0,05$ sehingga didapat H_1 diterima dan H_0 ditolak.

Penelitian ini melakukan uji *Post Hoc Non-Parametric Mann Whitney* untuk mengetahui perbandingan kelompok sampel, uji *Post Hoc Non-Parametric Mann Whitney* dapat digunakan jika data tidak memenuhi asumsi kenormalan. Berdasarkan hasil uji *Post Hoc Non-Parametric Mann Whitney* menghasilkan nilai signifikansi $\leq 0,05$ yang menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan, berarti H_1 diterima, sehingga dapat disimpulkan dari setiap kelompok konsentrasi yang diuji terdapat perbedaan bermakna, karena nilainya $\leq 0,05$.

Tabel 3. Hasil Uji *Post Hoc Non-Parametric Mann Whitney*

Perbedaan	KP	KC	EDA1 3,125%	EDA2 6,25%	EDA3 12,5%	EDA4 25%	EDA5 50%	EDA6 100%
KP		0,012*	0,002*	0,014*	0,014*	0,012*	0,012*	0,012*
KC			118	118	118	0,012*	0,012*	0,012*
EDA1 3,125%				118	118	0,014*	0,014*	0,014*
EDA2 6,25%					118	0,014*	0,014*	0,014*
EDA3 12,5%						0,014*	0,014*	0,014*
EDA4 25%							0,014*	0,014*
EDA5 50%								0,014*
EDA6 100%								

KP : Kontrol
 KC : Total
 Densitas

Hal ini menunjukkan bahwa antar kelompok konsentrasi ekstrak etanol daun asam jawa memiliki efektivitas berbeda signifikan, yaitu semakin tinggi konsentrasi, maka semakin tinggi daya hambat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*.

PEMBAHASAN

Kriteria yang digunakan untuk menggolongkan zona hambat kontrol dan bahan sampel pada penelitian ini adalah menurut *Davis-Stout*. Berdasarkan *Davis-Stout*, zona hambat dengan kategori lemah memiliki ukuran diameter 5 mm atau kurang, kategori sedang memiliki diameter zona hambat 5-10 mm, kategori kuat dengan memiliki diameter zona hambat 10-20 mm, kategori sangat kuat memiliki diameter zona hambat ukuran 20 mm atau lebih.²¹ Hasil penelitian menyatakan bahwa kelompok kontrol negatif, dan ekstrak etanol daun asam jawa pada konsentrasi 3,125%, 6,25%, 12,5% tergolong dalam kategori lemah, sedangkan pada kelompok kontrol positif tergolong dalam kategori kuat, dan ekstrak etanol daun asam jawa pada konsentrasi 25%, 50%, 100% tergolong dalam kategori sedang.

Pada penelitian ini dilakukan uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk test* dan diperoleh hasil pada konsentrasi 25%, 50%, dan 100% memiliki nilai signifikansi $\geq 0,05$ yang berarti data berdistribusi normal, namun pada konsentrasi 3,125%, 6,25%, dan 12,5% didapatkan nilai 0,000 artinya data tidak berdistribusi normal atau signifikansi $\leq 0,05$. Selanjutnya data akan dianalisis dengan statistik non-parametrik yaitu *Kruskal-Wallis test* dan menghasilkan nilai 0,000 atau signifikansi $\leq 0,05$.

Data selanjutnya diuji *Post Hoc* dengan *Non-Parametric Mann Whitney* dan dihasilkan nilai signifikansi $\leq 0,05$ maka terdapat perbedaan bermakna antara dua kelompok, sehingga dapat disimpulkan dari setiap kelompok konsentrasi yang diuji terdapat perbedaan bermakna karena nilainya $\leq 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa antar kelompok konsentrasi ekstrak etanol daun asam jawa memiliki efektifitas yang berbeda signifikan yaitu semakin tinggi konsentrasi, maka semakin tinggi daya hambat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*.

Sesuai dengan penelitian yang dilakukan Norkholisoh (2018) menyatakan ekstrak etanol daun asam jawa mengandung senyawa aktif saponin, tanin, flavonoid, dan alkaloid, namun pada hasil uji skrining fitokimia pada sampel ekstrak etanol daun asam jawa yang digunakan untuk penelitian ini, sampel mengandung senyawa aktif tanin, flavonoid, dan alkaloid, dan tidak terdeteksi adanya saponin.¹⁹ Kandungan senyawa aktif saponin tidak terdeteksi karena adanya proses pengeringan daun sebelum dibuat menjadi ekstrak, senyawa aktif saponin rentan terhadap suhu tinggi, sehingga senyawa aktif tersebut dapat mengalami kerusakan bila dipanaskan dengan suhu sangat tinggi, kandungan senyawa aktif saponin tidak terdeteksi juga dapat terjadi karena dilakukannya prosedur ekstraksi yang terlalu cepat sehingga mengakibatkan senyawa aktif saponin dari daun asam jawa tidak terekstrak dengan baik.²³

Dikomentari [u2]: Jelaskan kadarnya

Dikomentari [i-3]: Pada penelitian yang dilakukan oleh Norkholisoh 2018, tidak dijelaskan kadar untuk masing2 senyawa aktif, karena tidak dilaporkan dalam jurnal yang dipublikasikan

Mekanisme kerja senyawa aktif tanin sebagai agen antibakteri terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis*, yaitu dengan menghambat produksi enzim pada lapisan dalam sel karena senyawa aktif tanin memiliki target pada polipeptida dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan terganggunya proses pembentukan dinding sel bakteri. Hal ini menyebabkan tidak terbentuknya dinding sel bakteri secara sempurna.²⁴ Pembentukan dinding sel yang tidak sempurna mengakibatkan terjadinya kebocoran sel bakteri dan mempermudah masuknya senyawa antibakteri, senyawa antibakteri akan merusak aktivitas enzim dengan menghambat produksi enzim dalam sel yang menyebabkan terjadinya kematian bakteri.^{24,25} Tanin juga dapat mengganggu permeabilitas dinding sel dan merusak dinding sel akibat pengerutan dinding sel.²⁶

Mekanisme kerja senyawa aktif flavonoid sebagai agen antibakteri, yaitu dengan merusak permeabilitas dinding bakteri, mikrosom, serta lisosom dari *Porphyromonas gingivalis*.²⁴ Hal ini terjadi karena senyawa aktif flavonoid mampu menghambat metabolisme bakteri dengan cara mendenaturasi protein dan merusak membran sel.^{24,27} Kerusakan membran sel akan mengganggu proses pembentukan energi dengan menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri dan mengakibatkan metabolisme energi bakteri terhenti dan bakteri lisis.^{27,28}

Mekanisme kerja senyawa aktif alkaloid sebagai agen antibakteri terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis*, yaitu dengan menghambat pembentukan dinding sel bakteri.²⁴ Hal ini menyebabkan terjadinya perubahan permeabilitas membran sel yang akan mempermudah masuknya senyawa antibakteri ke dalam sel dan keluarnya substansi sel seperti asam nukleat dan protein sel bakteri hingga menyebabkan kematian sel bakteri tersebut.²⁹

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa antar kelompok konsentrasi ekstrak etanol daun asam jawa memiliki efektifitas yang berbeda signifikan yaitu semakin tinggi konsentrasi, maka semakin tinggi daya hambat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Namun, kemampuannya ini belum dapat disetarakan dengan kontrol positif yaitu klorheksidine 0,2% yang merupakan gold standar yang digunakan di bidang kedokteran gigi.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun asam jawa memiliki efektifitas sebagai antibakteri terhadap *Porphyromonas gingivalis* pada konsentrasi 25%, 50%, dan 100%.

DAFTAR PUSTAKA

1. Duwisda B, Rusminah N, Susanto A. Perbandingan efektifitas pasta gigi yang mengandung sodium bikarbonat dan sodium monofluorofosfat terhadap plak dan gingivitis. *J Kedokt Gigi Univ Padjadjaran*. 2016; 28(3): 160–5.
2. Harapan IK, Ali A, Fione VR. Gambaran penyakit periodontal berdasarkan umur dan jenis kelamin pada

- pengunjung poliklinik gigi puskesmas tikala baru kota manado tahun 2017. *JIGIM (Jurnal Ilm Gigi dan Mulut)*. 2020; 3(1): 20–6.
3. Indonesia KKR. Laporan nasional riset kesehatan dasar 2018. *Kementeri Kesehat RI*. 2018; 1(1): 204.
 4. Rahmania R, Epsilawati L, Rusminah N. Densitas tulang alveolar pada penderita periodontitis kronis dan periodontitis agresif melalui radiografi. *J Radiol Dentomaksilofasial Indones*. 2019; 3(2): 7.
 5. Nazir M, Al-Ansari A, Al-Khalifa K, Alhareky M, Gaffar B, Almas K. Global Prevalence of periodontal disease and lack of its surveillance. *Sci World J*. 2020; (1): 1–8.
 6. Reddy S. *Essentials of clinical periodontology and periodontics*. 3rd ed. New Delhi: *Jaypee Brothers Medical Publishers (P) Ltd*. 2018; 2011: 39.
 7. Amin MN, Permatasari N. Aspek biologis pergerakan gigi secara ortodonsi. *Stomatognatic*. 2016; 3(1): 22–7.
 8. Tamara A, Oktiani BW, Taufiqurrahman I. Pengaruh Ekstrak flavonoid propolis kelulut (*G.thoracica*) terhadap jumlah sel neutrofil pada periodontitis (Studi in vivo pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan. *J Kedokt Gigi*. 2019; 3(1): 10–6.
 9. Putri CF, Bachtiar EW. *Porphyromonas gingivalis* dan patogenesis disfungsi kognitif: analisis peran sitokin neuroinflamasi (tinjauan pustaka). *Cakradonya Dent J*. 2020; 12(1): 15–23.
 10. Wedarti YR, Loekito LI, Pangabdian F, Andriani D. Potensi kitosan kepiting rajungan (*Portunus pelagicus*) dalam penghambatan pembentukan biofilm *Porphyromonas gingivalis* dan pertumbuhan *Candida albicans*. *Padjajaran J Dent Res Students*. 2020; 4(2): 121.
 11. Walters J, Lai P-C. Should antibiotics be prescribed to treat chronic periodontitis? *Dent Clin North Am*. 2015; 59(4): 139–48.
 12. Sinaredi BR, Pradopo S, Wibowo TB. Daya antibakteri obat kumur chlorhexidine, povidone iodine, fluoride suplementasi zinc terhadap *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis*. *Dent J*. 2014; 47(4): 211.
 13. Novita M, Firdaus IWAK, dan Taufiqurrahman I. Antibacterial Effectiveness Of *Stenochlaena Palustris* Leaves Extract Against The Growth Of *Streptococcus Mutans*. *Dentino Jurnal Kedokteran Gigi*. 2022; 7 (2): 174-180.
 14. Parwani SR, Parwani RN, Chitnis PJ, Dadlani HP, Sai Prasad S V. Comparative evaluation of anti-plaque efficacy of herbal and 0.2% chlorhexidine gluconate mouthwash in a 4-day plaque re-growth study. *J Indian Soc Periodontol*. 2013; 17(1): 72–7.
 15. Hernawati S. Daya hambat obat kumur ekstrak buah delima (*Punica granatum L.*) terhadap jumlah koloni bakteri rongga mulut. Sukorejo, Ponorogo: *Forum Ilmiah Kesehatan (FORIKES)*. 2019: 55–9.
 16. Fajar FJ, Putri DKT, dan Sukmana BI. Effect Of Karamunting Leaf Extract (*Melastoma Malabathricum L.*) On Glucosyltransferase Enzyme Of *Streptococcus Mutans*. *Dentino Jurnal Kedokteran Gigi*. 2020; 5(2): 110-114
 17. Faradiba A, Gunadi A, Praharani D. Daya antibakteri infusa daun asam jawa (*Tamarindus indica L.*) terhadap *Streptococcus mutans*. *Pustaka Kesehat*. 2016; 4(1): 55–60.
 18. Mun A, Hanani E. Karakterisasi ekstrak etanolik daun asam jawa (*Tamarindus indica L.*). *Pharm Sci Res*. 2009; 6(1): 38–44.
 19. Norkholisoh S, Sari EP, Hamidi F. Uji efektivitas antimikroba ekstrak daun asam jawa (*Tamarindus indica L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. *STIKES Insa Cendekia Med Repos*. 2018; 1(1): 1–5.
 20. Kalirajan I. Uji efek antimikroba ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica*) terhadap *Escherichia coli* secara in vitro. Brawijaya Knowledge Garden. 2018.
 21. Alexander B, Procop G, Dufresne P, Fuller J, Ghannoum M, Hanson K, et al. *Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts*. 4th ed. Clinical, And Laboratory Standards Institute. 2017: 7–13.
 22. R R, Sudarwanto M, Wientarsih I. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kari (*Murraya koenigii*) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas sp.* *J Kedokt Hewan - Indones J Vet Sci*. 2015; 9(2): 185–8.

23. Puspitasari D. Pengaruh metode perebusan terhadap uji fitokimia daun *Mangrove Excoecaria agallocha*. *Acta Aquat Aquat Sci J*. 2018; 3(2): 423–8.
24. Rijayanti RP. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *J Mhs PSPD FK Univ Tanjungpura*. 2014; 1(1): 1-18.
25. Asriani, Laksmi BS, Yasni S, Sudirman I. Mekanisme antibakteri metabolit *Lb. plantarum* kik dan monoasilgliserol minyak kelapa terhadap bakteri patogen pangan. *J Teknol dan Ind Pangan*. 2007; 18(2): 126–32.
26. Amalia A, Sari I, Nursanty R. Aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun sembung (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) terhadap pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). *J UIN Ar-Raniry*. 2017; 5(1): 387–91.
27. Nomer NMGR, Duniaji AS, Nocianitri KA. Kandungan senyawa flavonoid dan antosianin ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) serta aktivitas antibakteri terhadap *Vibrio cholerae*. *J Ilmu dan Teknol Pangan*. 2019; 8(2): 216-25.
28. Sapara TU, Waworuntu O. Efektifitas antibakteri ekstrak daun pacar air (*Impatiens balsamina* L.) terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. *Pharmakon J Ilm Farm*. 2016; 5(4): 10–7.
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. *Antibiotics*. 2021; 10(3): 1–30.

Bukti melakukan review yang kedua (21 Maret 2023)



Bukti konfirmasi submit artikel yang telah revisi kedua (22 Maret 2023)



EFFECTIVENESS OF TAMARIND LEAVES (*Tamarindus indica* L.) ETHANOL EXTRACT ANTIBACTERIAL ON *Porphyromonas gingivalis*

Dikomentari [u4]: Hasil revisi tolong di stabilo

Yemima Putri Wijaya Baiin¹, Henry Y. Mandalas², Vinna Kurniawati Sugiama³*

¹Student of Faculty of Dentistry, Maranatha Christian University, Bandung, Indonesia

²Department of Periodontics/ Faculty of Dentistry, Maranatha Christian University, Bandung, Indonesia

³Department of Oral Biology/ Faculty of Dentistry, Maranatha Christian University, Bandung, Indonesia

ABSTRACT

Background: One of the initial measures to prevent chronic periodontitis is the use of mouthwash. Chlorhexidine is an antibacterial agent that can be used as a mouthwash. Chlorhexidine has side effects so that a new method is needed to prevent periodontitis with fewer side effects, namely by using plants as a medicine, one of the plants containing active compounds with antibacterial effects. The ethanol extract of tamarind leaves is proven to contain active compounds of flavonoids, tannins, alkaloids, and saponins. **Purpose:** The aim of the study was to analyze the antibacterial effect of ethanol extract of tamarind (*Tamarindus indica* L.) leaves against *Porphyromonas gingivalis* bacteria. **Method:** The research is an experimental laboratory type using the disc diffusion method (Kirby-Bauer), namely the paper disc diffusion method with the test material of ethanol extract of tamarind leaves (*Tamarindus indica* L.) in various concentrations, namely: 3.125%, 6.25%, 12.5 %, 25%, 50%, and 100%. **Results:** Based on the results of the research on the antibacterial effect of the ethanolic extract of tamarind leaves with concentrations of 3.125%, 6.25%, and 12.5% with an average diameter of 0.00 mm of inhibition zone. At concentrations of 25%, 50%, and 100%, they fall into the medium criteria group, because they have an average inhibition zone diameter of 5.21 mm, 7.45, and 9.16 mm, so that the concentration of 100% is closest to the average the mean diameter of the positive control group or chlorhexidine. **Conclusion:** It can be concluded that the ethanol extract of tamarind leaves (*Tamarindus indica* L.) has an antibacterial effect that can inhibit the growth of *Porphyromonas gingivalis* bacteria at a concentration of 100% with an average inhibition zone diameter of 9.16 mm.

Keywords: Antibacterial, *Porphyromonas gingivalis*, Tamarind leaves (*Tamarindus indica* L.)

Correspondence author :Vinna Kurniawati Sugiawan, Faculty of Dentistry, Maranatha Christian University, jalan Surya Sumantri No.65, Sukawarna, Kec. Sukajadi, Kota Bandung 40164, Jawa Barat, Indonesia, e-mail: vinnakurniawati@yahoo.co.id

PENDAHULUAN

Penyakit periodontal merupakan kondisi patologi yang menyebabkan inflamasi dan kerusakan pada jaringan pendukung, yaitu sementum, gingiva, ligamen periodontal, dan tulang alveolar.¹ Penyakit periodontal menjadi masalah kesehatan gigi masyarakat kedua setelah karies, dilaporkan prevalensi penyakit periodontal di Indonesia mencapai 74,1%.^{2,3} Laporan di atas cukup menggambarkan tingginya risiko masyarakat Indonesia mengalami penyakit periodontal.⁴ Berdasarkan *American Academy of Periodontology* (AAP) penyakit periodontal diklasifikasikan menjadi periodontitis kronis dan periodontitis agresif.^{4,5} Salah satu penyakit periodontal paling umum terjadi pada usia dewasa adalah periodontitis kronis.⁴

Periodontitis kronis adalah keadaan peradangan pada jaringan pendukung gigi yang terdiri dari gingiva, ligamen periodontal, tulang alveolar, dan sementum. Penyakit ini disebabkan oleh bakteri tertentu yang mampu merusak jaringan pendukung gigi sehingga gigi mengalami kegoyangan, terbentuknya poket, dan hilangnya perlekatan gingiva.^{6,7} Bakteri yang sering terlibat sebagai penyebab timbulnya periodontitis kronis adalah *Porphyromonas gingivalis*.⁸ Penelitian Putri dan Bachtiar (2020) menyatakan bahwa bakteri *Porphyromonas gingivalis* ditemukan sebanyak 85,75% pada plak subgingiva pasien periodontitis kronis dan dapat ditemukan kasus periodontitis kronis sekitar 40-100% disebabkan oleh bakteri ini.⁹

Bakteri *Porphyromonas gingivalis* mampu menyebabkan perubahan patologi pada jaringan pendukung gigi sehingga mampu menyebabkan inflamasi yang mempengaruhi sel-sel periodonsium secara langsung.¹⁰ *Porphyromonas gingivalis* adalah bakteri paling berperan sebagai penyebab terjadinya periodontitis, ciri utama dari bakteri ini adalah bakteri gram negatif, *non-motile*, berbentuk batang, *assacharolytic*, dan bersifat anaerob.⁹

Tujuan perawatan periodontitis kronis adalah untuk menghilangkan biofilm patologis dan menyembuhkan inflamasi. Perawatan kasus ini dapat dilakukan tindakan *scaling*, *root planning*, dan penggunaan antibiotik untuk menghambat pertumbuhan patogen periodontal. Tindakan awal untuk mencegah terjadinya periodontitis kronis salah satunya adalah dengan menggunakan obat kumur.^{11,12} dibidang kedokteran gigi, klorheksidin banyak digunakan sebagai obat kumur antibakteri karena merupakan gold standard yang efektif dalam menurunkan pertumbuhan bakteri di rongga mulut.¹³

Namun, dapat menyebabkan beberapa efek samping seperti menyebabkan resisten, apabila digunakan jangka panjang menyebabkan warna kuning sampai coklat, memiliki rasa yang pahit, serta dapat menyebabkan gangguan pada lidah atau kelenjar parotis.^{14,15} Berdasarkan efek samping klorheksidin di atas, diperlukan metode baru untuk mencegah periodontitis dengan efek samping yang lebih sedikit, yaitu menggunakan tanaman herbal.¹⁶

Penggunaan tanaman sebagai obat telah lama dikenal, salah satu tanaman yang memiliki daya antibakteri karena kandungan biologi aktifnya yaitu daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.).¹⁷⁻¹⁹ Penelitian sebelumnya juga melaporkan bahwa ekstrak etanol daun asam jawa terbukti memiliki efek antibakteri terhadap beberapa jenis bakteri.²⁰ Ekstrak etanol daun asam jawa terbukti mengandung senyawa aktif flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin.^{18,19} Senyawa flavonoid dan alkaloid mampu menghambat protein sel bakteri sehingga mengendap dan terhentinya aktifitas metabolisme sel bakteri. Kemampuan senyawa tanin yang mampu menghambat pembentukan dinding sel dan enzim pada bakteri, serta senyawa saponin yang mampu merusak membran bakteri.¹⁸⁻²⁰

Penelitian Kalirajan (2018) terhadap bakteri *Escherichia coli* membuktikan bahwa ekstrak etanol daun asam jawa memiliki efek antibakteri.¹⁹ Berdasarkan uraian di atas peneliti tertarik ingin mengetahui efektivitas antibakteri ekstrak etanol daun asam jawa dengan konsentrasi 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100% terhadap *Porphyromonas gingivalis*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode difusi kertas cakram dengan bahan uji ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) dalam berbagai konsentrasi, yaitu: 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100%, kontrol negatif dengan larutan DMSO karena tidak memiliki aktivitas antibakteri dan kontrol positif larutan klorheksidin. Sampel penelitian ini adalah *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277.

Daun asam jawa diperoleh dari Kebun Percobaan Manoko, Lembang, kab. Bandung Barat, Bandung, yang kemudian dilakukan determinasi tanaman di Direktorat Pengelolaan Koleksi Ilmiah BRIN, Cibinong dengan nomor identifikasi tanaman B-1843/II.6.2/DI.05.07/6/2022. Uji fitokimia dilakukan di

Laboratorium Sentral Universitas Padjajaran Bandung dengan No Analisis S-392/LS-BA.36/2022.

Pembuatan ekstrak etanol daun asam jawa dilakukan dengan mencuci 8kg daun asam jawa, kemudian dikeringkan selama 2x24 jam dalam oven. Haluskan daun asam jawa yang sudah kering sehingga diperoleh simplisia. Masukkan simplisia ke dalam bejana maserasi, bersama dengan etanol 96% untuk dilakukan maserasi. Letakkan bejana maserasi di tempat gelap sehingga terlindung dari udara, cahaya, atau kelembaban, saring simplisia. Simplisia cair yang sudah disaring, diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C, hingga diperoleh ekstrak kental selama 3 jam untuk mendapatkan ekstrak etanol daun asam jawa.²¹ Setelah menjadi ekstrak kental menjadi sebanyak 500 ml, ekstrak diencerkan menggunakan DMSO untuk memperoleh konsentrasi 0% sebagai kontrol negatif, 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100%.

Pengenceran stok Ekstrak Daun Asam Jawa (EDAJ) dilakukan dengan menggunakan DMSO 10% untuk membuat seri konsentrasi. Seri konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah sebagai berikut:

EDAJ 100% : Larutan stok (1 mg ekstrak + 1 mL DMSO 100%)
EDAJ 50% : 500 µL larutan stok + 500 µL DMSO 10% (Larutan A)
EDAJ 25% : 500 µL larutan A + 500 µL DMSO 10% (Larutan B)
EDAJ 12.5% : 500 µL larutan B + 500 µL DMSO 10% (Larutan C)
EDAJ 6.25% : 500 µL larutan C + 500 µL DMSO 10% (Larutan D)
EDAJ 3.125% : 500 µL larutan D + 500 µL DMSO 10%

Pembuatan Media Tumbuh *Porphyromonas gingivalis*

Proses pembuatan media tumbuh *Porphyromonas gingivalis* adalah sebagai berikut:

Medium MHA dibuat dengan melarutkan 19 gram medium MHA dalam 500 mL ddH₂O, sedangkan medium MHB dibuat dengan melarutkan 10,5 gram medium MHB dalam 500 mL ddH₂O. Dididihkan medium menggunakan *microwave* dan homogeny dan disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dengan tekanan 1,5 atm selama 20 menit. Selanjutnya medium MHA dituangkan pada cawan petri untuk membuat lempeng agar.

Prosedur kerja agar *disk diffusion method* terdiri dari persiapan inokulum bakteri. Inokulasi koloni *Porphyromonas gingivalis* pada MHA ke dalam medium MHB. Menggunakan *vortex mixer* suspensi dihomogenisasi, selanjutnya kekeruhan larutan disesuaikan dengan kekeruhan McFarland 0,5 dengan tujuan memperoleh inokulum dengan rentang jumlah bakteri 1-2×10⁸ CFU/mL.

Agar Disk Diffusion dapat dilakukan dengan mencelupkan *cotton swab* steril ke dalam suspensi bakteri, lalu tekan *cotton swab* ke dinding agar suspensi tidak berlebih. Usapkan *cotton swab* secara merata ke permukaan MHA, diamkan 3-5 menit hingga suspensi terserap. Letakkan kertas cakram (6 mm) pada lempeng agar dan teteskan 20 µL ekstrak etanol daun asam jawa berbagai konsentrasi, kontrol negatif, dan kontrol positif dan diamkan sampai larutan terserap sepenuhnya. Setiap perlakuan dilakukan 4 kali pengulangan dan inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Diameter zona hambat diukur, yaitu zona yang tidak ditemukan adanya pertumbuhan atau terbentuknya bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada cakram disk dengan menggunakan jangka sorong. Menurut *Davis-Stout* kriteria kekuatan antibakteri, yaitu diameter zona hambat dibedakan menjadi beberapa kategori, yaitu Lemah (≤ 5 mm); Sedang (5-10 mm); Kuat (10-20 mm); dan sangat kuat (> 20 mm).²²

Data yang dinilai adalah diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* dalam satuan mm yang telah diberi perlakuan dengan ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) secara *in vitro*. Penelitian menggunakan metode difusi cakram *Kirby-Bauer* untuk menentukan diameter zona hambat. Uji normalitas dilakukan yang dilanjutkan dengan uji homogenitas berdasarkan *Kruskal-Wallis test*. Kemudian dilakukan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan signifikan terhadap tingkat efektivitas antibakteri terhadap *Porphyromonas gingivalis*. Uji statistik dilakukan dengan menggunakan aplikasi IBM Statistics SPSS 22.

HASIL

Hasil uji skrining fitokimia daun asam jawa dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Asam Jawa

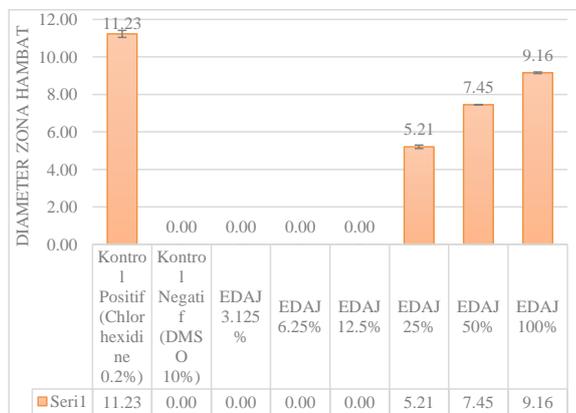
No	Metabolit Sekunder	Metode Uji	Hasil Uji
1	Tanin	Pereaksi FeCl ₃ 1%	+
2	Flavonoid	g. Pereaksi HCl pekat + Mg	-
		h. Pereaksi H ₂ SO ₄ 2N	-
		i. Pereaksi NaOH 10%	+

3	Saponin	Dipanaskan	-
4	Alkaloid	Pereaksi Dragendorff	+

Keterangan:

- + : Terdeteksi
- : Tidak terdeteksi

Penelitian ini dilakukan pemberian ekstrak etanol daun asam jawa sebanyak 8 perlakuan pada bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Terdapat 6 konsentrasi ekstrak etanol daun asam jawa yang diberikan, yaitu: 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, 100%. Perlakuan selanjutnya adalah kontrol positif dengan larutan klorheksidin 0,2% dan kontrol negatif dengan akuades untuk mengamati efek antibakteri yang dihasilkan oleh ekstrak etanol daun asam jawa secara *in vitro*.

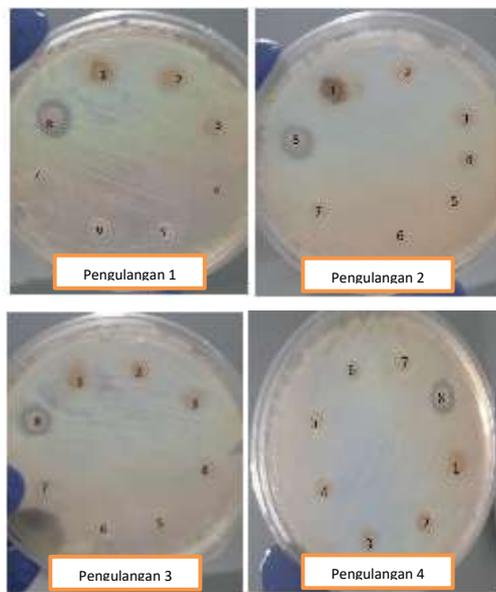


Grafik 1. Diameter zona hambat ekstrak daun asam jawa terhadap *Porphyromonas gingivalis*

Berdasarkan Tabel 2 dan Grafik 1 penelitian ini menghasilkan rata-rata diameter zona hambat ekstrak daun asam jawa pada kelompok kontrol positif sebesar 11,23 mm, rata-rata zona hambat pada kelompok ekstrak daun asam jawa 100% sebesar 9,16 mm, kelompok ekstrak daun asam jawa 50% sebesar 7,45 mm, kelompok ekstrak daun asam jawa 25% sebesar 5,21 mm, kelompok ekstrak daun asam jawa 12,5%

sebesar 0,00 mm, kelompok ekstrak daun asam jawa 6,25% sebesar 0,00 mm dan pada kelompok ekstrak daun asam jawa 3,125% sebesar 0,00 mm. Berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa pada kelompok ekstrak daun asam jawa 100% paling mendekati rata-rata diameter kelompok kontrol positif atau klorheksidin. Berdasarkan Tabel 1 terdapat simpangan baku (*stdev*) atau ukuran penyimpangan data terhadap

hasil rata-rata yang diperoleh, semakin kecil nilainya semakin baik tingkat ketelitian analisis data, semakin kecil simpangan baku (mendekati nilai 0) menunjukkan data semakin homogen, sedangkan semakin besar simpangan baku menunjukkan data heterogen.



Gambar 1. Pengamatan zona hambat ekstrak daun asam jawa terhadap *Porphyromonas gingivalis* (pengulangan 1, 2, 3, dan 4)
Keterangan: (1) Ekstrak Daun Asam Jawa 100%; (2) Ekstrak Daun Asam Jawa 50%; (3) Ekstrak Daun Asam Jawa 25%; (4) Ekstrak Daun Asam Jawa 12.5%; (5) Ekstrak Daun Asam Jawa 6.25%; (6) Ekstrak Daun Asam Jawa 3.125%; (7) Kontrol Negatif (DMSO 10%); (8) Kontrol Positif (Klorheksidin 0.2%).

Penelitian ini melakukan uji normalitas sebelum menganalisis perbandingan tiap kelompok. Uji normalitas bertujuan untuk menentukan data yang diperoleh untuk analisis perbandingan tersebut berdistribusi normal atau tidak. Data dikatakan berdistribusi normal jika nilai signifikansi $\geq 0,05$. Uji normalitas menggunakan Shapiro-Wilk test, yaitu metode yang dapat digunakan untuk data dengan jumlah sampel di bawah 50. Berdasarkan hasil dari uji normalitas pada konsentrasi 25%, 50%, dan 100% memiliki nilai signifikansi $\geq 0,05$, namun pada konsentrasi 3,125%, 6,25%, dan 12,5% didapatkan nilai 0,000, artinya data tidak berdistribusi normal atau signifikansi $\leq 0,05$. Karena terdapat data tidak berdistribusi normal, maka tidak dapat dilanjutkan uji One-Way ANOVA, mengingat syarat uji One-Way ANOVA adalah data harus berdistribusi normal.

Tabel 2. Hasil uji perbandingan *Kruskall-Wallis*

<i>Test Statistics^{a,b}</i>	
Konsentrasi	
<i>Chi-Square</i>	30,740
<i>df</i>	7
<i>Asymp. Sig.</i>	0,000

a. *Kruskall-Wallis Test*

b. *Grouping Variabel* : Zona hambat

Uji homogenitas adalah uji yang digunakan untuk mengetahui data yang digunakan homogen atau tidak. Data yang tidak berdistribusi normal akan dianalisis dengan statistik non-parametrik, yaitu *Kruskall-Wallis test*. *Kruskall-Wallis test* adalah alternatif yang dapat digunakan jika uji *One-Way ANOVA* tidak berdistribusi normal atau tidak homogen. Berdasarkan Tabel 2 *Kruskall-Wallis test* menghasilkan nilai 0,000 atau signifikansi $\leq 0,05$ sehingga didapat H_1 diterima dan H_0 ditolak.

Penelitian ini melakukan uji *Post Hoc Non-Parametric Mann Whitney* untuk mengetahui perbandingan kelompok sampel, uji *Post Hoc Non-Parametric Mann Whitney* dapat digunakan jika data tidak memenuhi asumsi kenormalan. Berdasarkan hasil uji *Post Hoc Non-Parametric Mann Whitney* menghasilkan nilai signifikansi $\leq 0,05$ yang menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan, berarti H_1 diterima, sehingga dapat disimpulkan dari setiap kelompok konsentrasi yang diuji terdapat perbedaan bermakna, karena nilainya $\leq 0,05$.

Tabel 3. Hasil Uji *Post Hoc Non-Parametric Mann Whitney*

Perbedaan	KP	K0	EDAJ 3,125%	EDAJ 6,25%	EDAJ 12,5%	EDAJ 25%	EDAJ 50%	EDAJ 100%
KP		0,014*	0,302*	0,314*	0,314*	0,321*	0,321*	0,321*
K0			118	118	118	0,312*	0,312*	0,321*
EDAJ 3,125%				118	118	0,312*	0,312*	0,321*
EDAJ 6,25%					118	0,312*	0,312*	0,321*
EDAJ 12,5%						0,312*	0,312*	0,321*
EDAJ 25%							0,312*	0,321*
EDAJ 50%								0,321*
EDAJ 100%								

KP

* Signifikan

TB Tidak

Berhambatan

Hal ini menunjukkan bahwa antar kelompok konsentrasi ekstrak etanol daun asam jawa memiliki efektivitas berbeda signifikan, yaitu semakin tinggi konsentrasi, maka semakin tinggi daya hambat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*.

PEMBAHASAN

Kriteria yang digunakan untuk menggolongkan zona hambat kontrol dan bahan sampel pada penelitian ini adalah menurut *Davis-Stout*. Berdasarkan *Davis-Stout*, zona hambat dengan kategori lemah memiliki ukuran diameter 5 mm atau kurang, kategori sedang memiliki diameter zona hambat 5-10 mm, kategori kuat dengan memiliki diameter zona hambat 10-20 mm, kategori sangat kuat memiliki diameter zona hambat ukuran 20 mm atau lebih.²¹ Hasil penelitian menyatakan bahwa kelompok kontrol negatif, dan ekstrak etanol daun asam jawa pada konsentrasi 3,125%, 6,25%, 12,5% tergolong dalam kategori lemah, sedangkan pada kelompok kontrol positif

tergolong dalam kategori kuat, dan ekstrak etanol daun asam jawa pada konsentrasi 25%, 50%, 100% tergolong dalam kategori sedang.

Pada penelitian ini dilakukan uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk test* dan diperoleh hasil pada konsentrasi 25%, 50%, dan 100% memiliki nilai signifikansi $\geq 0,05$ yang berarti data berdistribusi normal, namun pada konsentrasi 3,125%, 6,25%, dan 12,5% didapatkan nilai 0,000 artinya data tidak berdistribusi normal atau signifikansi $\leq 0,05$. Selanjutnya data akan dianalisis dengan statistik non-parametrik yaitu *Kruskal-Wallis test* dan menghasilkan nilai 0,000 atau signifikansi $\leq 0,05$.

Data selanjutnya diuji *Post Hoc* dengan *Non-Parametric Mann Whitney* dan dihasilkan nilai signifikansi $\leq 0,05$ maka terdapat perbedaan bermakna antara dua kelompok, sehingga dapat disimpulkan dari setiap kelompok konsentrasi yang diuji terdapat perbedaan bermakna karena nilainya $\leq 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa antar kelompok konsentrasi ekstrak etanol daun asam jawa memiliki efektifitas yang berbeda signifikan yaitu semakin tinggi konsentrasi, maka semakin tinggi daya hambat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Hal ini dapat terjadi karena semakin tingginya konsentrasi ekstrak etanol daun asam jawa maka semakin tinggi juga kandungan senyawa aktif yang memiliki peranan sebagai antibakteri seperti tanin, flavonoid, dan alkaloid. Ekstrak etanol daun asam jawa memiliki efek anti bakteri terhadap *Porphyromonas gingivalis*, namun hasilnya tidak sekuat efek antibakteri yang dihasilkan oleh kontrol positif. Efek antibakteri yang dihasilkan oleh Klorheksidin 0.2% sebagai kontrol positif lebih tinggi karena Klorheksidin merupakan gold standar yang telah digunakan secara luas dibidang kedokteran gigi dalam membunuh bakteri gram positif ataupun negatif.

Klorheksidin memiliki muatan positif yang dapat tertarik ke dinding sel bakteri secara kuat, yang kemudian menyebabkan terjadinya kebocoran membrane sel sehingga terjadi perubahan integritas membrane sel bakteri dan dapat menyebabkan sitoplasma secara kimiawi.²³

Sesuai dengan penelitian yang dilakukan Norkholisoh (2018) menyatakan ekstrak etanol daun asam jawa mengandung senyawa aktif saponin, tanin, flavonoid, dan alkaloid, namun pada hasil uji skrining fitokimia pada sampel ekstrak etanol daun asam jawa yang digunakan untuk penelitian ini, sampel mengandung senyawa aktif tanin, flavonoid, dan alkaloid, dan tidak terdeteksi adanya saponin.¹⁹ Kandungan senyawa aktif saponin tidak terdeteksi karena adanya proses pengeringan daun sebelum dibuat menjadi ekstrak, senyawa aktif saponin rentan terhadap suhu tinggi, sehingga senyawa aktif tersebut dapat mengalami kerusakan bila dipanaskan dengan suhu sangat tinggi, kandungan senyawa aktif saponin tidak terdeteksi juga dapat terjadi karena dilakukannya proses ekstraksi yang terlalu cepat sehingga mengakibatkan senyawa aktif saponin dari daun asam jawa tidak terekstrak dengan baik.²⁴

Mekanisme kerja senyawa aktif tanin sebagai agen antibakteri terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis*, yaitu dengan menghambat produksi enzim pada lapisan dalam sel karena senyawa aktif tanin memiliki target pada polipeptida dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan terganggunya proses pembentukan dinding sel bakteri. Hal ini menyebabkan tidak terbentuknya dinding sel bakteri secara sempurna.²⁵ Pembentukan dinding sel yang tidak sempurna mengakibatkan terjadinya kebocoran sel bakteri dan mempermudah masuknya senyawa antibakteri, senyawa antibakteri akan merusak aktivitas enzim dengan menghambat produksi enzim dalam sel yang menyebabkan terjadinya kematian bakteri.^{25,26} Tanin juga dapat mengganggu permeabilitas dinding sel dan merusak dinding sel akibat pengerutan dinding sel.²⁷

Mekanisme kerja senyawa aktif flavonoid sebagai agen antibakteri, yaitu dengan merusak permeabilitas dinding bakteri, mikrosom, serta lisosom dari *Porphyromonas gingivalis*.²⁵ Hal ini terjadi karena senyawa aktif flavonoid mampu menghambat metabolisme bakteri dengan cara mendenaturasi protein dan merusak membran sel.^{25,28} Kerusakan membran sel akan mengganggu proses pembentukan energi dengan menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri dan mengakibatkan metabolisme energi bakteri terhenti dan bakteri lisis.^{28,29}

Mekanisme kerja senyawa aktif alkaloid sebagai agen antibakteri terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis*, yaitu dengan menghambat pembentukan dinding sel bakteri.²⁵ Hal ini menyebabkan terjadinya perubahan permeabilitas membran sel yang akan mempermudah masuknya senyawa antibakteri ke dalam sel dan keluarnya substansi sel seperti asam nukleat dan protein sel bakteri hingga menyebabkan kematian sel bakteri tersebut.³⁰

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa antar kelompok konsentrasi ekstrak etanol daun asam jawa memiliki efektifitas yang berbeda signifikan yaitu semakin tinggi konsentrasi, maka semakin tinggi daya hambat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Namun, kemampuannya ini belum dapat disetarakan

dengan control positif yaitu klorhexidine 0,2% yang merupakan gold standar yang digunakan di bidang kedokteran gigi.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun asam jawa memiliki efektifitas sebagai antibakteri terhadap *Porphyromonas gingivalis* pada konsentrasi 25%, 50%, dan 100%.

DAFTAR PUSTAKA

1. Duwisda B, Rusminah N, Susanto A. Perbandingan efektifitas pasta gigi yang mengandung sodium bikarbonat dan sodium monofluorofosfat terhadap plak dan gingivitis. *J Kedokt Gigi Univ Padjadjaran*. 2016; 28(3): 160–5.
2. Harapan IK, Ali A, Fione VR. Gambaran penyakit periodontal berdasarkan umur dan jenis kelamin pada pengunjung poliklinik gigi puskesmas tikala baru kota manado tahun 2017. *JIGIM (Jurnal Ilm Gigi dan Mulut)*. 2020; 3(1): 20–6.
3. Indonesia KKR. Laporan nasional riset kesehatan dasar 2018. *Kementeri Kesehat RI*. 2018; 1(1): 204.
4. Rahmania R, Epsilawati L, Rusminah N. Densitas tulang alveolar pada penderita periodontitis kronis dan periodontitis agresif melalui radiografi. *J Radiol Dentomaksilofasial Indones*. 2019; 3(2): 7.
5. Nazir M, Al-Ansari A, Al-Khalifa K, Alhareky M, Gaffar B, Almas K. Global Prevalence of periodontal disease and lack of its surveillance. *Sci World J*. 2020; (1): 1–8.
6. Reddy S. *Essentials of clinical periodontology and periodontics*. 3rd ed. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers (P) Ltd. 2018; 2011: 39.
7. Amin MN, Permatasari N. Aspek biologis pergerakan gigi secara ortodonsi. *Stomatognatic*. 2016; 3(1): 22–7.
8. Tamara A, Oktiani BW, Taufiqurrahman I. Pengaruh Ekstrak flavonoid propolis kelulut (*G.thoracica*) terhadap jumlah sel neutrofil pada periodontitis (Studi in vivo pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan. *J Kedokt Gigi*. 2019; 3(1): 10–6.
9. Putri CF, Bachtiar EW. *Porphyromonas gingivalis* dan patogenesis disfungsi kognitif: analisis peran sitokin neuroinflamasi (tinjauan pustaka). *Cakradonya Dent J*. 2020; 12(1): 15–23.
10. Wedarti YR, Loekito LI, Pangabdian F, Andriani D. Potensi kitosan kepiting rajungan (*Portunus pelagicus*) dalam penghambatan pembentukan biofilm *Porphyromonas gingivalis* dan pertumbuhan *Candida albicans*. *Padjadjaran J Dent Res Students*. 2020; 4(2): 121.
11. Walters J, Lai P-C. Should antibiotics be prescribed to treat chronic periodontitis? *Dent Clin North Am*. 2015; 59(4): 139–48.
12. Sinaredi BR, Pradopo S, Wibowo TB. Daya antibakteri obat kumur chlorhexidine, povidone iodine, fluoride suplementasi zinc terhadap *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis*. *Dent J*. 2014; 47(4): 211.
13. Novita M, Firdaus IWAK, dan Taufiqurrahman I. Antibacterial Effectiveness Of *Stenochlaena Palustris* Leaves Extract Against The Growth Of *Streptococcus Mutans*. *Dentino Jurnal Kedokteran Gigi*. 2022; 7 (2): 174-180.
14. Parwani SR, Parwani RN, Chitnis PJ, Dadlani HP, Sai Prasad S V. Comparative evaluation of anti-plaque efficacy of herbal and 0.2% chlorhexidine gluconate mouthwash in a 4-day plaque re-growth study. *J Indian Soc Periodontol*. 2013; 17(1): 72–7.
15. Hernawati S. Daya hambat obat kumur ekstrak buah delima (*Punica granatum* L.) terhadap jumlah koloni bakteri rongga mulut. Sukorejo, Ponorogo: *Forum Ilmiah Kesehatan (FORIKES)*. 2019: 55–9.
16. Fajar FJ, Putri DKT, dan Sukmana BI. Effect Of Karamunting Leaf Extract (*Melastoma Malabathricum* L.) On Glucosyltransferase Enzyme Of *Streptococcus Mutans*. *Dentino Jurnal Kedokteran Gigi*. 2020; 5(2): 110-114
17. Faradiba A, Gunadi A, Praharani D. Daya antibakteri infusa daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) terhadap

Streptococcus mutans. *Pustaka Kesehat*. 2016; 4(1): 55–60.

18. Mun A, Hanani E. Karakterisasi ekstrak etanolik daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.). *Pharm Sci Res*. 2009; 6(1): 38–44.
19. Norkholisoh S, Sari EP, Hamidi F. Uji efektivitas antimikroba ekstrak daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. *STIKES Insa Cendekia Med Repos*. 2018; 1(1): 1–5.
20. Kalirajan I. Uji efek antimikroba ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica*) terhadap *Escherichia coli* secara in vitro. Brawijaya Knowledge Garden. 2018.
21. Alexander B, Procop G, Dufresne P, Fuller J, Ghannoum M, Hanson K, et al. *Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts*. 4th ed. Clinical, And Laboratory Standards Institute. 2017: 7–13.
22. R R, Sudarwanto M, Wientarsih I. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kari (*Murraya koenigii*) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas sp*. *J Kedokt Hewan - Indones J Vet Sci*. 2015; 9(2): 185–8.
23. Balagopal S & Arjunker R. Chlorhexidine: The Gold Standard Antiplaque Agent. *J Pharm Sci & Res*. 2013; 5(12): 270-274.
24. Puspitasari D. Pengaruh metode perebusan terhadap uji fitokimia daun *Mangrove Excoecaria agallocha*. *Acta Aquat Aquat Sci J*. 2018; 3(2): 423–8.
25. Rijayanti RP. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *J Mhs PSPD FK Univ Tanjungpura*. 2014; 1(1): 1-18.
26. Asriani, Laksmi BS, Yasni S, Sudirman I. Mekanisme antibakteri metabolit *Lb. plantarum kik* dan monoasilgliserol minyak kelapa terhadap bakteri patogen pangan. *J Teknol dan Ind Pangan*. 2007; 18(2): 126–32.
27. Amalia A, Sari I, Nursanty R. Aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun sembung (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) terhadap pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). *J UIN Ar-Raniry*. 2017; 5(1): 387–91.
28. Nomer NMGR, Duniaji AS, Nocianetri KA. Kandungan senyawa flavonoid dan antosianin ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) serta aktivitas antibakteri terhadap *Vibrio cholerae*. *J Ilmu dan Teknol Pangan*. 2019; 8(2): 216-25.
29. Sapara TU, Waworuntu O. Efektifitas antibakteri ekstrak daun pacar air (*Impatiens balsamina* L.) terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. *Pharmacon J Ilm Farm*. 2016; 5(4): 10–7.
30. Yan Y, Li X, Zhang C, Lv L, Gao B, Li M. Research progress on antibacterial activities and mechanisms of natural alkaloids: A review. *Antibiotics*. 2021; 10(3): 1–30.

Bukti konfirmasi artikel diterima

Bukti Galery Proof Manuscript

