

**UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK DAUN TUMBUHAN BANDOTAN
(*Ageratum conyzoides L.*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI
PENYEBAB PERIODONTITIS (*Porphyromonas gingivalis*)
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI



*Diajukan kepada Universitas Hasanuddin untuk Melangkapi Salah Satu Syarat
Mencapai Gelar Sarjana Kedokteran Gigi*

SHAFIRA NURUL KHAERA

J011171033

**DEPARTEMEN PERIODONSIA
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2020

**UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK DAUN TUMBUHAN BANDOTAN
(*Ageratum conyzoides* L.) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI
PENYEBAB PERIODONTITIS (*Porphyromonas gingivalis*)
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

**Diajukan Kepada Universitas Hasanuddin
Untuk Melengkapi Salah Satu Syarat
Mencapai Gelar Sarjana Kedokteran Gigi**

**SHAFIRA NURUL KHAERA
J011171033**

**BAGIAN PERIODONSIA
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Tumbuhan Bandotan (*Ageratum Conyzoides L.*) terhadap Pertumbuhan Bakteri Penyebab Periodontitis (*Porphyromonas Gingivalis*) secara *In Vitro*

Oleh : Shafira Nurul Khaera / J0111 71 033

Telah Diperiksa dan Disahkan

Pada Tanggal 9 Juli 2019

Oleh :

Pembimbing



Prof. Dr. drg. A. Mardiana Adam, MS
NIP. 19551021 198503 2 001

Mengetahui

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Hasanuddin



drg. Muhammad Ruslin, M. Kes., Ph.D., Sp.BM(K)
NIP. 19730702 200112 1 001

SURAT PERNYATAAN

Dengan ini menyatakan mahasiswa yang tercantum dibawah ini

Nama : Shafira Nurul Khaera

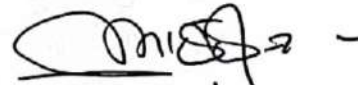
NIM : J011171033

Judul Skripsi : Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Tumbuhan Bandotan (*Ageratum Conyzoides L.*) terhadap Pertumbuhan Bakteri Penyebab Periodontitis (*Porphyromonas Gingivalis*) secara *In Vitro*

Menyatakan bahwa Judul Skripsi yang diajukan adalah judul yang baru dan tidak terdapat di Perpustakaan Fakultas Kedokteran Gigi Unhas.

Makassar, 3 Agustus 2020

Koordinator Perpustakaan FKG-UH



Amiruddin, S.Sos

NIP 19661121 199201 1 033

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Puji dan syukur kehadiran Allah SWT, atas segala nikmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Tumbuhan Bandotan (*Ageratum Conyzoides L.*) terhadap Pertumbuhan Bakteri Penyebab Periodontitis (*Porphyromonas Gingivalis*) secara *In Vitro*”. Salam dan shalawat senantiasa tercurah kepada Rasulullah SAW yang mengantarkan umatnya dari zaman kegelapan ke zaman yang terang benderang ini. Penyusunan skripsi ini sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana kedokteran gigi. Selain itu skripsi ini diharapkan dapat memberikan manfaat tidak hanya untuk penulis tetapi juga bagi pembaca dan peneliti lainnya untuk menambah pengetahuan.

Dalam penyusunan skripsi ini, penulis mendapat banyak bimbingan, dukungan, dan bantuan dari berbagai pihak, baik moril maupun materil, sehingga skripsi ini akhirnya dapat diselesaikan. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. **drg. Muhammad Ruslin, M. Kes., Ph.D., Sp.BM(K)** selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin.
2. **Prof. Dr. drg. A. Mardiana Adam, MS** selaku dosen pembimbing yang telah banyak meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mendampingi, membimbing, dan menasehati penulis dalam menyusun skripsi ini.
3. **Dr. drg. Leni Indriani Hatta, M.Kes** selaku penasehat akademik yang selalu sabar dalam memberikan dukungan selama perkuliahan.

4. Kedua orangtua tercinta, **M. Taufiq Tjadi Aman** dan **Wahidah Sarita** yang senantiasa mendoakan, memberi dukungan, semangat, perhatian dan kasih sayang yang tiada hentinya agar penulis dapat menyelesaikan studi dan skripsi ini.
5. **Muhammad Ihsan** selaku ketua BEM Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin yang memberikan dukungan dan mengayomi seluruh keluarga mahasiswa selama perkuliahan.
6. Teman seperjuangan skripsi **Nur Muftiah Rusdin** atas kerja samanya, dukungan, dan semangat dari awal hingga akhir penyelesaian skripsi ini.
7. Teman-teman, “**Night Team**” yang selalu menemani, mendukung, mengingatkan, memberi kebahagiaan, sehingga penulis dapat melewati masa perkuliahan dengan baik
8. Teman-teman, “**JIBANG**” yang selalu memberikan dukungan dan motivasi yang sangat berharga sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi serta perkuliahan.
9. Teman seperjuangan **OBTURASI 2017** yang memberikan banyak cerita dan kenangan pada masa kuliah dan memberi bantuan dalam pembuatan skripsi ini.
10. Segenap **Dosen/Staf Pengajar** Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin yang telah memberi ilmu dan keterampilan yang tidak ternilai harganya bagi penulis selama di bangku kuliah
11. Seluruh **Staf Pegawai** Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin dan Departemen Ilmu Periodontologi RSGM Unhas yang telah banyak membantu penulis

12. Seluruh pihak yang telah membantu penulis dalam penyusunan penyelesaian skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Terima kasih penulis ucapkan disertai doa kepada semua pihak-pihak yang telah membantu. Penulis menyadari bahwa pembuatan skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan. Kritik dan saran yang membangun dari pembaca sangat diharapkan. Akhirnya dengan segenap kerendahan hati, penulis mengarapkan agar kiranya tulisan ini dapat menjadi salah satu sumbangsih ilmu dan peningkatan kualitas pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi ke depannya. Aamiin.

Wassalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh.

Makassar, 9 Juli 2020

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Shafira Nurul Khaera', written in a cursive style.

Shafira Nurul Khaera

ABSTRAK

Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Tumbuhan Bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Penyebab Periodontitis (*Porphyromonas gingivalis*) Secara *In Vitro*

Shafira Nurul Khaera

Mahasiswa Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin

Latar belakang: Agen etiologi primer penyakit periodontal umumnya yaitu bakteri batang *P. gingivalis*. Upaya menemukan bahan alternatif yang tidak memiliki efek samping yaitu daun tumbuhan bandotan mengandung senyawa flavonoid, polifenol, dan minyak atsiri yang berpotensi sebagai antibakteri. **Tujuan:** Tujuan dari penelitian untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun tumbuhan bandotan terhadap pertumbuhan bakteri penyebab periodontitis (*Porphyromonas gingivalis*). **Metode:** Jenis penelitian yaitu eksperimental laboratoris dengan *post test only control group desain* menggunakan metode dilusi dan disk-diffusion method. **Hasil:** Konsentrasi 15% memiliki rata-rata zona inhibisi yang paling kecil yaitu $8,60 \pm 0,89$ mm. Zona inhibisi pada konsentrasi 100% memiliki zona inhibisi paling besar yaitu $16,25 \pm 0,66$ mm. **Analisis:** Hasil uji *Post Hoc* LSD zona inhibisi antar kelompok perlakuan terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis* rata-rata menunjukkan nilai yang signifikan ($p < 0.05$). **Kesimpulan:** Ekstrak daun tumbuhan bandotan memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri penyebab periodontitis (*Porphyromonas gingivalis*).

Kata kunci: Ekstrak daun tumbuhan bandotan (*Ageratum conyzoides L.*), daya hambat, periodontitis, bakteri *Porphyromonas gingivalis*.

ABSTRACT

Inhibitory Test of Bandotan Leaf Extract (*Ageratum conyzoides L.*) on the Growth of Bacteria Cause Periodontitis (*Porphyromonas gingivalis*) By *In Vitro*

Shafira Nurul Khaera

Student of the Faculty of Dentistry Hasanuddin University

Background: Primary etiological agent of periodontal disease is generally the *P. gingivalis* stem bacteria. Efforts to find alternative ingredients that have no side effects, namely bandotan plant leaves contain flavonoid compounds, polyphenols, and essential/volatile oils that have the potential as antibacterial. **Objective:** The purpose of this study is to determine the effect of bandotan leaf extract toward the growth of bacteria that cause periodontitis (*Porphyromonas gingivalis*). **Method:** This type of research is an experimental laboratory with *post test only control group design* using the dilution method and disk-diffusion method. **Results:** The 15% concentration has the smallest average inhibition zone of 8.60 ± 0.89 mm. The zone of inhibition at a concentration of 100% has the biggest zone of inhibition of 16.25 ± 0.66 mm. **Analysis:** The results of the *Post Hoc* LSD test for inhibition zone between treatment groups on the *Porphyromonas gingivalis* bacteria on average showed a significant value ($p < 0.05$). **Conclusion:** Bandotan leaf extract has inhibitory effect on the growth of bacteria that cause periodontitis (*Porphyromonas gingivalis*).

Keywords: Bandotan Leaf extract (*Ageratum conyzoides L.*), inhibitory power, periodontitis, *Porphyromonas gingivalis* bacteria.

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
SURAT PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Penyakit Periodontal	6
2.2 Periodontitis.....	9
2.3 <i>Porphyromonas gingivalis</i>	19
2.4 Tumbuhan Bandotan (<i>Ageratum Conyzoides L.</i>)	22
2.5 Metode Pengujian Antibakteri	26
2.6 Metode Ekstraksi	28
BAB 3. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	30
3.1 Kerangka Konsep.....	30

3.2 Hipotesis Penelitian	31
BAB 4. METODE PENELITIAN	32
4.1 Jenis Penelitian	32
4.2 Desain Penelitian	32
4.3 Lokasi Penelitian.....	32
4.4 Waktu Penelitian.....	32
4.5 Variabel Penelitian	32
4.6 Definisi Operasional	33
4.7 Sampel Penelitian.....	34
4.8 Kriteria Sampel	34
4.9 Besaran Sampel	34
4.10 Alat dan Bahan Penelitian	35
4.11 Prosedur Penelitian.....	36
4.12 Analisis Data.....	39
4.13 Alur Penelitian	39
BAB 5. HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS HASIL PENELITIAN	40
5.1 Hasil Penelitian	40
5.2 Analisis Hasil Penelitian	44
BAB 6. PEMBAHASAN	51
BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN	55
7.1 Kesimpulan.....	55
7.2 Saran.....	55
DAFTAR PUSTAKA	56
LAMPIRAN	61

Lampiran 1. Administrasi Penelitian	62
Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian	68

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Klasifikasi Penyakit Periodontal	7
Tabel 2.2 Faktor Risiko Periodontitis	12
Tabel 2.3 Organoleptik Daun Bandotan	23
Tabel 5.1 Hasil pengukuran diameter zona hambat bakteri <i>P. gingivalis</i>	43
Tabel 5.2 Hasil uji statistik zona inhibisi bakteri <i>P. gingivalis</i>	44
Tabel 5.3 Hasil uji statistik <i>Post hoc</i> LSD (<i>Least Significant Difference</i>) zona inhibisi bakteri <i>P. gingivalis</i> (15%)	45
Tabel 5.4 Hasil uji statistik <i>Post hoc</i> LSD (<i>Least Significant Difference</i>) zona inhibisi bakteri <i>P. gingivalis</i> (25%)	46
Tabel 5.5 Hasil uji statistik <i>Post hoc</i> LSD (<i>Least Significant Difference</i>) zona inhibisi bakteri <i>P. gingivalis</i> (50%)	46
Tabel 5.6 Hasil uji statistik <i>Post hoc</i> LSD (<i>Least Significant Difference</i>) zona inhibisi bakteri <i>P. gingivalis</i> (75%)	47
Tabel 5.7 Hasil uji statistik <i>Post hoc</i> LSD (<i>Least Significant Difference</i>) zona inhibisi bakteri <i>P. gingivalis</i> (100%)	48
Tabel 5.8 Hasil uji statistik <i>Post hoc</i> LSD (<i>Least Significant Difference</i>) zona inhibisi bakteri <i>P. gingivalis</i> (Kontrol Positif)	49
Tabel 5.9 Hasil uji statistik <i>Post hoc</i> LSD (<i>Least Significant Difference</i>) zona inhibisi bakteri <i>P. gingivalis</i> (Kontrol negatif).....	49

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tahap Terjadinya Penyakit Periodontal.....	7
Gambar 2.2 Gambaran Klinis Periodontitis	11
Gambar 2.3 Koloni hitam-berpigmen dari periodontopatogen <i>Porphyromonas</i> gingivalis pada agar darah.....	20
Gambar 2.4 Tumbuhan Bandotan.....	23
Gambar 3.1 Kerangka Konsep	30
Gambar 4.1 Alur Penelitian.....	39
Gambar 5.1 Metode dilusi terhadap <i>P. gingivalis</i> sebelum inkubasi 24 jam.....	41
Gambar 5.2 Metode dilusi terhadap <i>P. gingivalis</i> setelah inkubasi 24 jam.....	41
Gambar 5.3 Cawan Petri I.....	42
Gambar 5.4 Cawan Petri II.....	42
Gambar 5.5 Cawan Petri III	43
Gambar 5.6 Cawan Petri IV	43

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit gigi dan mulut merupakan masalah kesehatan tertinggi keenam yang sering dikeluhkan oleh masyarakat Indonesia.^[1] Penyakit periodontal merupakan salah satu penyakit gigi dan mulut yang berkembang sangat lazim, dan mempengaruhi sekitar 10,5% hingga 12% dari populasi dunia.^[2] Di Indonesia penyakit periodontal memiliki prevalensi cukup tinggi yang banyak diderita oleh manusia hampir di seluruh dunia dan mencapai 50% dari jumlah populasi dewasa.^[3]

Penyakit periodontal merupakan suatu inflamasi yang terjadi pada jaringan pendukung gigi, termasuk tulang alveolar dan ligamen periodontal. Penyakit periodontal yang banyak dijumpai adalah peradangan gusi atau gingivitis dan periodontitis.^[4] Penyebab utama penyakit periodontal adalah adanya mikroorganisme yang berkolonisasi di dalam plak gigi.^[5] Kemampuan bakteri untuk menempel pada *host* dapat menginduksi penyakit seperti gingivitis atau periodontitis. Suasana hangat dan lembab pada rongga mulut mampu mendukung pertumbuhan berbagai mikroorganisme, termasuk virus, mikoplasma, bakteri, Archaea, jamur, dan protozoa.^[6]

Periodontitis didefinisikan sebagai penyakit yang meradang pada jaringan pendukung gigi yang disebabkan oleh mikroorganisme spesifik kelompok tertentu, yang mengakibatkan kerusakan progresif dari ligamentum periodontal dan tulang alveolar dengan peningkatan pembentukan kedalaman probing, resesi, atau keduanya.^[2]

Sejumlah bukti eksperimental telah menunjukkan bahwa agen etiologi primer penyakit periodontal umumnya yaitu bakteri batang Gram-negatif yang meliputi *P. gingivalis*. Habitat utama *P. gingivalis* adalah sulkus subgingiva dari rongga mulut manusia. Bakteri periodontopatik ini ditemukan pada 85,75% sampel plak subgingiva dari pasien dengan periodontitis kronik. Bakteri oral dan terutama bakteri patogen, seperti *Porphyromonas gingivalis* memiliki faktor virulensi yang besar, salah satunya adalah kemampuan untuk menembus permukaan intraoral yang keras.^[7]

Upaya mengatasi masalah tersebut, biasanya menggunakan konsep perawatan antimikroba. Antibiotik salah satu kelompok agen antimikroba, yang juga terdiri dari bahan kimia antivirus, antijamur, dan antiparasit. Antibiotik dapat membunuh atau menekan bakteri hidup tetapi mereka tidak dapat menghilangkan kalkulus dan residu bakteri, yang secara tradisional dianggap sebagai bagian penting dari terapi periodontal.^[6]

Ketika digunakan secara tepat, antibiotik memberikan manfaat yang tidak perlu diragukan lagi. Namun bila dipakai atau diresepkan secara tidak tepat (*irrational prescribing*) dapat menimbulkan kerugian yang luas dari segi kesehatan, ekonomi bahkan untuk generasi mendatang. Munculnya kuman-kuman patogen yang kebal terhadap satu (*antimicrobial resistance*) atau beberapa jenis antibiotika tertentu (*multiple drug resistance*) sangat menyulitkan proses pengobatan.^[8] Upaya menemukan bahan alternatif yang tidak memiliki efek samping, merupakan solusi bagi permasalahan di atas.

Bahan alternatif yang tepat untuk menjadi solusi dalam permasalahan tersebut yaitu herbal. Tumbuhan bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) di Indonesia

digolongkan sebagai gulma sehingga sering dimusnahkan. Namun beberapa kelompok masyarakat kita menggunakan tanaman ini sebagai obat tradisional untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit.^[9] Beberapa kegunaan dari tumbuhan ini adalah sebagai obat luka baru, luka berdarah, bisul, eksema, dan mengobati penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri.

Daun dan bunga bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) mengandung senyawa saponin, flavonoid, polifenol, dan minyak atsiri. Senyawa fenol secara umum telah dikenal sebagai desinfektan yang digunakan untuk membunuh mikroorganisme patogen. Senyawa polifenol telah terbukti memiliki aktivitas antibakteri.^[10] Flavonoid memiliki berbagai khasiat salah satunya sebagai antioksidan. Kadar metabolit sekunder seperti flavonoid dapat bervariasi dikarenakan banyak faktor seperti tempat tumbuh tanaman, metoda ekstraksi, pelarut pengekstraksi, dan sebagainya.^[11]

Analisis fitokimia *Ageratum conyzoides L.* yang telah dilakukan oleh Amadi et al menunjukkan bahwa senyawa utama yang ada di dalam tanaman *Ageratum conyzoides L.* yaitu alkaloid dan flavonoid terakumulasi pada daunnya.^[12] Pada penelitian Mitra et al. 2013 telah melaporkan aktivitas antibakteri positif dari fraksi yang berbeda dari ekstrak daun tanaman ini. Onuoha et al. 2013 telah melaporkan ekstrak metanol daun bandotan mengandung aktivitas bakterisidal tinggi.^[13]

Kegunaan dan khasiat yang dapat diperoleh dari tumbuhan ini sangat banyak, namun sejauh ini masih sedikit penelitian tentang tumbuhan Bandotan. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengetahui uji daya hambat ekstrak daun tumbuhan bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) terhadap pertumbuhan bakteri penyebab periodontitis (*Porphyromonas gingivalis*).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan tersebut di atas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini, yaitu Bagaimana Daya Hambat Ekstrak Daun Tumbuhan Bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Penyebab Periodontitis (*Porphyromonas gingivalis*).

1.3 Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun tumbuhan bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) terhadap pertumbuhan bakteri penyebab periodontitis (*Porphyromonas gingivalis*).

2. Tujuan Khusus

- 1) Untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) ekstrak daun tumbuhan bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) terhadap pertumbuhan bakteri penyebab periodontitis (*Porphyromonas gingivalis*).
- 2) Untuk mengetahui Zona Daya Hambat ekstrak daun tumbuhan bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) terhadap pertumbuhan bakteri penyebab periodontitis (*Porphyromonas gingivalis*).

1.4 Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritis

Penelitian ini dapat memberikan sumbangsih bagi ilmu pengetahuan kedokteran gigi menyangkut ekstrak daun tumbuhan bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) dapat memberi manfaat untuk menghambat pertumbuhan bakteri penyebab periodontitis (*Porphyromonas gingivalis*).

2. Manfaat Praktis

- 1) Membangun pemahaman kepada masyarakat bahwa kandungan ekstrak daun tumbuhan bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) dapat memberi manfaat untuk menghambat pertumbuhan bakteri penyebab periodontitis (*Porphyromonas gingivalis*).
- 2) Penelitian ini dapat memberikan data ilmiah yang dapat mendukung penggunaan dan pengembangan ekstrak daun tumbuhan bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) sebagai obat tradisional yang mempunyai efek antibakteri serta sebagai alternatif pilihan pengganti obat antibiotik sintetik.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Penyakit Periodontal

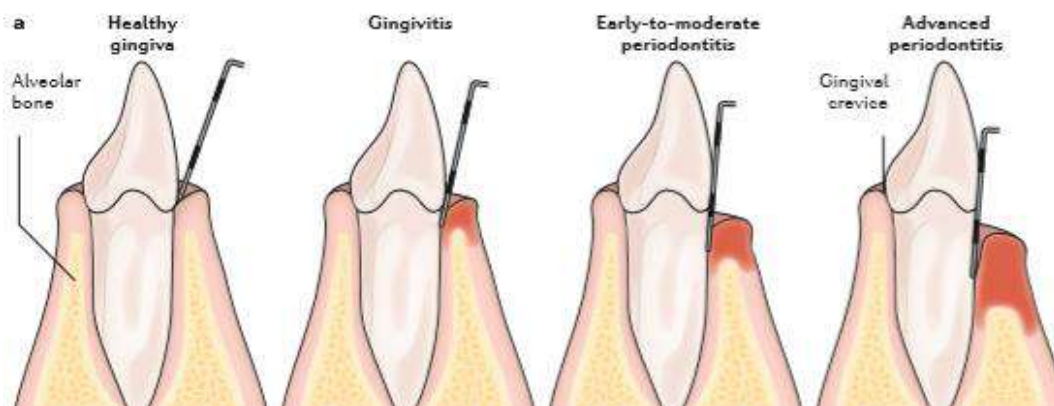
Penyakit periodontal adalah infeksi bakteri kronis yang ditandai dengan peradangan persisten, kerusakan jaringan ikat dan kerusakan tulang alveolar.^[14] Istilah 'penyakit periodontal' mencakup luas berbagai kondisi peradangan kronis gingiva (atau gusi, jaringan lunak yang mengelilingi gigi), tulang dan ligamen (serat kolagen jaringan ikat yang menambatkan gigi ke tulang alveolar) yang menopang gigi.^[15]

Penyebab utama penyakit periodontal adalah adanya mikroorganisme yang berkolonisasi di dalam plak gigi. Kandungan dari plak gigi adalah berbagai jenis mikroorganisme, khususnya bakteri sisanya adalah jamur, protozoa dan virus. Plak yang mengandung mikroorganisme patogenik ini berperan penting dalam menyebabkan dan memperparah infeksi periodontal.^[5]

Plak gigi adalah biofilm bakteri yang menyebabkan gingivitis kronis dan periodontitis. Secara konseptual, seseorang dapat menganggap penyakit periodontal sebagai interaksi inang-mikroba di mana faktor inang dan bakteri menentukan hasilnya, sehingga perubahan keseimbangan antara faktor inang dan bakteri dapat mengakibatkan perubahan dari sehat menjadi penyakit. Keseimbangan dapat diubah, dengan terjadinya pengurangan resistensi host, peningkatan biofilm plak atau peningkatan virulensi bakteri. Manifestasi klinis penyakit periodontal lebih lanjut dimodifikasi oleh faktor lokal dan sistemik.^[16]

Penyakit periodontal dimulai dengan gingivitis, yaitu peradangan lokal gingiva yang diprakarsai oleh bakteri dalam plak gigi, yang merupakan biofilm mikroba

yang terbentuk pada gigi dan gingiva. Dalam tahap rimer ini, istilah gingivitis mengacu pada gingivitis yang diinduksi plak. Periodontitis kronis terjadi ketika gingivitis yang tidak diobati berkembang menjadi hilangnya gingiva, tulang, dan ligamen, yang menciptakan 'kantong' periodontal yang merupakan ciri khas penyakit ini dan pada akhirnya dapat menyebabkan kehilangan gigi. Penyakit periodontal dapat berkontribusi pada keseluruhan beban inflamasi tubuh, kondisi yang memburuk seperti diabetes mellitus dan aterosklerosis.^[15]



Gambar 2.1 Tahap Terjadinya Penyakit Periodontal^[15]

2.1.1 Klasifikasi Penyakit Periodontal

Tabel 2.1 Klasifikasi Penyakit Periodontal^[17]

No.	Klasifikasi	Deskripsi
1	Gingivitis	Inflamasi gingiva yang diinduksi oleh plak ditandai dengan jaringan berwarna merah dan bengkak yang berdarah saat disikat atau probing.
2	Periodontitis Kronis	Ditandai dengan terjadinya destruksi <i>junctional epithelium</i> dan perlekatan jaringan ikat gigi, bersamaan dengan destruksi tulang dan pembentukan kantong periodontal. Penyakit ini berkembang perlahan dan kehilangan tulang

		cenderung dipengaruhi usia pasien dari waktu ke waktu.
3	<i>Aggressive Periodontitis</i>	Kondisi parah biasanya ditemukan pada kelompok pasien yang lebih muda, yang mungkin terkait dengan riwayat keluarga periodontitis agresif. Perkembangan penyakit berlangsung cepat dan tingkat kerusakan perlekatan jaringan ikat dan tulang parah, mengingat usia pasien. Tingkat plak mungkin tidak konsisten dengan tingkat penyakit yang terlihat
4	<i>Necrotising Ulcerative Gingivitis (NUG)</i>	Ulserasi yang menyakitkan pada ujung papilla interdental. Jaringan nekrotik yang terlihat berwarna abu-abu dan timbul halitosis. Kondisi ini disebut necrotising ulcerative periodontitis (NUP) jika terdapat kehilangan perlekatan jaringan ikat dan kerusakan tulang.
5	Abses Periodontal	Infeksi pada kantung periodontal yang dapat menjadi akut atau kronis dan asimtomatik jika <i>draining</i> secara bebas.
6	Lesi Endo-Perio	Lesi mungkin independen atau menyatu dan sumber bakteri berasal baik dalam periodonsium atau sistem saluran akar.
7	<i>Gingival Enlargement</i>	Penebalan gingiva yang dapat terjadi sebagai respons terhadap iritasi yang disebabkan oleh plak

2.2 Periodontitis

Periodontitis lazim pada orang dewasa tetapi juga dapat terjadi pada anak-anak dan remaja. Jumlah kerusakan jaringan umumnya sepadan dengan tingkat plak gigi, pertahanan inang dan faktor risiko terkait.^[15] Periodontitis adalah salah satu penyakit yang paling banyak ditemukan dan ditandai oleh destruksi jaringan ikat dan dukungan tulang gigi setelah respons host inflamasi sekunder akibat infeksi oleh bakteri periodontal. Periodontitis parah, yang dapat menyebabkan kehilangan gigi, ditemukan 20% dari populasi paling dewasa di seluruh dunia. Anak-anak dan remaja dapat memiliki salah satu dari beberapa bentuk periodontitis seperti periodontitis agresif, periodontitis kronis, dan periodontitis sebagai manifestasi penyakit sistemik.^[18]

Periodontitis adalah inflamasi yang mengenai jaringan pendukung gigi, disebabkan oleh mikroorganisme dan dapat menyebabkan kerusakan yang progresif pada ligamen periodontal, tulang alveolar dan disertai dengan pembentukan poket. Periodontitis menyebabkan destruksi jaringan yang permanen yang dikarakteristikan dengan inflamasi kronis, migrasi epitelium penyatu ke apikal, kehilangan jaringan ikat dan kehilangan tulang alveolar.^[5]

Proses kerusakan jaringan periodontal pada periodontitis diawali akumulasi plak yang mengandung bakteri dan toksin yang bersifat patogenik. Interaksi antara bakteri dan plak dan produknya serta respon tubuh sel penjamu (*host*) memicu respon inflamasi yang dapat menyebabkan ulserasi pada gingiva, kerusakan jaringan ikat, kehilangan tulang alveolar hingga kehilangan gigi.^[19]

Periodontitis, yang diinduksi oleh bakteri, dapat didefinisikan sebagai penyakit inflamasi kronis yang diprakarsai oleh biofilm plak gigi dan diabadikan oleh respon

imun yang dideregulasi yang biasanya disertai dengan gingivitis dan mengakibatkan kerusakan permanen pada jaringan pendukung di sekelilingnya, termasuk tulang alveolar. Periodontitis umumnya didefinisikan sebagai suatu kondisi di mana jaringan pendukung gigi terdestruksi dan yang mengarah pada resesi gingiva, gingivitis, kehilangan tulang atau gigi alveolar pada tahap terakhir penyakit periodontal, selain hilangnya kolagen gingiva dan degradasi ligamen periodontal. Jaringan keras dan lunak rongga mulut dikolonisasi oleh biofilm bakteri yang tersusun oleh protein sel epitel, sisa makanan, enzim, ditambah berbagai jenis bakteri lain yang menyebabkan penyakit periodontal. Gingiva, periodontium, tulang alveolar, dan sementum adalah struktur yang memberikan dukungan pada gigi.^[14]

Setiap proses patologis yang mempengaruhi periodontum didefinisikan sebagai periodontitis. Untuk waktu yang lama, diperkirakan bahwa gingivitis dan penyakit periodontal muncul sebagai akibat penuaan jaringan periodontal yang menimbulkan inflamasi dan resesi tulang jaringan gingiva dan akhirnya kehilangan gigi. Namun, beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa ini bukan hanya penyakit yang diderita orang dewasa, tetapi juga sering muncul pada anak-anak.^[14]

2.2.1 Gambaran Klinis Periodontitis

Gambaran klinis dari periodontitis adalah terjadinya perubahan warna menjadi menjadi merah terang, disertai dengan pembengkakan margin. Perdarahan saat probing dan terjadi kedalaman probing ≥ 4 mm disebabkan oleh migrasi epitel penyatu ke apikal. Terjadi kehilangan tulang alveolar dan kegoyangan gigi.^[5]



Gambar 2.2 Gambaran Klinis Periodontitis.

2.2.2 Etiologi Periodontitis

Periodontitis adalah gangguan multifaktorial yang disebabkan oleh bakteri dan gangguan keseimbangan pejamu (*host*) dan parasit sehingga menyebabkan destruksi jaringan. Penyebab utama penyakit periodontal adalah adanya mikroorganisme yang berkolonisasi di dalam plak gigi. Plak gigi adalah substansi yang terstruktur, lunak, berwarna kuning, yang melekat pada permukaan gigi. Kandungan dari plak gigi adalah berbagai jenis mikroorganisme, khususnya bakteri sisanya adalah jamur, protozoa dan virus. Plak yang mengandung mikroorganisme patogenik ini berperan penting dalam menyebabkan dan memperparah infeksi periodontal. Peningkatan jumlah organisme Gram negatif di dalam plak subgingiva seperti *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia* dan *Treponema denticola* menginisiasi infeksi periodontal.^[5]

Sejumlah bukti eksperimental telah menunjukkan bahwa agen etiologi primer penyakit periodontal umumnya yaitu bakteri batang Gram-negatif yang meliputi *P. gingivalis*. Habitat utama *P. gingivalis* adalah sulkus subgingiva dari rongga mulut manusia. Bakteri periodontopatik ini ditemukan pada 85,75% sampel plak subgingiva dari pasien dengan periodontitis kronik. Bakteri oral dan terutama bakteri patogen, seperti *Porphyromonas gingivalis* memiliki faktor virulensi yang

besar, salah satunya adalah kemampuan untuk menembus permukaan intraoral yang keras. [7]

Penyebab periodontitis sekunder, yaitu kesehatan mulut yang jelek, perokok aktif, tingkat pendidikan dan status sosial ekonomi, usia, masa kehamilan, faktor genetic dan penyakit sistemik yang mengakibatkan kerusakan progresif pada jaringan periodontal, tulang alveolar disertai pembentukan poket, resesi atau keduanya. [20]

2.2.3 Faktor Risiko Periodontitis

Selain mikroorganisme patogen, faktor genetik dan lingkungan berkontribusi terhadap perkembangan penyakit ini. Risiko penyakit periodontal meningkat dengan beberapa faktor seperti merokok, penyakit sistemik, obat-obatan seperti steroid, antiepilepsi, obat-obatan untuk terapi kanker, penempatan *dental bridges* yang buruk, gigi berjejal, kekurangan gigi, kehamilan dan penggunaan kontrasepsi. Selain faktor-faktor ini, kondisi kesehatan yang memicu mekanisme pertahanan bakteri seperti human immunodeficiency virus (HIV), diabetes dan gangguan neutrofil dapat menyebabkan penyakit periodontal. [14]

Tabel 2.2 Faktor Risiko Periodontitis^[14]

No.	Faktor Risiko	Deskripsi
1	Mikroorganisme Oral	1) Lebih dari 500 spesies mikroba berbeda di dalam mulut. 2) Paling patogen adalah: <i>Tanerella forsythia</i> , <i>P. gingivalis</i> , <i>Treponema denticola</i> .
2	Genetik	Sindrom yang mempengaruhi fagosit, struktur epitel, jaringan ikat atau gigi seperti: Haim-Munk;

		Papillon Lefevre; Chédiak-Higashi; Ehlers-Danlos (tipe 4 & 8); Kindlers.
3	Tembakau dan Alkohol	<ol style="list-style-type: none"> 1) Perokok lebih mungkin mengembangkan periodontitis; 2) Memberikan efek negatif dalam respons terhadap perawatan periodontal dan intervensi bedah; 3) Hubungan antara konsumsi alkohol dan hilangnya dukungan jaringan periodontal.
4	HIV dan AIDS	<i>Necrotising Ulcerative Gingivitis</i> (NUG) dan periodontitis
5	Nutrisi	<ol style="list-style-type: none"> 1) Kekurangan vitamin C yang terkait dengan penyakit periodontal; 2) Noma (<i>Cancrum Oris</i>) lebih sering terjadi pada orang yang kekurangan gizi.
6	Osteoporosis	<ol style="list-style-type: none"> 1) Meningkatkan kerentanan terhadap penyakit periodontal; 2) Kehilangan perlekatan jaringan periodontal.
7	Diabetes	<ol style="list-style-type: none"> 1) Gangguan penyembuhan luka, respons monosit berlebihan terhadap antigen plak gigi, gangguan respons kemotaksis neutrofil; 2) Kerusakan jaringan lokal; 3) Kerusakan tulang progresif.

8	Stress	Stres emosional dan psikososial dapat menyebabkan penyakit periodontal, meskipun peran pastinya masih belum diketahui.
---	--------	--

2.2.4 Patomekanisme Periodontitis

Proses terjadinya periodontitis melibatkan mikroorganisme dalam plak gigi dan faktor kerentanan pejamu. Faktor yang meregulasi kerentanan pejamu berupa respon imun terhadap bakteri periodontopatogen.

Tahap awal perkembangan periodontitis adalah inflamasi pada gingiva sebagai respon terhadap serangan bakteri. Periodontitis dihubungkan dengan adanya plak subgingiva. Perluasan plak subgingiva ke dalam sulkus gingiva dapat mengganggu perlekatan bagian korona epitelium dari permukaan gigi. Mikroorganisme yang terdapat di dalam plak subgingiva seperti *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia* dan *Treponema denticola* akan mengaktifkan respon imun terhadap patogen periodontal dan endotoksin tersebut dengan merekrut neutrofil, makrofag dan limfosit ke sulkus gingiva untuk menjaga jaringan pejamu dan mengontrol perkembangan bakteri.^[5]

Faktor kerentanan pejamu sangat berperan dalam proses terjadinya periodontitis. Kerentanan pejamu dapat dipengaruhi oleh genetik, pengaruh lingkungan dan tingkah laku seperti merokok, stres dan diabetes. Respon pejamu yang tidak adekuat dalam menghancurkan bakteri dapat menyebabkan destruksi jaringan periodontal.

Tahap destruksi jaringan merupakan tahap transisi dari gingivitis ke periodontitis. Destruksi jaringan periodontal terjadi ketika terdapat gangguan pada

keseimbangan jumlah bakteri dengan respon pejamu, hal ini dapat terjadi akibat subjek sangat rentan terhadap infeksi periodontal atau subjek terinfeksi bakteri dalam jumlah yang besar. Sistem imun berusaha menjaga pejamu dari infeksi ini dengan mengaktifasi sel imun seperti neutrofil, makrofag dan limfosit untuk memerangi bakteri. Makrofag distimulasi untuk memproduksi sitokin matrix metalloproteinases (MMPs) dan prostaglandin E2 (PGE2). Sitokin MMPs dalam konsentrasi tinggi di jaringan akan memediasi destruksi matriks seluler gingiva, perlekatan serat kolagen pada apikal epitel penyatu dan ligamen periodontal. Sitokin PGE2 memediasi destruksi tulang dan menstimulasi osteoklas dalam jumlah besar untuk meresorpsi puncak tulang alveolar.

Kehilangan kolagen menyebabkan sel epitelium penyatu bagian apikal berproliferasi sepanjang akar gigi dan bagian korona dari epitelium penyatu terlepas dari akar gigi. Neutrofil menginvasi bagian korona epitelium penyatu dan memperbanyak jumlahnya. Jaringan akan kehilangan kesatuan dan terlepas dari permukaan gigi. Sulkus akan meluas secara apikal dan pada tahap ini sulkus gingiva akan berubah menjadi poket periodontal.^[5]

2.2.5 Perawatan Periodontitis

Periodontitis merupakan suatu penyakit infeksi pada jaringan pendukung gigi yang disebabkan oleh mikroorganisme dan terjadi kerusakan progresif pada jaringan periodontal. Faktor lokal yang mengakibatkan terjadinya penyakit jaringan periodontal yaitu karena adanya akumulasi plak bakteri atau bisa juga faktor sistemik yang merupakan faktor predisposisi ikut mempengaruhi reaksi jaringan terhadap iritasi lokal.^[21]

Perawatan utama terhadap penyakit periodontal dilakukan dengan menghilangkan faktor lokal dan pada kasus yang lebih berat perlu dilakukan tindakan bedah flap. Obat-obatan dapat digunakan dengan perawatan yang mencakup scalling dan root planning, tetapi tidak selalu efektif tindakan operasi. Bergantung pada sejauh mana penyakit ini berkembang, dokter gigi atau periodontis mungkin masih menyarankan perawatan bedah.^[22]

Perawatan yang dilakukan terdiri dari perawatan periodontal inisial, dimana pasien diberi edukasi dan motivasi mengenai cara menjaga kebersihan rongga mulut, skeling supragingiva dan subgingiva dilakukan untuk mengurangi patogen periodontal yang dijumpai pada plak gigi. Pemberian antibiotika sistemik (amoxicillin dan metronidazole) selama 8 hari.^[23]

Semenjak diketahui bahwa penyakit periodontal disebabkan oleh bakteri, maka perkembangan perawatan untuk menanggulangi penyakit periodontal mengarah pada strategi pengobatan dengan kemoterapi. Kemoterapi adalah istilah umum yang berkaitan dengan kemampuan substansi kimia secara aktif sehingga dapat memberikan efek terapi secara klinis. Kemoterapi dalam perawatan penyakit periodontal dikenal banyak macam, antara lain antiinflamasi, analgesik serta antimikroba.^[24]

2.2.5.1 Antibiotik

1. Prinsip kerja

Antimikroba adalah bahan kemoterapi yang bersifat membunuh mikroorganisme, sehingga berkurang jumlah mikroorganisme spesifik maupun non spesifik. Sedangkan antibiotika adalah salah satu jenis antimikroba yang

mempunyai kemampuan untuk membunuh maupun menghambat pertumbuhan mikroorganisme jenis lain.

Antibiotik salah satu kelompok agen antimikroba, yang juga terdiri dari bahan kimia antivirus, antijamur, dan antiparasit. Antibiotik dapat membunuh atau menekan bakteri hidup tetapi mereka tidak dapat menghilangkan kalkulus dan residu bakteri, yang secara tradisional dianggap sebagai bagian penting dari terapi periodontal.^[6] Berbagai data penelitian menyebutkan bahwa drug of choice untuk kasus perawatan penyakit periodontal yaitu pada golongan penicillin, metronidazole, tetrasiklin, dan klindamisin.^[25]

Antibiotik dikenal ada dua tipe, yaitu antibiotik yang bersifat bakterostatik dengan aktivitas menghambat perkembangan bakteri dan memungkinkan sistem kekebalan inangnya mengambil alih sel bakteri yang dihambat, contohnya tetrasiklin. Tipe kedua ialah antibiotik yang bersifat bakterisidal yang dapat membunuh bakteri dengan cara menghambat pembentukan dinding sel dan bersifat toksik pada sel bakteri.^[26]

Pemberian antibiotika dalam perawatan penyakit periodontal dapat dilakukan secara sistemik maupun lokal. Secara sistemik pemberian antibiotika menguntungkan karena melalui serum, obat didistribusikan ke seluruh jaringan tubuh termasuk dalam poket. Antibiotika yang diberikan secara sistemik harus dapat mencapai daerah sasaran penyakit periodontal (pocket). Oleh karenanya antibiotika yang diberikan secara sistemik harus mempunyai konsentrasi yang tinggi pada serum dan gingival crevicular fluid (GCF) serta dapat dipertahankan kadarnya sehingga menghasilkan efek terapi yang diinginkan.

Pemberian antibiotika secara sistemik juga menguntungkan bila dibandingkan dengan pemberian secara lokal. Melalui pemberian secara sistemik, bakteri pada sisi non dental (mukosa bukal, lidah, gingiva dan tonsil) dapat dihambat perkembangannya serta dibunuh. Dengan demikian dapat mengurangi resiko penyakit kambuhan akibat migrasi bakteri ke dalam poket.

Pemberian antibiotika secara sistemik juga mempunyai kerugian. Kerugian tersebut adalah kemungkinan timbulnya efek samping, diantaranya pusing, jantung berdebar serta gangguan pada gastrointestinal. Gangguan tersebut dapat bersifat ringan maupun parah. Bahkan keparahan akibat efek samping dapat melebihi penyakit yang dideritanya. Kerugian lain adalah berhubungan dengan keseimbangan flora normal. Perawatan penyakit dengan pemberian antibiotika secara sistemik, terutama yang berspektrum luas, dapat mempengaruhi keseimbangan mikroorganisme di tempat lain yang berakibat superinfeksi.^[25]

2. *Antimicrobial resistance*

Ketika digunakan secara tepat, antibiotik memberikan manfaat yang tidak perlu diragukan lagi. Namun bila dipakai atau diresepkan secara tidak tepat (*irrational prescribing*) dapat menimbulkan kerugian yang luas dari segi kesehatan, ekonomi bahkan untuk generasi mendatang. Munculnya kuman-kuman patogen yang kebal terhadap satu (*antimicrobial resistance*) atau beberapa jenis antibiotika tertentu (*multiple drug resistance*) sangat menyulitkan proses pengobatan.

Resistensi antibiotik dapat diklasifikasikan menjadi dua kelompok yaitu resistensi alami dan resistensi yang didapat. Resistensi alami merupakan sifat dari antibiotik yang memang kurang atau tidak aktif terhadap suatu bakteri dan

bersifat diturunkan. Contohnya *Pseudomonas aeruginosa* yang tidak pernah sensitif terhadap kloramfenikol serta 25% dari *Streptococcus pneumoniae* secara alami resisten terhadap antibiotik golongan makrolid (erythromycin, clarithromycin, dan azithromycin). Masalah resistensi ini dapat diprediksi, sehingga dalam pemberian antibiotik dapat dipilih antibiotik dengan cara kerja yang berbeda.

Resistensi yang didapat apabila bakteri tersebut sebelumnya sensitif terhadap suatu antibiotik kemudian berubah menjadi resisten. Ada 2 kemungkinan mekanisme terjadinya kejadian ini, yaitu karena adanya mutasi pada kromosom DNA bakteri atau terdapat materi genetik baru yang spesifik dapat menghambat mekanisme kerja antibiotik. Resistensi antibiotik yang didapat dapat bersifat relatif atau mutlak. Contoh dari resistensi yang didapat ialah *Pseudomonas aeruginosa* resisten terhadap ceftazidin, *Haemophilus influenzae* resisten terhadap imipenem dan ampisilin, *Pseudomonas aeruginosa* resisten terhadap ciprofloxacin.^[26]

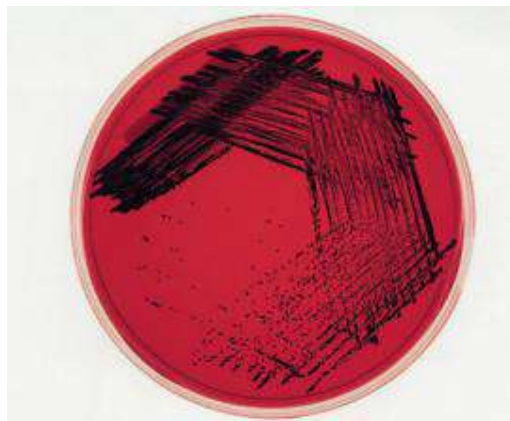
Pemakaian antibiotika lini pertama yang sudah tidak bermanfaat harus diganti dengan obat-obatan lini kedua atau bahkan lini ketiga. Hal ini jelas akan merugikan pasien, karena antibiotika lini kedua maupun lini ketiga masih sangat mahal harganya.^[8]

2.3 *Porphyromonas gingivalis*

Di antara patogen periodontal utama, *P. gingivalis* tampaknya menjadi salah satu agen etiologi utama dalam patogenesis dan perkembangan kejadian inflamasi penyakit periodontal.^[27] *Porphyromonas gingivalis* merupakan bakteri berpigmen hitam gram negatif obligat anaerob. Bakteri gram negatif memiliki lapisan-lapisan

dinding sel yang lebih kompleks dibandingkan bakteri gram positif baik secara struktur maupun kimianya. secara struktur, dinding bakteri gram negatif mengandung dua lapisan eksternal pada membran sitoplasma. dinding sel gram negatif mengandung tiga komponen yang terletak pada lapisan luar yaitu peptidoglikan, lipoprotein, membran luar dan lipopolisakarida.^[20]

Porphyromonas gingivalis sebelumnya bernama *Bacteroides gingivalis* sebelum klasifikasi ulang sebagai genus baru *Porphyromonas*. Nama *Porphyromonas* berasal dari kata sifat Yunani *porphyreos* yang berarti ungu dan kata benda Yunani *monas* yang berarti unit. Oleh karena itu, kata *Porphyromonas* berarti sel porfirin sebagai koloni pada lempeng agar darah yang akan berubah hitam setelah 6 sampai 10 hari karena akumulasi heme.



Gambar 2.3 Koloni hitam-berpigmen dari periodontopatogen *Porphyromonas gingivalis* pada agar darah^[39]

Habitat utama *P. gingivalis* adalah sulkus subgingiva dari rongga mulut manusia. Ini bergantung pada fermentasi asam amino untuk produksi energi dan diperlukan untuk kelangsungan hidupnya di dalam saku periodontal, di mana ketersediaan gula rendah. Sebagai bakteri obligate anaerob, *P. gingivalis* berfungsi sebagai koloni sekunder dari plak gigi, sering melekat untuk koloni primer seperti *Streptococcus gordonii* dan *P. intermedia*. Sebuah studi oleh Bodet et al.

menunjukkan bahwa bakteri asaccharolytic ini dikaitkan dengan *T. denticola* dan *T. forsythia* untuk membentuk kompleks bakteri merah yang sangat dikenal dalam lesi periodontal lanjut. Bukti tambahan untuk kehadiran *P. gingivalis* juga berasal dari studi imunologis. Kadar antibodi terhadap *P. gingivalis* lebih tinggi pada pasien yang didiagnosis dengan periodontitis dewasa.^[7]

Pengukuran morfologis *Porphyromonas gingivalis* merupakan bakteri yang menyebabkan resorpsi tulang alveolar adalah metode yang paling sering untuk mengidentifikasi resorpsi tulang dalam studi periodontal. Mikrobiota mukosa mulut manusia terdiri dari segudang spesies bakteri yang biasanya hidup dalam harmoni komersil dengan inang.^[28]

Secara garis besar faktor virulensi *P. gingivalis* dapat diklasifikasikan menjadi dua kategori. Pertama yang meningkatkan kolonisasi dan invasi bakteri ke dalam tubuh *host* seperti adhesin, kapsul, LPS dan sebagainya. Kedua adalah faktor virulensi yang sifatnya merusak sel *host*, yaitu endotoksin, enzim kolagenase, enzim proteolitik, dan induksi mediator peradangan.

Kontak langsung antar agen infeksius seperti *P. gingivalis* dengan sel *host* diawali dengan proses adhesi (perlekatan). Proses ini berperan penting untuk terjadinya kolonisasi, invasi sampai timbulnya suatu infeksi penyakit terutama pada area yang permukaan mukosanya selalu tercuci dengan cairan seperti permukaan mulut.

Adhesi bakteri pada sel *host* atau pada permukaan jaringan membutuhkan peranan dari dua faktor, yaitu adhesin pada bakteri dan reseptor pada permukaan sel. Molekul-molekul adhesin pada bakteri *P. gingivalis* terdapat pada hemagglutinin, *fimbriae* dan kapsul polisakarida. Sementara reseptor berupa residu

peptida dan karbohidrat spesifik pada permukaan sel. Saat bakteri masuk ke dalam tubuh *host*, terdapat persaingan antara terjadinya infeksi oleh bakteri atau eliminasi bakteri oleh *host*^[3]

2.4 Bandotan (*Ageratum Conyzoides L.*)

Ageratum conyzoides Linn atau bandotan banyak digunakan sebagai obat tradisional di daerah tropis dan sub-tropis, umumnya dikenal sebagai ‘Billy goat weeds’ karena pada batang dan daun tanaman tertutup sepenuhnya dengan rambut halus berwarna putih.^[29]

Ageratum conyzoides L. adalah tanaman herba kecil keluarga Asteraceae. Ini berbulu lembut, tegak, bercabang, gulma tahunan dengan tinggi hingga 80-90 cm. Ini adalah tanaman tropis yang digunakan di berbagai bagian Afrika, Asia dan Amerika Selatan untuk menyembuhkan berbagai penyakit. Batang dan daunnya ditutupi dengan rambut putih halus; daunnya bulat telur dan panjangnya sampai 7,5 cm. Bunganya berwarna ungu hingga putih, dengan lebar kurang dari 6 mm dan disusun dalam perbungaan terminal. Buahnya adalah achaene dan mudah disebarkan. Karena penyebarannya, ia menjadi gulma dan menyebabkan masalah bagi petani dan ahli ekologi. Seluruh bagian tanaman hanya digunakan untuk pengobatan dan memiliki sejarah panjang dalam pengobatan tradisional di berbagai negara.^[30]

Di Indonesia, *Ageratum conyzoides L.* digolongkan sebagai gulma sehingga sering dimusnahkan. *Ageratum conyzoides L.* merupakan salah satu tumbuhan herba yang banyak mendapat perhatian oleh para peneliti saat ini, karena *Ageratum conyzoides L.* merupakan tumbuhan yang tumbuh tersebar hampir di seluruh bagian

dunia. *Ageratum conyzoides* L. sudah sangat populer digunakan sebagai tumbuhan obat, meskipun aplikasinya berbeda di setiap daerah.^[9]

2.4.1 Taxonomical dan Organoleptic



Gambar 2.4 Tumbuhan Bandotan^[30]

1. Taxonomical Classification^[30]

- a. *Kingdom: Plantae*
- b. *Subkingdom: Angiosperm*
- c. *Class: Eudicots*
- d. *Order: Asterales*
- e. *Family: Asteraceae*
- f. *Genus: Ageratum*
- g. *Species: conyzoides*
- h. *Binomial name: Ageratum conyzoides Linn.*

2. Organoleptic

Tabel 2.3 Organoleptik Daun Bandotan^[31]

No.	Kondisi	<i>Fresh Leaves</i>
1	Warna	Hijau
2	Bau	Aromatik
3	Bentuk	Oval dan Triangular Oval

4	Dimensi	3-7,5 x 1,5-4,5 cm
5	Rasa	Sedikit pahit

2.4.2 Kandungan dan Manfaat

Ageratum conyzoides L. memiliki banyak senyawa fitokimia yang bermanfaat. Setelah dilakukan pengujian dari minyak essensial *Ageratum conyzoides* mengandung senyawa fitokimia seperti fenol, fenolik ester, kumarin. Senyawa yang banyak terisolasi adalah terpenoid, steroid, kromen, alkaloid pirolizidin, dan flavonoid. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Agbafor daun dan akar tanaman diketahui mengandung senyawa alkaloid, flavonoid tannin, saponin, glikosida jantung dan antrakuinon, mineral, vitamin serta senyawa lain yang memiliki aktivitas farmakologi.^[29]

Daun dan bunga *Ageratum conyzoides L.* mengandung senyawa saponin, flavonoid, polifenol, dan minyak atsiri. Senyawa fenol secara umum telah dikenal sebagai desinfektan yang digunakan untuk membunuh mikroorganisme patogen. Senyawa polifenol telah terbukti memiliki aktivitas antibakteri. Di samping itu, daunnya juga mengandung minyak atsiri dan terdapat pula kumarin.^[32]

Pada penelitian Martinus dan Verawati, Kadar flavonoid total dari ekstrak daun bandotan, yaitu untuk ekstrak total 2,898 mg/g, ekstrak polar 3,180 mg/g dan ekstrak non polar 0,258 mg/g. Aktivitas antioksidan dari ekstrak daun bandotan diperoleh ekstrak total 232,340 µg/mL, ekstrak polar 228,431 µg/mL dan dapat disimpulkan bahwa kadar flavonoid ekstrak polar yang lebih tinggi mempunyai aktivitas antioksidan yang tinggi juga dan kadar ekstrak non polar yang rendah mempunyai aktivitas antioksidan yang rendah juga.^[11]

Ageratum conyzoides L. diketahui memiliki efek antibakteri yang baik. Aktivitas antibakteri ditunjukkan oleh komponen AC-1 yang diisolasi dari daun *Ageratum conyzoides* L. Pada penelitian Mitra P, komponen AC-1 dari tanaman bandotan menunjukkan efek antibakteri terhadap 4 jenis bakteri gram negatif dan 4 jenis bakteri gram positif. Berdasarkan penelitian Odeleye, et al., ekstrak etanol *Ageratum conyzoides* L. memiliki efek antibakteri yang potensial untuk digunakan dalam pengobatan.^[32]

2.4.3 Toksisitas

Tanaman ini terbukti efektif melawan mikroorganisme luka septik (*S. aureus* dan *E. coli*). Itu juga telah ditemukan memiliki efek sitotoksik yang kuat mirip dengan vincristine. Sejumlah besar fenolat dan flavonoid hadir di tanaman mungkin bertanggung jawab atas aktivitas sitotoksik yang menjanjikan dan kemungkinan mekanisme sitotoksitas disebabkan oleh efek beracun pada mitosis sel. Sifat sitotoksik ini memerlukan tindakan pencegahan ketika tanaman sedang digunakan.^[33]

Penelitian Diallo, et al. mengenai studi toksisitas mulut akut dan sub-kronis (28 hari) ekstrak daun hydroalcohol dari *ageratum conyzoides* l denga hasil batas dosis 5.000 mg/ kg tidak menyebabkan kematian atau tanda-tanda toksisitas akut pada tikus yang diuji selama periode pengamatan. Dalam tes sub-kronis, hasilnya tidak menunjukkan kelainan terkait pengobatan dalam hal parameter hematologis dan biokimiawi.

Namun, urea secara signifikan ($p < 0,05$) lebih rendah pada kelompok yang diobati dengan 500 mg / kg ekstrak *A. conyzoides*. Berat badan mingguan dan organ tikus tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kontrol dan tikus yang

diobati dengan ekstrak kecuali untuk organ hati di mana ada peningkatan yang signifikan ($p < 0,05$) pada tikus yang menerima 1000 mg / kg, yaitu, $3 \pm 0,2$ g dibandingkan $2,5 \pm 0,1$ g untuk kontrol.^[34]

Bandotan juga memiliki senyawa bioaktif yang berfungsi sebagai insektisida dan nematisida. Kandungan senyawa bioaktif di antaranya saponin, flavanoid, polifenol, dan minyak atsiri yang mampu mencegah hama mendekati tumbuhan (penolak) dan penghambat pertumbuhan larva menjadi pupa. Penelitian Kinasih, dkk. mengenai pengaruh pestisida alami terhadap hewan non target dilakukan dengan menguji toksisitas ekstrak daun *A. conyzoides* terhadap organisme non-target yaitu ikan mas (*Cyprinus carpio* Linn).

Hasil uji lanjut menunjukkan bahwa nilai LC50 dari ekstrak daun *A. conyzoides* adalah 32, 012 gr/L dan berada pada rentang 29,239-34,984 mg/L. Semakin tinggi konsentrasi yang dilarutkan pada media hidup ikan mas maka tingkat kelulusan hidup ikan mas akan semakin rendah.^[35]

2.5 Metode Pengujian Antibakteri

2.5.1 Metode Difusi

Prinsip antibiotik akan terdistribusi ke dalam media. Disebut juga *disk-diffusion method* atau *Kirby-Bauer test*. Disk antibiotik diletakkan pada permukaan media agar yang telah dinokulasi secara perataan, diinkubasi dan diamati terbentuknya zona hambatan. Efektivitas antibiotik terhadap sifat mikroorganisme (*sensitive, intermediate, atau resistant*) diketahui dan dirujuk pada tabel.^[36]

Ukuran zona hambatan dapat dipengaruhi oleh kepadatan atau viskositas media biakan, kecepatan difusi antibiotik, konsentrasi antibiotik, dan interaksi antibiotik dengan media. Selain itu, suatu zat yang ditemukan mempunyai efek

samping signifikan tidak boleh digunakan untuk terapi karena zat ini mungkin juga mempunyai efek samping signifikan pada sistem yang diobati.^[37]

Metode cakram difusi mewakili prosedur sederhana untuk menyelidiki zat dalam menentukan apakah zat tersebut signifikan dan menyerupai aktivitas antibiotik yang berguna. Modifikasi metode difusi yaitu *E-test*. Test ini dapat mendeterminasi sensitivitas antibiotik dan estimasi MIC/ *Minimal Inhibitory Concentration* = KHM / Konsentrasi Hambat Minimal, yaitu konsentrasi terendah antibiotik yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri secara visual. Plastik strip ditempatkan pada permukaan plate agar dan diukur tingkatan/gradient zona hambatan. Kelemahan metode difusi yaitu tidak dapat menentukan efek bakterisidal suatu antibiotik.^[36]

2.5.2 Metode Dilusi

Prinsipnya adalah seri pengenceran konsentrasi antibiotik. Dapat digunakan untuk menentukan MIC (*Minimal Inhibitory Concentration*) = KHM (Konsentrasi Hambat Minimal) dan MKC (*Minimal Killing Concentration*) = KBM (Konsentrasi Bunuh Minimal) suatu antibiotik. Diinokulasi suatu seri pengenceran antibiotik dalam tabung berisi media cair dan diinokulasi dengan bakteri uji lalu diamati tingkat kekeruhan/ pertumbuhan. Pengenceran tertinggi dari media cair yang jernih dinyatakan sebagai MIC, seangkan tabung yang jernih diinokulasi goresan pada media *plate agar*, diinkubasi dan diamati ada tidaknya pertumbuhan koloni pada permukaan media *plate agar*. Pengenceran tertinggi dari tabung yang jernih dan menunjukkan tidak ada pertumbuhan pada *plate agar* disebut sebagai MKC.^[36]

2.7 Metode Ekstraksi^[38]

2.7.1 Metode Maserasi

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industry. Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar.

Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun di sisi lain, metode maserasi dapat menghindari rusaknya sen-yawa-senyawa yang bersifat termolabil.

2.7.2 *Ultrasound - Assisted Solvent Extraction*

Merupakan metode maserasi yang dimodifikasi dengan menggunakan bantuan *ultrasound* (sinyal dengan frekuensi tinggi, 20 kHz). Wadah yang berisi serbuk sampel ditempatkan dalam wadah *ultra-sonic* dan *ultrasound*. Hal ini dilakukan untuk memberikan tekanan mekanik pada sel hingga menghasilkan rongga pada sampel. Kerusakan sel dapat menyebabkan peningkatan kelarutan senyawa dalam pelarut dan meningkatkan hasil ekstraksi.

2.7.3 Perkolasi

Pada metode perkolasi, serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya).

Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah. Kelebihan dari metode ini adalah sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Selain itu, metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan memakan banyak waktu.

2.7.4 Soxhlet

Metode ini dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel dalam sarung selulosa (dapat digunakan kertas saring) dalam klonsong yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam labu dan suhu penangas diatur di bawah suhu reflux. Keuntungan dari metode ini adalah proses ekstraksi yang kontinyu, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Kerugiannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus-menerus berada pada titik didih.

2.7.5 *Reflux* dan Destilasi Uap

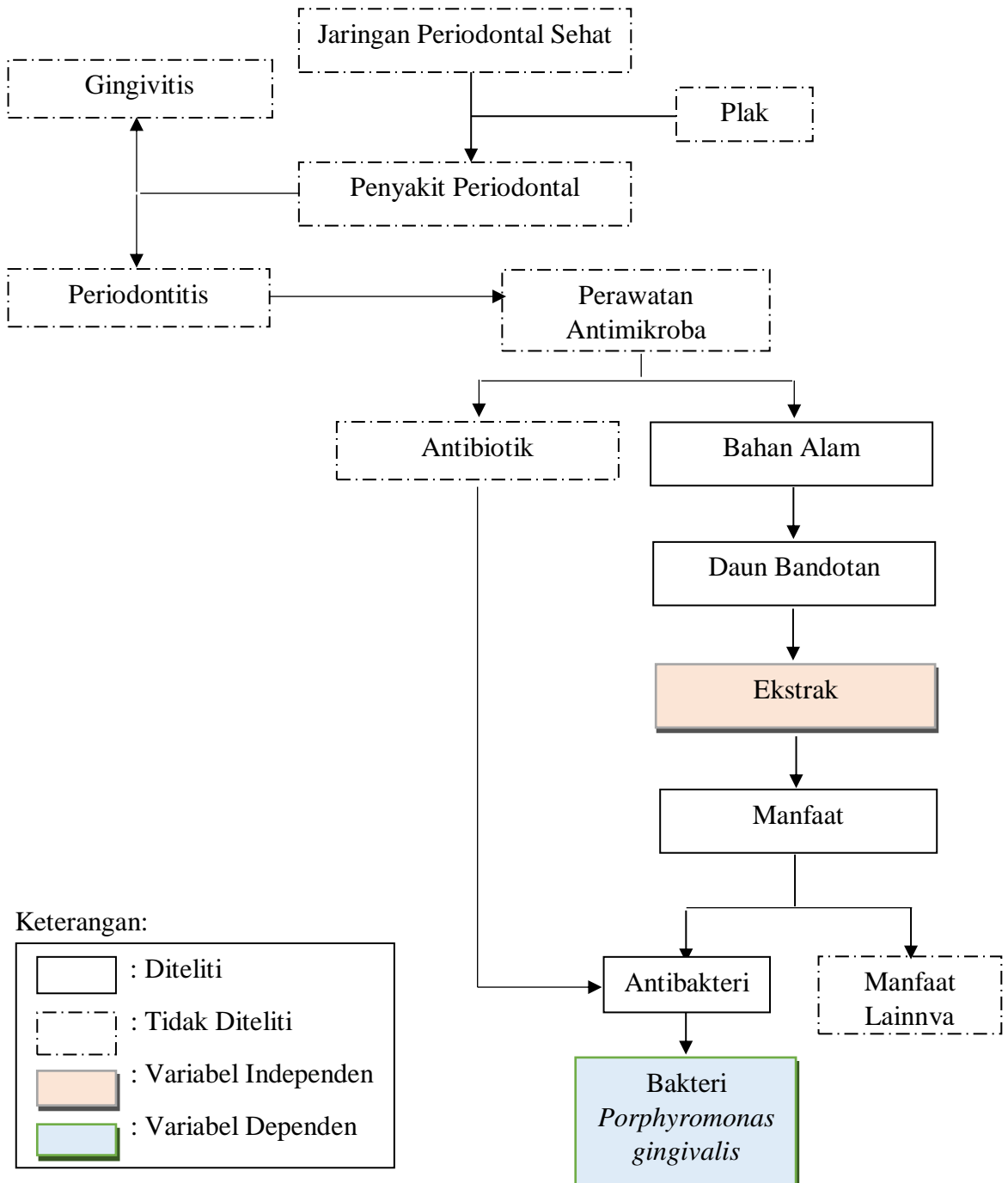
Pada metode reflux, sampel dimasukkan bersama pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap terkondensasi dan kembali ke dalam labu.

Destilasi uap memiliki proses yang sama dan biasanya digunakan untuk mengekstraksi minyak esensial (campuran berbagai senyawa menguap). Selama pemanasan, uap terkondensasi dan destilat (terpisah sebagai 2 bagian yang tidak saling bercampur) ditampung dalam wadah yang terhubung dengan kondensor. Kerugian dari kedua metode ini adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi.

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konsep

3.2 Hipotesis

Ekstrak daun tumbuhan bandotan (*Ageratum Conyzoides L.*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri penyebab periodontitis (*Porphyromonas gingivalis*).

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian eksperimental laborator

4.2 Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan yaitu *post test only control group desain* menggunakan metode dilusi dan *disk-diffusion method*.

4.3 Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Teknik Kimia Politeknik Negeri Ujung Pandang dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

4.4 Waktu Penelitian

Penelitian akan dilakukan pada bulan Maret – April 2020.

4.5 Variabel Penelitian

4.5.1 Variabel Bebas (*Independent Variable*)

Dalam penelitian ini variabel bebas adalah daun tumbuhan bandotan (*Ageratum Conyzoides L.*) mulai dari konsentrasi 15%, 25%, 50%, 75%, 100% .

4.5.2 Variabel Terikat (*Dependent Variable*)

Dalam penelitian ini variabel terikat yaitu Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) dan zona hambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*.

4.5.3 Variabel Kendali

Dalam penelitian ini variabel kendali yaitu waktu, medium kultur, dan suhu.

4.6 Definisi Operasional

4.6.1 Ekstrak daun tumbuhan bandotan (*Ageratum Conyzoides L.*)

Ekstrak daun tumbuhan bandotan (*Ageratum Conyzoides L.*) adalah ekstrak cair dari daun tumbuhan bandotan yang sudah dikeringkan dalam bentuk bongkahan melalui metode maserasi.

4.6.2 Daya Hambat

Kemampuan ekstrak daun tumbuhan bandotan (*Ageratum Conyzoides L.*) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* yang ditentukan dengan besar zona bening yang terbentuk disekeliling *paper disc* lalu diukur dengan menggunakan satuan millimeter jangka sorong.

4.6.3 Konsentrasi Hambat Minimal (KHM)

Konsentrasi minimal bahan coba yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri setelah diinkubasi 24 jam dan tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri secara makroskopik yang dapat dilihat dari hasil biakan pada tabung yang mulai berubah menjadi jernih.

4.6.4 Kontrol Positif

Antibiotik Metronidazole diletakkan pada media yang telah diinokulasi bakteri *Porphyromonas gingivalis*.

4.6.5 Kontrol Negatif

Aquades steril adalah variabel penelitian yang tidak memberikan dampak atau efek setelah diberikan perlakuan.

4.7 Sampel Penelitian

Bakteri *Porphyromonas gingivalis* yang telah dibiakkan dan daun tumbuhan bandotan (*Ageratum Conyzoides L.*) yang telah di ekstrakkan dengan metode maserasi.

4.8 Kriteria Sampel

4.8.1 Kriteria Inklusi

1. Bakteri *Porphyromonas gingivalis* yang telah dibiakkan
2. Daun tumbuhan bandotan yang telah diekstrakkan dengan metode maserasi

4.8.2 Kriteria Eksklusi

1. Bakteri *Porphyromonas gingivalis* yang telah terkontaminasi
2. Medium agar yang terkontaminasi dan rusak sebelum pemakaian
3. Daun tumbuhan bandotan yang terkontaminasi dan rusak sebelum pemakaian

4.9 Besaran Sampel

Pada penelitian ini pengulangan sampel uji daya hambat dihitung menggunakan rumus Federer:

$$(t - 1)(n - 1) \geq 15$$

Keterangan:

t = jumlah

n = jumlah sampel

Dalam penelitian terdapat 7 kelompok

Kelompok 1 : Ekstrak Daun Bandotan 15%

Kelompok 2 : Ekstrak Daun Bandotan 25%

Kelompok 3 : Ekstrak Daun Bandotan 50%

Kelompok 4 : Ekstrak Daun Bandotan 75%

Kelompok 5 : Ekstrak Daun Bandotan 100%

Kelompok 6 : Metronidazole (Kontrol Positif)

Kelompok 7 : Aquades steril (Kontrol Negatif)

Cara perhitungan besar sampel:

$$t = 7 \text{ kelompok perlakuan} = (7-1)(n-1) \geq 15$$

$$6(n-1) \geq 15$$

$$6n - 6 \geq 15$$

$$6n \geq 15+6$$

$$6n \geq 21$$

$$n \geq 21 / 6$$

$$n = 3,5 = 4$$

4.10 Alat dan Bahan Penelitian

4.10.1 Alat Penelitian

- | | |
|---------------------------|---------------------|
| 1. Timbangan analitik | 10. Gelas ukur |
| 2. Tabung reaksi | 11. Inkubator |
| 3. Rak tabung reaksi | 12. Autoklaf |
| 4. Toples kaca | 13. Pinset |
| 5. Alat rotary evaporator | 14. Bunsen |
| 6. Cawan petri | 15. Kertas saring |
| 7. Mikropipet | 16. Labu Erlenmeyer |
| 8. Paper disk | 17. Spoit 1 ml |
| 9. Jangka sorong | 18. Kertas label |

- | | |
|--------------------------|----------------|
| 19. Corong | 21. Botol vial |
| 20. Handscoon dan masker | 22. Handuk GM |

4.10.2 Bahan Penelitian

- | | |
|--|---|
| 1. Isolat bakteri
<i>Porphyromonas</i>
<i>gingivalis</i> | 5. Media <i>Brain Heart</i>
<i>Infusion Broth</i> (BHIB) |
| 2. Daun Bandotan | 6. Spiritus |
| 3. Metronidazole | 7. Etanol 96% |
| 4. Medium <i>Muller Hinton</i>
<i>Agar</i> (MHA) | 8. Aluminium foil |
| | 9. Aquades steril |

4.11 Prosedur Penelitian

4.11.1 Prosedur Sterilisasi Alat

1. Cawan petri dibungkus dengan aluminium foil
2. Labu erlenmeyer diisi akuades sebanyak 250 ml lalu ditutup dengan kapas yang sudah dipadatkan.
3. Semua alat disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

4.11.2 Prosedur Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak daun bandotan dilakukan dengan menggunakan metode maserasi dan rotavapor. Daun bandotan yang diperoleh dari pasaran dipecah menjadi potongan-potongan kecil kemudian ditimbang sebanyak 300 g. Labu erlenmeyer dicuci dan disterilkan dengan etanol, kemudian daun bandotan yang telah ditimbang dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer serta ditambahkan etanol 1 L, setelah itu disimpan selama 1 pekan. Selama disimpan, aduk 2 kali dalam 1 hari.

Setelah disimpan, lakukan 2 kali penyaringan lalu didapatkan 1500 ml hasil dalam penyaringan daun bandotan. Daun bandotan yang telah dimaserasi disaring

dan kemudian dirotavapor dengan temperatur 60°C selama \pm 1 jam sampai diperoleh ekstrak kentalnya. Setelah itu, didiamkan selama 2 jam sehingga ekstraknya kering.

4.11.3 Pembuatan Ekstrak Daun Bandotan dengan Berbagai Konsentrasi

Ekstrak daun bandotan ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik masing-masing ditimbang sebanyak 0,75 g; 1,25 g; 2,5 g; 3,75 g; 5 g dengan rumus pengenceran:

$$Konsentrasi = \frac{\text{Massa}}{\text{Volume}}$$

Ekstrak daun bandotan yang telah ditimbang tersebut kemudian dilarutkan dengan 5 mL larutan DMSO 10% sehingga didapatkan konsentrasi 15%; 25%; 50%; 75%; 100%. Kemudian konsentrasi ekstrak daun bandotan dimasukkan ke dalam botol vial dan diberi label sesuai konsentrasinya.

4.11.4 Persiapan Suspensi Bakteri *Porphyromonas gingivalis*

Biakan murni *Porphyromonas gingivalis* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Suspensi bakteri dibuat dalam tabung reaksi yang berisi NaCL 9% dengan cara menyatarakan kekeruhannya dengan Mc. Farlands 0,5% .

4.11.5 Penentuan Kadar Hambat Minimal (KHM) Bakteri *Porphyromonas gingivalis*

1. Sebanyak tujuh buah tabung reaksi disiapkan dan diisi dengan medium BHIB sebanyak 5 mL.
2. Kemudian 0,02 mL bakteri *Porphyromonas gingivalis* dimasukkan pada tiap tabung.

3. Setelah itu, pada tabung masing-masing dimasukkan ekstrak daun bandotan 15%, 25%, 50%, 75%, 100% sebanyak 5 mL, satu tabung berikutnya dimasukkan kontrol positif Antibiotik (Metronidazole) sebanyak 5 mL, dan satu tabung lagi diisi dengan aquades steril sebagai kontrol negatif.
4. Semua tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam kemudian dilakukan pemeriksaan ada tidaknya pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* yang ditandai dengan terjadinya kekeruhan dalam tabung.
5. Konsentrasi Hambat Minimal ditentukan dengan memperhatikan konsentrasi pertama yang terlihat jernih. Tabung yang terlihat keruh menunjukkan masih adanya pertumbuhan bakteri.
6. Setelah menentukan KHM, siap dilakukan uji daya hambat di cawan petri dengan menggunakan *paper disc*.

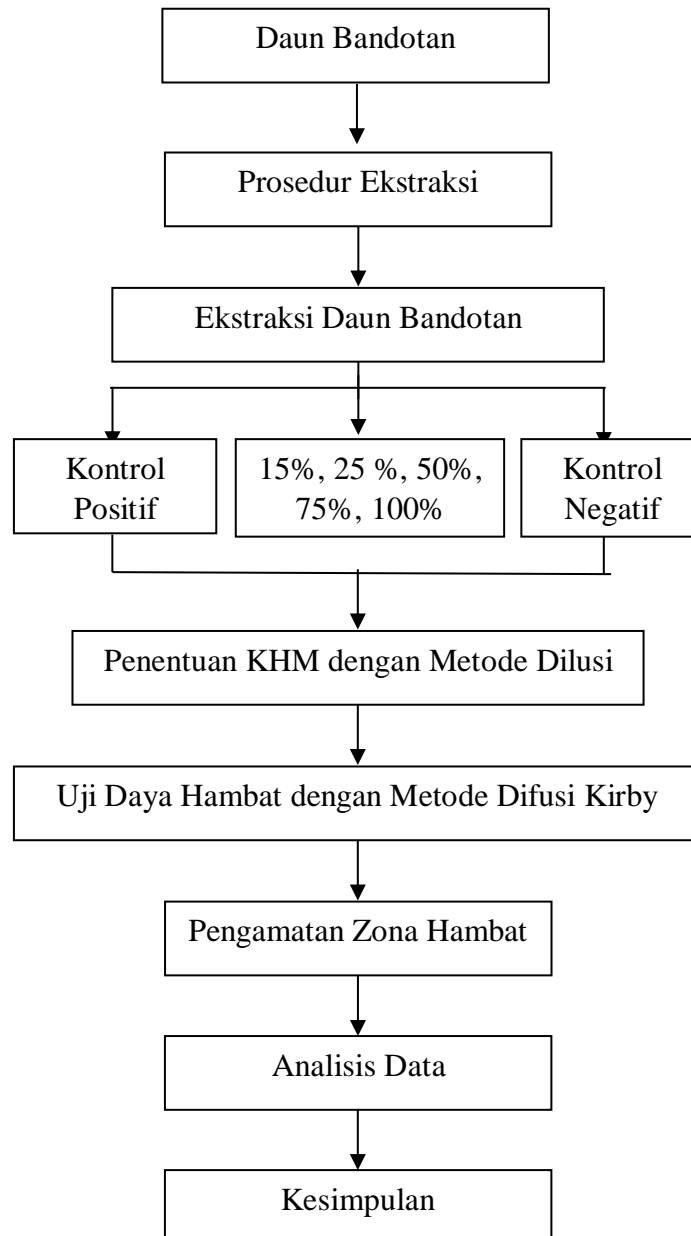
4.11.6 Uji Aktifitas Antibakteri

Pengujian dilakukan dengan *disk-diffusion method* atau metode difusi Kirby-Bauer menggunakan cakram. Pada media yang telah padat disebarkan bakteri sebanyak 0,02 mL yang telah disesuaikan dengan standar 0,5 Mc Farland secara merata dengan menggunakan batang penyebar. Media MHA pertama dibagi menjadi tujuh bagian yang masing-masing diletakkan cakram yang berisi ekstrak daun bandotan, metronidazole, dan kontrol negatif. Perlakuan dilakukan hingga empat kali. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24jam dan diamati pertumbuhan bakteri. Panjang zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong dalam satuan milimeter.

4.12 Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif dan ditampilkan dalam bentuk tabel dan gambar. Analisis hasil data penelitian dilakukan dengan uji *One Way Anova* menggunakan aplikasi *Statistical Package for the Social Sciences (SPSS)*.

4.13 Alur Penelitian



Gambar 4.1 Alur Penelitian