

**POTENSI ANTIBAKTERI DAN ANTIBIOFILM KOMBINASI
SEFADROKSIL DENGAN EKSTRAK ETANOL DAUN *ANREDERA
CORDIFOLIA* TERHADAP *PORPHYROMONAS GINGIVALIS***

Mulyani C¹, Natassya P², Santosa DN²

¹Mahasiswa Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Trisakti, Jakarta, 11440, Indonesia

²Departemen Biologi Oral, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Trisakti, Jakarta, 11440, Indonesia

Corresponding author: didi.nugroho@trisakti.ac.id

Abstrak

Proses inflamasi kronis oleh bakteri penyebab periodontitis dapat berdampak serius jika tidak ditangani dengan tepat. *Porphyromonas gingivalis* merupakan bakteri utama yang berkontribusi pada periodontitis kronis. Terapi antibiotik sering digunakan untuk mengatasi penyakit periodontal, tetapi penggunaannya yang berlebihan dan tidak tepat dapat memicu resistensi antibiotik. Kombinasi antibiotik dengan ekstrak bahan alam menjadi alternatif untuk meningkatkan efektivitas antibiotik. Daun binahong (*Anredera cordifolia*) memiliki sifat antibakteri karena kandungan senyawa metabolit sekundernya, seperti flavonoid, saponin, dan triterpenoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dan antibiofilm kombinasi sefadroksil dan ekstrak etanol daun *A.cordifolia* terhadap *P.gingivalis*.

Penelitian ini berupa eksperimental laboratoris secara *in vitro* dengan rancangan *post-test-only control group design*. Penelitian diawali dengan uji fitokimia dan uji MBC sefadroksil terhadap *P.gingivalis*. Lalu uji antibakteri dilakukan dengan metode *plate count* dan uji antibiofilm dilakukan dengan metode *microtiter plate biofilm assay*. Sampel yang digunakan adalah kombinasi sefadroksil 1,2 µg/ml dengan ekstrak etanol daun *A.cordifolia* 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100%, sefadroksil 1,2 µg/ml, sefadroksil 2,4 µg/ml sebagai kontrol positif, dan akuades sebagai kontrol negatif.

Hasil MBC sefadroksil terhadap *P.gingivalis* adalah 2,4 µg/ml. Berdasarkan penelitian diketahui, kombinasi sefadroksil dengan ekstrak etanol daun *A.cordifolia* menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *P.gingivalis* pada konsentrasi 12,5% hingga 100%. Sedangkan, aktivitas antibiofilm bekerja paling optimal diamati pada masa inkubasi 3 jam.

Kesimpulan penelitian ini adalah kombinasi sefadroksil dengan ekstrak etanol daun *A.cordifolia* berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri dan pembentukan biofilm *P.gingivalis*.

Kata kunci: antibakteri, antibiofilm, ekstrak etanol daun *Anredera cordifolia*, *Porphyromonas gingivalis*, sefadroksil

**ANTIBACTERIAL AND ANTIBIOFILM POTENTIAL OF CEFADROXIL WITH
ETHANOL EXTRACT OF ANREDERA CORDIFOLIA AGAINST PORPHYROMONAS
GINGIVALIS**

Abstract

Periodontitis is a chronic inflammatory disease caused by bacterial infection, which can lead to severe consequences if untreated. Porphyromonas gingivalis is the primary bacterial pathogen contributing to chronic periodontitis. Antibiotic therapy is commonly used to manage periodontal disease, but excessive and improper use can lead to antibiotic resistance. Combining antibiotics with natural extracts has emerged as an alternative strategy to enhance their efficacy. Binahong (Anredera cordifolia) leaves possess antibacterial properties due to their secondary metabolites, including flavonoids, saponins, and triterpenoids.

This study aims to evaluate the antibacterial and antibiofilm activities of a combination of cefadroxil and ethanol extract from A.cordifolia leaves against P.gingivalis.

This in vitro laboratory based experimental study used a post-test only control group design. The research began with a phytochemical analysis and a MBC test of cefadroxil. The antibacterial activity was assessed using the plate count method, and antibiofilm activity was evaluated using the microtiter plate biofilm assay method. The samples included a combination of cefadroxil 1,2 µg/ml with A.cordifolia extract at concentrations of 6.25%, 12.5%, 25%, 50%, and 100%, cefadroxil 1,2 µg/ml, cefadroxil 2,4 µg/ml as the positive control, and aquades as the negative control.

Cefadroxil exhibited an MBC of 2,4 µg/ml against P.gingivalis. The combination of cefadroxil 1,2 µg/ml and A.cordifolia extract from 12.5% to 100% showed antibacterial activity against P.gingivalis. The most effective antibiofilm activity was observed at a 3-hour incubation period.

The conclusion is that the combination of cefadroxil and A.cordifolia extract has the potential to inhibit P.gingivalis growth and biofilm formation.

Keywords: *antibacterial, antibiofilm, cefadroxil, ethanol extract of Anredera cordifolia leaves, Porphyromonas gingivalis*

Pendahuluan

Rongga mulut manusia merupakan rumah bagi berbagai mikroorganisme.¹ Ketidakseimbangan flora akan memicu penyakit rongga mulut seperti karies gigi dan periodontitis.² Perilaku menyikat gigi yang tidak tepat dan kesadaran yang rendah akan kunjungan ke dokter gigi menyumbang permasalahan kesehatan gigi dan mulut yang tergolong tinggi di Indonesia.^{3,4} Laporan Riset Kesehatan Dasar Indonesia tahun 2018 menyatakan bahwa proporsi terbesar masalah penyakit rongga mulut adalah karies dan periodontitis. Prevalensi periodontitis mencapai 74,1% dan menjadi permasalahan utama di negara berkembang.^{5,6}

Proses inflamasi kronis dari bakteri penyebab penyakit periodontitis berdampak pada jaringan pendukung gigi seperti gingiva, tulang alveolar, ligamen periodontal, dan sementum.^{6,7} Patogen utama yang berkontribusi dalam periodontitis kronis adalah *Porphyromonas gingivalis* dan *Prevotella intermedia*.⁸ *Porphyromonas gingivalis* merupakan bakteri Gram negatif yang memproduksi beberapa faktor virulensi seperti *lipopolysaccharide*, *fimbria*, *gingipain*.^{9,10}

Perawatan awal penyakit periodontal adalah terapi etiotropik yang berperan untuk menghilangkan faktor etiologi mikroba. Tahap ini meliputi tindakan kontrol plak, skeling dan penghalusan akar. Terapi tambahan dalam fase ini adalah penggunaan antibiotik.¹¹ Sefadroksil merupakan salah satu antibiotik yang digunakan dalam pengobatan infeksi odontogenik periodontal. Antibiotik ini termasuk dalam kelompok sefalosporin generasi pertama dan memiliki mekanisme kerja menghambat sintesis dinding sel bakteri.^{11,12}

Konsumsi antibiotik yang berlebihan dalam jangka panjang dan tidak sesuai dengan indikasi menyebabkan resistensi antibiotik. Kombinasi antibiotik dengan ekstrak bahan alam menjadi salah satu pertimbangan untuk meningkatkan efektivitas antibiotik.^{13,14} Daun *Anredera cordifolia* (binahong) merupakan tanaman herbal yang telah digunakan dalam pengobatan tradisional seperti mempercepat penyembuhan luka, agen antioksidan, dan meningkatkan daya tahan tubuh. Kemudahan dalam penanaman dan perawatan daun *A.cordifolia* menjadikannya berpotensi untuk dimanfaatkan secara luas oleh masyarakat. Senyawa metabolit sekunder yang dikandung dalam daun *A.cordifolia* seperti flavonoid, tanin, alkaloid, dan saponin.¹⁵ Sebagai antibakteri, daun *A.cordifolia* telah terbukti efektif melawan berbagai jenis bakteri seperti *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus mutans*, dan *Staphylococcus aureus*.^{8,16,17}

Metode Penelitian

Penelitian berupa eksperimental laboratoris secara *in vitro* dengan rancangan penelitian *post-test only control group design* yang bertujuan untuk melihat efek antibakteri dan antibiofilm kombinasi ekstrak etanol daun *A.cordifolia* dan sefadroksil terhadap *Porphyromonas gingivalis*. Penelitian dilakukan di Laboratorium MiCORE Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Trisakti.

Sampel yang digunakan adalah biakan murni *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 dari Laboratorium MiCORE, serta ekstrak etanol daun *A.cordifolia* diperoleh dari BPSI-TROA. Variabel bebas pada penelitian ini adalah kombinasi sefadroksil (1/2 MBC) dan ekstrak etanol daun *A.cordifolia* dengan konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan

100%. Variabel tergantungnya adalah hambatan pertumbuhan dan pembentukan biofilm *P.gingivalis*. Alat dan bahan yang digunakan adalah inkubator, cawan petri, *microplate reader*, *microtube*, mikropipet, agar *bacteriological*, BHI-B, biakan *P. gingivalis* ATCC 33277, ekstrak etanol daun *A.cordifolia*, kristal violet, *phosphate buffer saline*, dan sefadroksil murni.

Metode penelitian ini terbagi menjadi 4 tahap yaitu persiapan, pengujian MBC sefadroksil terhadap *P.gingivalis*, pengujian efek antibakteri dengan metode *plate count*, serta pengujian efek antibiofilm dengan metode *microtiter plate biofilm assay*. Tahap persiapan terdiri dari pembuatan ekstrak dengan metode maserasi, larutan uji sefadroksil, media bakteri BHI-A dan BHI-B, suspensi *P.gingivalis*, serta uji fitokimia ekstrak oleh Laboratorium Biofarmaka.^{18,19}

Tahap kedua yaitu pengujian MBC sefadroksil terhadap *P.gingivalis*. Terdapat 6 kelompok pengujian terhadap *P.gingivalis* yaitu sefadroksil dengan konsentrasi 100µg/mL, 10µg/mL, 1µg/mL, 0,1µg/mL yang diencerkan dengan metode *ten fold serial dilution*, serta kontrol negatif berupa akuades. Konsentrasi agar yang bebas dari pertumbuhan koloni bakteri dinyatakan sebagai MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*). Konsentrasi agar dengan pertumbuhan bakteri yang paling sedikit pada agar merupakan MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*). Konsentrasi ½ MBC yang diperoleh akan digunakan pada tahap selanjutnya sebagai larutan uji.²⁰

Tahap ketiga yaitu pengujian efek antibakteri dengan metode *plate count*. Kelompok larutan uji yang dicampurkan dengan suspensi *P.gingivalis* antara lain sefadroksil dengan konsentrasi ½ MBC, sefadroksil (MBC) sebagai kontrol positif, akuades sebagai kontrol negatif, serta kelompok kombinasi sefadroksil ½ MBC dan ekstrak etanol daun *A.cordifolia* dengan konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100%. Sebanyak 50 µL dipindahkan ke dalam *96-well plates* menggunakan mikropipet dan diinkubasi dalam keadaan anaerob.²¹ Larutan uji tersebut kemudian diletakkan pada *microtube* sebanyak 10 µL dan diencerkan sebanyak 1.000 kali dengan PBS.²⁰ Hasil pengenceran sebanyak 5 µL digoreskan dengan jarum ose steril secara merata pada 3 kuadran cawan petri yang berisi media BHI- A, lalu diinkubasi selama 24 jam.²¹ Penghitungan jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada tiga kuadran menggunakan rumus total koloni bakteri.

Tahap keempat adalah pengujian efek antibiofilm dengan metode *microtiter plate biofilm assay*. Suspensi *P. gingivalis* sebanyak 200 µL diletakkan dalam sumuran *96-well plates* dan diinkubasi selama 48 jam. Supernatan yang terbentuk dipisahkan sehingga menyisakan selapis tipis biofilm pada permukaan sumuran dan dibilas dengan PBS sebanyak 2 kali. Setiap larutan uji akan dipaparkan pada 5 lubang sumuran dengan selapis biofilm dan 2 lubang sumuran tanpa biofilm. Inkubasi akan dilakukan dalam *anaerobic jar* pada suhu 37°C selama 1 jam, 3 jam, dan 24 jam. Sumuran dibilas dengan PBS sebanyak 2 kali, dikeringkan, dan dilewatkan di atas api untuk difiksasi. Pewarnaan kristal violet (0,05% w/v) dimasukkan sebanyak 200 µL pada setiap sumuran, lalu dibilas dengan PBS sebanyak 2 kali dan dikeringkan selama 15 menit. Selanjutnya ditambahkan larutan etanol 96% sebanyak 200 µL dengan menggunakan mikropipet. Intensitas pewarnaan kristal violet diukur menggunakan *microplate reader* dengan panjang gelombang 595 nm untuk mengetahui hambatan pembentukan biofilm yang terjadi.²²

Hasil

Data yang diperoleh akan diolah menggunakan program SPSS. Uji normalitas dilakukan menggunakan *Shapiro-Wilk*, dan jika data terdistribusi normal ($p > 0,05$) akan dilanjutkan dengan metode *One Way ANOVA* dan uji *Post Hoc Tuckey HSD* untuk mengetahui perbedaan signifikan pada kelompok uji ($p < 0,05$). Apabila data tidak terdistribusi normal, maka dilakukan uji *Kruskal-Wallis* dan uji *Mann-Whitney*.

Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun *Anredera cordifolia*

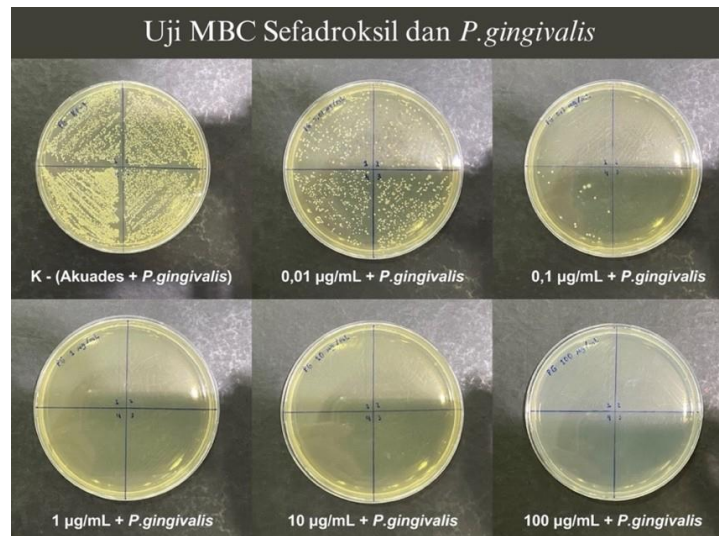
Ekstrak etanol daun *A.cordifolia* yang digunakan diuji fitokimia untuk mendeteksi kandungan senyawa aktifnya. Hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun *A.cordifolia* mengandung flavonoid, saponin, dan triterpenoid (Tabel 1).

Tabel 1 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun *A.cordifolia*

Ekstrak	Metabolit Sekunder	Hasil Pengujian	Metode Pengujian
Daun <i>Anredera</i> <i>cordifolia</i>	Flavonoid	+	Kualitatif
	Alkaloid	-	
	Tanin	-	
	Saponin	+	
	Quinon	-	
	Steroid	-	
	Triterpenoid	+	

Uji MBC Sefadroksil terhadap *P.gingivalis* ATCC 33227

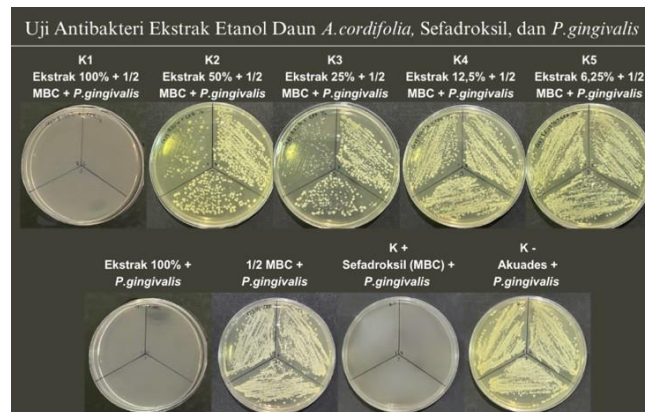
Pada pengujian MBC, jumlah koloni bakteri di cawan petri menunjukkan bahwa sefadroksil dengan konsentrasi 0,1 µg/mL menghambat pertumbuhan bakteri *P.gingivalis*, sedangkan pada sefadroksil dengan konsentrasi 1 µg/mL membunuh bakteri *P.gingivalis* (Gambar 1). Berdasarkan perhitungan kurva standar, maka MBC sefadroksil terhadap *P.gingivalis* adalah 2,4 µg/mL. Konsentrasi ½ MBC sefadroksil terhadap *P.gingivalis* yang digunakan pada kelompok perlakuan adalah 1,2 µg/mL.



Gambar 1. Hasil Uji MBC Sefadroksil Terhadap *P.gingivalis*

Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun *A.cordifolia* Terhadap *P.gingivalis* dengan Metode Plate Count

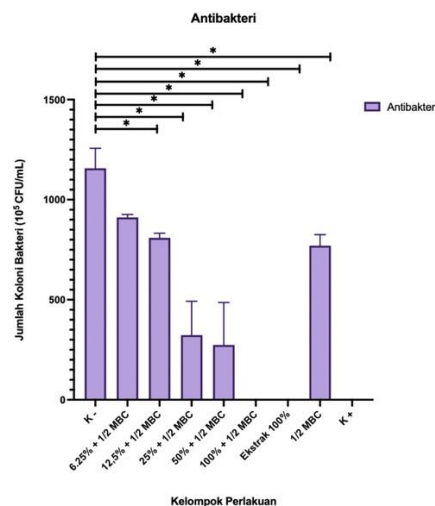
Hasil uji antibakteri menunjukkan adanya penurunan jumlah koloni bakteri *P.gingivalis* pada kelompok perlakuan yang diberikan sefadroksil 1,2 µg/mL dengan ekstrak etanol *A.cordifolia* konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100%, pada kelompok perlakuan ekstrak 100%, sefadroksil 1,2 µg/mL, serta kontrol positif ketika dibandingkan dengan kontrol negatif (Gambar 2).



Gambar 2 Hasil Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun *A. cordifolia* Terhadap *P.gingivalis*

Data uji antibakteri seluruhnya terdistribusi normal ($p > 0,05$), sehingga dilanjutkan dengan uji *one way* ANOVA dan ditemukan adanya perbedaan bermakna antar kelompok uji ($p < 0,05$). Pengujian dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tuckey HSD* yang menunjukkan adanya perbedaan bermakna pada kelompok perlakuan *P.gingivalis* yang diberikan ekstrak etanol *A.cordifolia* dengan konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, dan 100% yang dikombinasi dengan sefadroksil 1,2 $\mu\text{g/mL}$, ekstrak 100%, sefadroksil 1,2 $\mu\text{g/mL}$, dan kontrol positif terhadap kontrol negatif (Diagram 1 dan Tabel 2).

Diagram 1 Grafik Rata-Rata Hasil Uji Antibakteri



Tabel 2 Hasil Uji *Post Hoc* Antibakteri terhadap Kontrol Negatif dan Positif

	$\frac{1}{2}\text{MBC}$ +6,25%	$\frac{1}{2}\text{MBC}$ +12,5%	$\frac{1}{2}\text{MBC}$ +25%	$\frac{1}{2}\text{MBC}$ +50%	$\frac{1}{2}\text{MBC}$ +100%	E100%	$\frac{1}{2}\text{MBC}$
K(-)	0,119	0,010*	<0,001**	<0,001**	<0,001**	<0,001**	0,004*
K(+)	<0,001**	<0,001**	0,018*	0,061	1,000	1,000	<0,001**

* = perbedaan bermakna dengan nilai $p < 0,05$

** = perbedaan bermakna dengan nilai $p < 0,01$

Uji Antibiofilm Ekstrak Etanol Daun *A.cordifolia* Terhadap *P.gingivalis* dengan Metode *Microtiter Plate Biofilm assay*

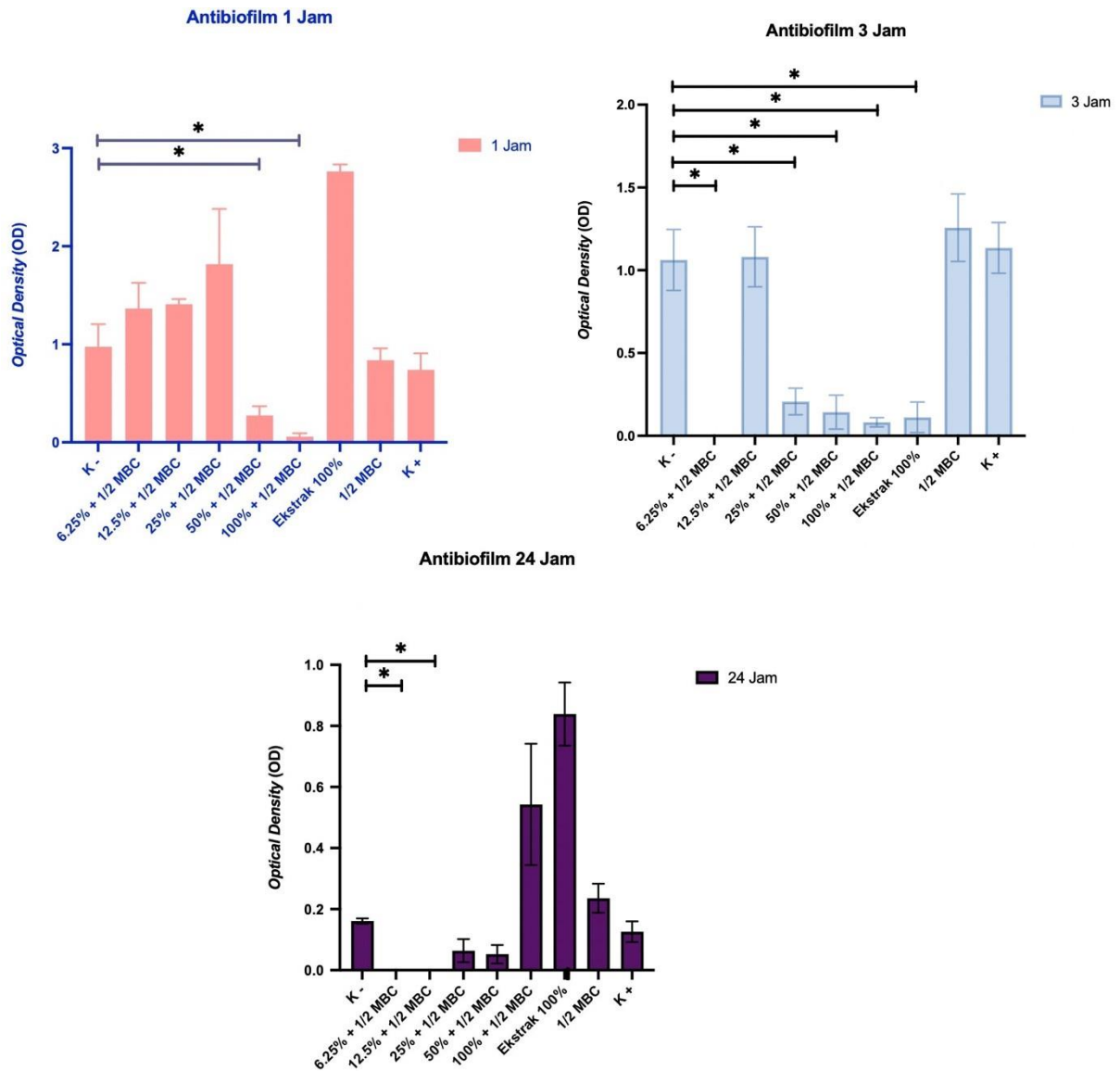
Pengujian antibiofilm ekstrak etanol daun *A.cordifolia* terhadap *P.gingivalis* diinkubasi selama 1 jam, 3 jam, dan 24 jam dengan metode *microtiter plate biofilm assay*. Nilai OD pada masa inkubasi 1 jam yang didapat seluruhnya terdistribusi normal ($p > 0,05$), sehingga dilanjutkan dengan uji *one way* ANOVA dan ditemukan adanya perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan ($p < 0,05$). Selanjutnya dilakukan uji *Post Hoc Tuckey HSD* dan hasilnya menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara kontrol

negatif dengan kelompok perlakuan sefadroksil 1,2 µg/mL yang dikombinasi dengan ekstrak etanol *A.cordifolia* dengan konsentrasi 25% ($1,8175 \pm 0,56348$), 50% ($0,2733 \pm 0,09494$), dan 100% ($0,0575 \pm 0,03531$), serta ekstrak 100% terhadap kontrol negatif (Diagram 2 dan Tabel 3).

Pada pengujian antibiofilm ekstrak etanol daun *A.cordifolia* terhadap *P.gingivalis* yang diinkubasi selama 3 jam, didapati bahwa data tidak terdistribusi normal ($p < 0,05$). Oleh karenanya, dilakukan uji *Kruskal-Wallis* dan ditemukan adanya perbedaan bermakna antara kelompok uji ($p \leq 0,05$), sehingga dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*. Berdasarkan pengujian tersebut, terdapat perbedaan bermakna antara kontrol negatif dan kelompok yang diberikan ekstrak etanol *A.cordifolia* dengan konsentrasi 6,25%, 25% ($0,2073 \pm 0,08038$), 50% ($0,1430 \pm 0,10260$), dan 100% ($0,0823 \pm 0,09254$) yang dikombinasi dengan sefadroksil 1,2 µg/mL, serta ekstrak 100% ($0,1120 \pm 0,09254$) (Diagram 2 dan Tabel 3).

Pada pengujian antibiofilm ekstrak etanol daun *A.cordifolia* terhadap *P.gingivalis* yang diinkubasi selama 24 jam, didapati bahwa data terdistribusi normal ($p > 0,05$). Oleh karenanya dilanjutkan dengan uji *one way ANOVA* dan ditemukan adanya perbedaan bermakna antara kelompok uji ($p < 0,05$), maka dilakukan dengan uji *Post Hoc Tuckey HSD*. Berdasarkan pengujian tersebut, terlihat adanya perbedaan bermakna antara kontrol negatif dan kelompok perlakuan ekstrak etanol *A.cordifolia* dengan konsentrasi 6,25% dan 12,5% yang dikombinasi dengan sefadroksil 1,2 µg/mL, serta ekstrak 100% ($0,83900 \pm 0,10329$) (Diagram 2 dan Tabel 3).

Diagram 2 Grafik Rata-Rata Nilai *Optical Density* Hasil Uji Antibiofilm Pada Masa Inkubasi 1, 3, dan 24 Jam



Tabel 3 Hasil Analisis Statistik Uji Antibiofilm Masa Inkubasi 1, 3, dan 24 Jam Terhadap Kontrol Negatif dan Positif

Kelompok Uji		1/2MBC +6,25%	1/2MBC +12,5%	1/2MBC +25%	1/2MBC +50%	1/2MBC +100%	1/2MBC E100%	1/2 MBC
K(-)	1 jam	0,354	0,233	<0,001**	0,007*	<0,001**	<0,001**	0,995
	3 jam	0,000*	1,000	0,021*	0,021*	0,021*	0,034*	0,149
	24 jam	0,000*	0,000*	0,772	0,674	<0,001**	<0,001**	0,917
K(+)	1 jam	0,020*	0,011*	<0,001**	0,163	0,009*	<0,001**	1,000
	3 jam	0,000*	0,564	0,021*	0,021*	0,021*	0,034*	0,149
	24 jam	0,000*	0,000*	0,964	0,923	<0,001**	<0,001**	0,663

* = perbedaan bermakna dengan nilai $p < 0,05$

** = perbedaan bermakna dengan nilai $p < 0,01$

Diskusi

Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun *Anredera cordifolia*

Hasil uji fitokimia secara kualitatif terhadap ekstrak etanol daun *A.cordifolia* pada penelitian ini menunjukkan hasil positif akan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin, dan triterpenoid. Flavonoid berfungsi sebagai antiinflamasi dan antioksidan yang bekerja dengan mengubah permeabilitas membran sel bakteri, menghambat sintesis asam nukleat dan metabolisme bakteri.²³ Saponin memiliki sifat antiseptik dengan memicu lisisnya sel bakteri dan menghambat adhesi bakteri. Triterpenoid memiliki sifat antibakteri dengan menghambat sintesis dinding sel dan merusak membran sel bakteri.^{24,25} Ekstrak daun binahong dengan air panas menghasilkan empat senyawa yaitu alkaloid, fenol, tanin, dan saponin.^{26,27} Perbedaan hasil uji fitokimia dapat disebabkan oleh beberapa faktor yaitu metode ekstraksi yang digunakan, cara penanaman, kondisi iklim, dan letak geografis tanaman.²⁸

Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun *A.cordifolia* Terhadap *P.gingivalis* dengan Metode *Plate Count*

Pengujian antibakteri menggunakan metode *plate count* menunjukkan adanya penurunan jumlah koloni bakteri *P.gingivalis* pada seluruh cawan petri, dimulai dari kelompok perlakuan dengan kombinasi sefadroksil 1,2 µg/mL dan ekstrak etanol daun *A.cordifolia* konsentrasi 100% hingga 6,25%. Pada pengujian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun *A.cordifolia* 100% serta kombinasi sefadroksil 1,2 µg/mL dan ekstrak etanol daun *A.cordifolia* konsentrasi 100%, dapat membunuh *P.gingivalis*.

Berdasarkan hasil analisis data, kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak etanol *A.cordifolia* dengan konsentrasi 12,5%, 25%, dan 50% yang dikombinasi dengan sefadroksil 1,2 µg/mL dapat menghambat pertumbuhan *P.gingivalis*. Hasil pertumbuhan dan ukuran koloni bakteri pada setiap kuadran yang beragam dapat diakibatkan oleh metode *streaking*, sterilisasi, dan tekanan pada *loop* yang tidak tersebar secara merata. Faktor lain yang dapat mempengaruhi adalah distribusi nutrisi yang bervariasi walaupun media terlihat seragam, perbedaan kelembapan pada permukaan media, dan mungkin terjadinya kontaminasi.²⁹

Berdasarkan pengujian antibakteri, kombinasi sefadroksil dan ekstrak etanol daun *A.cordifolia* menunjukkan efek sinergisme. Sinergisme adalah interaksi antara dua atau lebih zat yang menghasilkan efek gabungan melebihi efek masing-masing zat.³⁰ Hal ini terbukti pada uji antibakteri, kemampuan kombinasi sefadroksil 1,2 µg/mL dan ekstrak etanol daun *A.cordifolia* konsentrasi 50% dan 25% lebih baik dibandingkan kinerja sefadroksil 1,2 µg/mL.

Uji Antibiofilm Ekstrak Etanol Daun *A.cordifolia* Terhadap *P.gingivalis* dengan Metode *Microtiter Plate Biofilm assay*

Pengujian antibiofilm dalam penelitian ini menggunakan metode *microtiter plate biofilm assay*. Masa inkubasi pada pengujian ini adalah 1, 3, 24 jam untuk menggambarkan tahapan pembentukan biofilm. Fase ini diawali dengan terbentuknya pelikel pada 2 jam pertama, tahap adhesi awal pada 2 hingga 4 jam, dan tahap maturasi selama 24 jam.³¹ Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun *A.cordifolia* mulai menghambat pembentukan biofilm pada masa inkubasi 1 jam, dengan efek antibiofilm tertinggi ditemukan pada kelompok kombinasi sefadroksil 1,2 µg/mL dengan konsentrasi 100%, yang menghasilkan nilai OD sebesar 0,0575. Kemudian efek antibiofilm ditemukan juga pada kelompok kombinasi ekstrak konsentrasi 50% dengan sefadroksil 1,2 µg/mL, menunjukkan bahwa efek antibiofilm mulai bekerja pada tahap pembentukan pelikel.³¹ Pada kelompok ekstrak 100% memiliki hasil nilai OD sebesar 2,763, yang dapat disebabkan oleh adanya penyaringan tidak sempurna dan adanya serpihan daun pada ekstrak 100%.

Pada masa inkubasi 3 jam, ekstrak memberikan efek antibiofilm yang signifikan pada kelompok kombinasi ekstrak konsentrasi 100%, 50%, 25%, 6,25% dengan sefadroksil 1,2 µg/mL, serta kelompok ekstrak 100%, menunjukkan bahwa kelompok ini menghambat pembentukan biofilm pada tahap adhesi awal.³¹ Pada kelompok konsentrasi 12,5% memiliki nilai OD yang tinggi, karena kemungkinan adanya ketidaksempurnaan dalam proses uji seperti pencucian *plate* yang dapat meninggalkan residu.

Hasil pengujian pada masa inkubasi 24 jam, menunjukkan efek antibiofilm mengalami penurunan dibandingkan dengan masa inkubasi 1 dan 3 jam. Efek antibiofilm pada masa inkubasi 24 jam, dapat dilihat pada kelompok kombinasi sefadroksil 1,2 µg/mL dan ekstrak dengan konsentrasi 12,5% dan 6,25%.³² Pada masa inkubasi 24 jam, kelompok ekstrak 100% memiliki nilai OD yang tinggi seperti pada masa inkubasi 1 jam.³³

Efek antibiofilm kombinasi sefadroksil 1,2 µg/mL dengan ekstrak etanol daun *A.cordifolia* terhadap *P.gingivalis* bekerja paling efektif pada masa inkubasi 3 jam, dibuktikan adanya nilai OD yang rendah dan analisis yang berbeda bermakna pada kelompok kombinasi sefadroksil 1,2 µg/mL dengan ekstrak konsentrasi 100%, 50%, 25%, 6,25% serta kelompok ekstrak 100%. Berdasarkan hasil pengujian antibiofilm, kombinasi sefadroksil dan ekstrak etanol daun *A.cordifolia* menunjukkan efek potensiasi. Potensiasi menggambarkan suatu kondisi di mana efek dari suatu zat diperkuat oleh keberadaan zat lain, meskipun zat yang memperkuat tersebut mungkin tidak memiliki efek serupa ketika digunakan sendiri.³⁴ Hal ini dibuktikan bahwa seluruh kontrol positif memiliki nilai OD yang tinggi, sedangkan pada beberapa kelompok kombinasi sefadroksil dan ekstrak etanol daun *A.cordifolia* memiliki nilai OD yang rendah.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, terdapat efek antibakteri kombinasi sefadroksil dan ekstrak etanol daun *A.cordifolia* terhadap *P.gingivalis* bekerja mulai dari konsentrasi 12,5% sampai 100%, serta efek antibiofilm yang bekerja paling efektif pada masa inkubasi 3 jam. Kombinasi sefadroksil dan ekstrak etanol daun *A.cordifolia* disimpulkan memiliki efek sinergisme dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P.gingivalis*.

Referensi

1. Wasposito A, Adrianto D, Hartomo BT, Putri DA. Variasi Oral Microbiome Rongga Mulut sebagai Biomarker pada Bidang Kedokteran Gigi: Literature Review. JDI. 2022; 2(1):p.1-6.
2. Gao L, Xu T, Huang G, Jiang S, Gu Y, Chen F. Oral Microbiomes: More and More Importance in Oral Cavity and Whole Body, Protein and Cell. HEP. 2018; 9(5): p.488–500.
3. Maulanti T, Sulistyowati M, Laksono A. Oral Health Problem in Indonesia: An Ecological Analysis. Indian J Forensic Med Toxicol. 2021; 15(3): 1101–1107.
4. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia Badan Kebijakan Pembangunan Kesehatan. Survei Kesehatan Indonesia (SKI) Dalam Angka, Data Akurat Kebijakan Tepat; 2023.
5. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Laporan Nasional Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS); 2018.
6. Susanto A, Carolina D, Amaliya A, Setia Pribadi I, Miranda A. Periodontal Health Status and Treatment Needs of The Community in Indonesia: A Cross Sectional Study. J Int Oral Health. 2020; 12(2): 114–119.
7. Liccardo D, Cannavo A, Spagnuolo G, Ferrara N, Cittadini A, Rengo C, et al. Periodontal Disease: A Risk Factor For Diabetes and Cardiovascular Disease. Int J Mol Sci. 2019; 20(1): p.1–3.
8. Maharani ES, Puspitawati R, Gunawan HA. Antibacterial Effect of Binahong (Anredera Cordifolia (Ten.) Steenis) Leaf Infusion Against Black Pigmented Bacteria. Institute of Physics Publishing. J Phys Conf Ser. 2018; 1(1): p.1–6.

9. Rafiei M, Kiani F, Sayehmiri F, Sayehmiri K, Sheikhi A, Azodi MZ. Study of *Porphyromonas Gingivalis* in Periodontal Diseases: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Med J Islam Repub Iran*; 2017. p.1–7.
10. Fiorillo L, Cervino G, Laino L, D'Amico C, Mauceri R, Tozum TF, et al. *Porphyromonas Gingivalis*, Periodontal and Systemic Implications: A Systematic Review. *Dent. J.* 2019; 7(1): p.1–15.
11. Azouni KG, Tarakji B. The Trimeric Model: A New Model of Periodontal Treatment Planning. *J Clin and Diagn Res.* 2014; 8(1): p.17–20.
12. Ramu C, Padmanabhan T V. Indications of Antibiotic Prophylaxis in Dental Practice-Review. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2014; 2(9): 749–754.
13. Baran A, Kwiatkowska A, Potocki L. Antibiotics and Bacterial Resistance: A Short Story of an Endless Arms Race. *Int. J. Mol. Sci.* 2023; 24(1): p.1–34.
14. Ahmadi H, Ebrahimi A, Ahmadi F. Antibiotic Therapy in Dentistry: Review Article. *Int J Dent.* 2021; 1(1): 1–10.
15. Rahmasari GDW, Anashirul IN, Wabula MBM, Sadiq ALOS, Kartika AI. Antibakteri Kombinasi Ekstrak Binahong dengan Antibiotik Meropenem terhadap MDRPA Penyebab HAIs. *FIKK.* 2019; 1(1): 302–306.
16. Aruperes GY, Pangemanan DHC, Mintjelungan CN. Daya Hambat Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* Steenis) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans*. *SK Dirjen PRP KemenRistekdikti.* 2021; 9(2): 250–255.
17. Damayanti PS, Mariani R, Nuari DA. Studi Literatur: Aktivitas Antibakteri Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap *Staphylococcus aureus*. *J Pharm Sci Pract.* 2022; 9(1):42–48.
18. Soesanto S, Hepziba ER, Yasnill, Widyarman AS. The Antibacterial And Antibiofilm Effect Of Amoxicillin And *Mangifera indica* L. Leaves Extract on Oral Pathogens. *Contemp Clin Dent.* 2023; 14(2):145–151.
19. Priscila K, Nugroho DS. Efek Potensiasi Kombinasi Sefadroksil Dan Ekstrak *Camellia sinensis* Terhadap Pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* Dan *Porphyromonas gingivalis*. *J Ked Gigi Terpadu.* 2023; 5(1): 35–38.
20. Balouiri M, Sadiki M, Ibsouda SK. Methods for in vitro Evaluating Antimicrobial Activity: A review. *J Pharm Anal.* 2016; 6(1): 71–79.

21. Nurul A, Setiawan I, Yusa D, Trisna D, Halisa N, Putri O, et al. Tinjauan Artikel : Uji Mikrobiologi. J Farmasi. 2023; 12(2): 31–36.
22. Urip SK, Wardani TS, Listyani TA. Perbandingan Aktivitas Antibiofilm Ekstrak Biji Kopi Hijau dan Sangrai Kopi Robusta terhadap *Staphylococcus aureus*. PPTK. 2023; 6(2):172–181.
23. Shamsudin NF, Ahmed QU, Mahmood S, et al. Antibacterial Effects of Flavonoids and Their Structure Activity Relationship Study: A Comparative Interpretation. Molecules. 2022; 27(4): 1 – 43.
24. Khan MI, Ahhmed A, Shin JH, et al. Green Tea Seed Isolated Saponins Exerts Antibacterial Effects against Various Strains of Gram Positive and Gram Negative Bacteria, a Comprehensive Study In Vitro and In Vivo. Evid Based Complement Alternat Med. 2018; 1(1): 1–12.
25. Hasri, Anwar M, Karim M. Analisis Fenolik dan Daya Hambat Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (ten.) Steenis) Terhadap Bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus*. JIF. 2017; 1(1): 1 – 9.
26. Seran F, Jasmanindar Y, Salosso Y. Uji Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap bakteri *Vibrio alginolyticus* in vitro. J Aquatik. 2022; 5(1): 1–8.
27. Park S, Cho YK. Analysis of Microbial Growth under Different Environmental Conditions in a Controlled Laboratory Setting. Microb Ecol. 2015; 69(2): 325–332.
28. Hanifah, Tiara PA. Skrining Fitokimia Daun Binahong (*Anredera Cordifolia*) Dari Kabupaten Semarang Yang Diekstrak Menggunakan Pelarut Air. J Pertanian. 2022; 7(2): 99–103.
29. Sangadji T, Niwele A, Wally DIS. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Daun Mangkokan (*Nothopanax scutellarium* Merr.) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acne* dengan Menggunakan Metode Difusi Sumuran. JIKKI. 2022; 2(1): 145 – 152.
30. Baquero J, Blazquez J, Coque T. Synergistic Interactions of Antibiotics. JGAR. 2016; 7(1): 1 – 7.

31. Soesanto S, Hepziba ER, Yasnill, Widyarman AS. The Antibacterial And Antibiofilm Effect Of Amoxicillin And *Mangifera indica* L. Leaves Extract on Oral Pathogens. *Contemp Clin Dent*. 2023; 14(2):145–151.
32. Flemming HC, Wingender J, Szewzyk U, et all. Biofilms: An emergent form of bacterial life. *Nat Rev Microbiol*. 2016; 14(9): 563–575.
33. Fradine C, Rahmawati I, Saptarini O. Aktivitas Antibiofilm dan Antibakteri Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) Terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. *JHIS*. 2023; 8(3): 171–182.
34. Niu J, Straubinger RM, Mager DE. Pharmacodynamic Drug- Drug Interactions. *Clin Pharmacol Ther*. 2019; 105(6): 1395 – 1406.