

**UJI AKTIVITAS ANTIBIOFILM FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL
ASETAT DAN AIR DARI EKSTRAK ETANOL DAUN
ALAMANDA (*Allamanda cathartica* L.) TERHADAP
BAKTERI *Streptococcus mutans* ATCC 25175**



Oleh:

**Ismin Yulianti
22164951A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2019**

**UJI AKTIVITAS ANTIBIOFILM FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL
ASETAT DAN AIR DARI EKSTRAK ETANOL DAUN
ALAMANDA (*Allamanda cathartica* L.) TERHADAP
BAKTERI *Streptococcus mutans* ATCC 25175**



Oleh:

**Ismin Yulianti
22164951A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2019**

PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul :

UJI AKTIVITAS ANTIBIOFILM FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT DAN AIR DARI EKSTRAK ETANOL DAUN ALAMANDA (*Allamanda cathartica* L.) TERHADAP BAKTERI *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

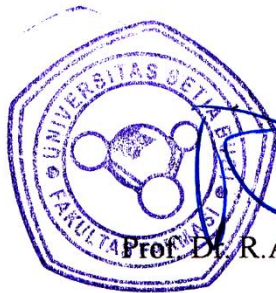
Oleh :

Ismi Yulianti

22164951A

Dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : Desember

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan,

Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt.

Pembimbing Utama

Dr. Ana Indrayati, M.Si.

Pembimbing pendamping

Mamik Ponco Rahayu, M.Si., Apt.

Penguji :

1. **Dr. Ismi Rahmawati, M.Si.**
2. **Fransiska Leviana, S.Farm, M.Sc., Apt**
3. **Destik Wulandari, S.Pd., M.Si.**
4. **Dr. Ana Indrayati, M.Si.**

1.
2.
3.

2.
4.

HALAMAN PERSEMBAHAN

“Manfaatkan waktu untuk menuntut ilmu, ilmu adalah kekayaan yang tidak akan berkurang. Harta bisa kebakaran dan banjir tetapi ilmu bisa dibawa kemana saja oleh pemiliknya” (Ustadz Noviardi Amrullah Hafizhahullah – dalam status fb-nya)

Skripsi ini penulis persembahkan untuk :

1. Yang paling utama Allah SWT yang telah mengizinkan menyelesaikan skripsi ini.
2. Kedua orang tua yang memberikan dan mengusahakan segalanya untuk anaknya ini.
3. Adek saya Welly yang masih kelas 4 SD.
4. Keluarga besar yang berada di Nganjuk.
5. Kedua pembimbing yang telah memberikan ilmu.
6. Teman-teman yang mengenal saya
7. Semua orang dan tempat serta waktu yang sudah menjadi saksi terselesaikannya skripsi ini.
8. Almamaterku.
9. Untuk Bastian terimakasih sudah ada dalam 2 tahun terakhir, semoga ucapan ini bisa kita baca kelak *bersama*. Amiin paling serius.
10. Terakhir untuk diri sendiri terimakasih sudah menjadi kuat, terimakasih sudah menjadi sabar, terimakasih mari kita berjuang lagi karena perjalanan yang sesungguhnya baru dimulai.

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian atau karya ilmiah atau skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, Desember 2019

A yellow postage stamp with the text "METERAI JEMPEL" at the top, a Garuda emblem in the center, and "6000" in large numbers at the bottom. The stamp also features the text "ENAM RIBU RUPIAH" and a unique alphanumeric code "5E2AHF191165690". A blue ink signature is written across the stamp, and the name "Ismi Yulianti" is printed to the right of the stamp.

Ismi Yulianti

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan kepada Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan skripsi yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIBIOFILM FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT DAN AIR DARI EKSTRAK ETANOL DAUN ALAMANDA (*Allamanda cathartica* L.) TERHADAP *Streptococcus mutans* ATCC 25175.”** ini dengan baik.

Adapun skripsi ini dibuat sebagai salah satu syarat untuk mencapai derajat Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta. Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat bagi seluruh masyarakat umum dan bagi ilmu pengetahuan bidang obat tradisional khususnya. Sebelum dan selama masa penelitian maupun selama penyusunan, banyak pihak yang turut membantu dalam penyelesaian skripsi ini. Maka pada kesempatan yang berharga ini penulis menyampaikan terimakasih yang sebesar besarnya kepada :

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA. selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt. Selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Dr. Ana Indrayati. M.Si. selaku pembimbing utama yang telah memberi dukungan, nasehat, petunjuk dan pengarahan sehingga penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan.
4. Mamik Ponco Rahayu. M.Si., Apt selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan bantuan, dorongan, nasehat, bimbingan, dan masukan yang maksimal kepada penulis demi kesempurnaan skripsi ini.
5. Tim penguji yang telah menyediakan waktu untuk menguji dan memberikan masukan untuk penyempurnaan skripsi ini.
6. Segenap Dosen, Asisten Dosen, Seluruh Staf Perpustakaan dan Staf Laboratorium, terimakasih atas bantuan dan kerjasamanya
7. Kedua orang tuaku tercinta atas do'a, kasih sayang, cinta, semangat dan dukungannya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

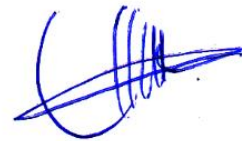
8. Teman-teman Teori 4 farmasi yang berjuang bersama, semangat buat langkah selajutnya
9. Segenap pihak yang tidak bisa disebutkan satu demi satu yang telah membantu penelitian.

Akhir kata penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna dikarenakan keterbatasan pengetahuan dan kemampuan yang penulis miliki. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun untuk memperbaiki skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pertimbangan ilmu pengetahuan khususnya dibidang farmasi.

Wabillahittaufik walhidayah wassalamu 'alaikum Wr. Wb.

Surakarta, Desember 2019

Penulis



Ismin Yulianti

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
INTISARI.....	xv
ABSTRACT	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Perumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Kegunaan Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Tanaman Alamanda	4
1. Sistematika tanaman	4
2. Nama lain.....	4
3. Morfologi tanaman	5
4. Kandungan kimia.....	5
4.1 Alkaloid.....	5
4.2 Flavonoid.....	5

4.3	Saponin.....	6
4.4	Tanin.....	6
4.5	Steroid.....	6
5.	Khasiat.....	6
B.	Simplisia.....	7
1.	Pengeringan Simplisia.....	7
2.	Cara Pembuatan.....	7
C.	Ekstraksi.....	7
1.	Pengertian ekstraksi.....	7
2.	Metode Maserasi.....	8
3.	Fraksinasi.....	8
4.	Pelarut.....	9
D.	Bakteri Uji.....	9
1.	Klasifikasi Streptococcus.....	9
2.	Karakteristik Bakteri.....	10
E.	Karies Gigi.....	10
1.	Definisi karies gigi.....	10
2.	Faktor penyebab karies gigi.....	10
2.1	Faktor <i>host</i>	11
2.2	Faktor agen.....	11
2.3	Faktor substrat.....	11
F.	Biofilm.....	12
1.	Definisi Biofilm.....	12
2.	Mekanisme pembentukan biofilm.....	12
3.	Struktur biofilm.....	14
4.	Faktor-faktor yang mempengaruhi perlekatan sel-sel bakteri dalam pembentukan biofilm.....	14
5.	Transfer gen.....	15
6.	Quorum sensing.....	15
7.	Pemeriksaan biofilm.....	15
8.	Faktor resistensi biofilm terhadap antibiotik.....	16
9.	Kontrol biofilm.....	16
G.	Landasan Teori.....	17
H.	Hipotesis.....	19
BAB III METODE PENELITIAN.....		20
A.	Populasi dan Sampel.....	20
B.	Variabel penelitian.....	20
1.	Identifikasi variabel utama.....	20
2.	Klasifikasi variabel utama.....	20
3.	Definisi operasional variabel utama.....	21
C.	Bahan dan Alat.....	21
1.	Bahan.....	21
1.1	Bahan sampel.....	21
1.2	Bakteri Uji.....	22
1.3	Bahan lain yang dibutuhkan.....	22

2.	Alat	22
D.	Jalannya Penelitian	22
1.	Determinasi tanaman	22
2.	Pengumpulan bahan.....	22
3.	Pengeringan dan pembuatan serbuk	22
4.	Penetapan susut pengeringan sebek daun alamanda	23
5.	Penetapan kadar air ekstrak daun alamanda	23
6.	Pembuatan ekstrak.....	23
7.	Fraksinasi	24
8.	Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak	24
8.1	Flavonoid.....	24
8.2	Tanin.....	24
8.3	Alkaloid.....	24
8.4	Saponin.....	24
8.5	Triterpenoid/steroid.....	25
9.	Identifikasi kandungan senyawa kimia dengan kromatografi lapis tipis	25
9.1	Identifikasi senyawa flavonoid.....	25
9.2	Identifikasi senyawa steroid.....	25
9.3	Identifikasi senyawa tanin.....	25
9.4	Identifikasi senyawa alkaloid.....	25
10.	Uji bebas alkohol ekstrak daun alamanda	25
11.	Inokulasi bakteri pada media BHI	26
12.	Pembuatan suspensi bakteri uji.....	26
12.1.	Identifikasi mikroskopis dengan pewarnaan Gram.....	26
12.2.	Uji Biokimia.....	26
12.3.	Uji Katalase.....	27
12.4	Uji Koagulase.....	27
13.	Pengujian aktivitas antibiofilm ekstrak daun alamanda (<i>A. cathartica</i> L.)	27
13.1	Penentuan panjang gelombang maksimum.....	27
13.2.	Evaluasi pembentukan biofilm <i>S. mutans</i> ATCC 25175	27
13.3	Uji aktivitas penghambatan biofilm <i>S. mutans</i> ATCC 25175 secara <i>In Vitro</i>	28
E.	Analisis Data.....	29
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN		33
A.	Hasil identifikasi Tanaman Alamanda.....	33
B.	Pengumpulan dan pengeringan sampel	33
C.	Pembuatan serbuk daun alamanda.....	34
D.	Hasil penetapan susut pengeringan.....	34
E.	Hasil penetapan kadar air ekstrak daun alamanda.....	35
F.	Hasil pembuatan ekstrak etanol daun alamanda.....	35
G.	Hasil uji bebas etanol ekstrak daun alamanda	36
H.	Hasil fraksinasi ekstrak daun alamanda.....	36

I.	Hasil identifikasi senyawa kimia ekstrak daun alamanda	38
J.	Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia dengan kromatografi lapis tipis	38
K.	Hasil identifikasi bakteri uji <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	39
1.1	Uji Identifikasi Mikroskopis.	39
1.2	Uji Biokimia.....	40
1.3	Uji Katalase.....	41
1.4	Uji Koagulase.....	41
L.	Uji aktivitas antibiofilm fraksi dan ekstrak etanol daun alamanda (<i>A. cathartica</i> L.)	42
1.1	Penentuan panjang gelombang maksimum.	42
1.2	Evaluasi pembentukan biofilm <i>S. mutans</i> ATCC 25175.....	43
1.3	Uji aktivitas penghambatan biofilm <i>S. mutans</i> ATCC 25175.....	44
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....		48
A.	Kesimpulan	48
B.	Saran	48
DAFTAR PUSTAKA		49
LAMPIRAN.....		54

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tanaman Alamanda (Sumber: Encyclopedia of Life 2019).....	4
Gambar 2. Proses pembentukan biofilm (Ranganathan 2014).....	12
Gambar 3. Skema pembuatan Ekstraksi dan Fraksinasi daun alamanda	30
Gambar 4. Skema optimasi dan evaluasi pembentukan biofilm	31
Gambar 5. Tata letak uji antibiofilm	31
Gambar 6. Penghambatan biofilm.....	32
Gambar 7. Hasil pewarnaan Gram <i>S. mutans</i> ATCC 25175	40
Gambar 8. Koloni pertumbuhan <i>S. mutans</i> ATCC 25175 pada media agar darah	41
Gambar 9. Hasil uji katalase	41
Gambar 10. Hasil uji koagulase <i>S. mutans</i> ATCC 25175	42
Gambar 11. Uji antibiofilm fraksi dan ekstrak dari ekstrak etanol daun alamanda terhadap <i>S. mutans</i> ATCC 25175.....	45

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Rendemen berat daun kering terhadap berat daun basah.....	33
Tabel 2. Rendemen berat serbuk terhadap berat daun kering	34
Tabel 3. Hasil penetapan kandungan lembab serbuk daun alamanda	35
Tabel 4. Hasil penetapan kadar air ekstrak daun alamanda	35
Tabel 5. Rendemen ekstrak etanol daun alamanda	36
Tabel 6. Uji bebas etanol ekstrak daun alamanda	36
Tabel 7. Rendemen hasil fraksinasi daun alamanda	37
Tabel 8. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak daun alamanda	38
Tabel 9. Hasil identifikasi senyawa ekstrak daun alamanda hijau secara KLT.	39
Tabel 10. Hasil penentuan panjang gelombang maksimum.....	43
Tabel 11. Evaluasi pembentukan biofilm.....	43
Tabel 12. Hasil uji penghambatan biofilm <i>S. mutans</i> ATCC 25175.....	45
Tabel 13. Hasil IC ₅₀ biofilm <i>S. mutans</i> ATCC 25175.....	46

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Determinasi tanaman alamanda (<i>A. Cathartica</i> L.).....	55
Lampiran 2. Gambar botol maserasi dan serbuk daun alamanda	56
Lampiran 3. Gambar kain flannel dan corong pisah.....	56
Lampiran 4. Gambar <i>microplate</i>	57
Lampiran 5. Gambar kristal violet dan alat <i>elisa reader</i>	57
Lampiran 6. Gambar koloni bakteri dan bakteri <i>S. mutans</i> ATCC 25175.....	58
Lampiran 7. Gambar media agar darah dan suspensi bakteri	58
Lampiran 8. Gambar hasil identifikasi serbuk,ekstrak dan fraksi daun alamanda.....	59
Lampiran 9. Hasil identifikasi senyawa kimia dengan kromatografi lapis tipis.	60
Lampiran 10. Perhitungan bobot kering terhadap bobot basah daun alamanda ...	61
Lampiran 11. Penetapan kadar air ekstrak daun alamanda.	61
Lampiran 12. Perhitungan rendemen ekstrak dan fraksi daun alamanda.....	62
Lampiran 13. Hasil uji biokimia	63
Lampiran 14. Hasil optimasi panjang gelombang maksimum biofilm <i>S. mutans</i> ATCC 25175.	63
Lampiran 15. Hasil optimasi pembentukan biofilm <i>S. mutans</i> ATCC 25175	63
Lampiran 16. Hasil uji aktivitas antibiofilm ekstrak dan fraksi daun alamanda terhadap biofilm <i>S. mutans</i> ATCC 25175.	64
Lampiran 17. Hasil Uji Statistik Aktivitas Penghambatan biofilm <i>S. Mutans</i> ATCC 25175. 66	
Lampiran 18. Pembuatan Larutan Sampel dan Pembuatan Media.	69

DAFTAR SINGKATAN

ATCC	American Type Culture Collection
DNA	Deoxyribonukleic Acid
RNA	Ribonukleic Acid
tRNA	Transfer RNA
mRNA	Messenger RNA
OD	Optical Density

INTISARI

YULIANTI, I. 2019. UJI AKTIVITAS ANTIBIOFILM FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT DAN AIR DARI EKSTRAK ETANOL DAUN ALAMANDA (*Allamanda cathartica* L.) TERHADAP BAKTERI *Streptococcus mutans* ATCC 25175, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI SURAKARTA.

Bakteri di rongga mulut dikaitkan dengan kesehatan mulut serta karies gigi. *Streptococcus* bergantung pada biofilm untuk bertahan hidup dan bertahan dalam rongga mulut. Faktor utama penyebab karies gigi adalah kolonisasi *S. mutans* pada biofilm gigi. Daun alamanda mengandung senyawa kimia flavonoid yang berpotensi menghambat *intercellular adhesion genes icaA* dan *icaD* yang merupakan salah satu faktor pembentukan biofilm. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibiofilm fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari ekstrak etanol daun alamanda terhadap bakteri *S. mutans* ATCC 25175.

Serbuk daun alamanda diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Ekstrak yang diperoleh difraksinasi dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat dan air. Ekstrak dan Fraksi diuji aktivitas antibiofilm terhadap bakteri *S. mutans* ATCC 25175 dengan metode *Microtiter Plate Biofilm Assay* menggunakan *microtiterplater flat-bottom polystyrene 96 wells* dilanjutkan dengan *microplate reader* pada $\lambda = 550$ nm. Konsentrasi yang digunakan adalah 2, 4, 6, dan 8 mg/mL. Analisis statistik dilakukan dengan menggunakan uji ANOVA dan dilanjutkan uji *posthoc*.

Hasil penelitian menunjukkan ekstrak dan fraksi dari ekstrak etanol daun alamanda memiliki aktivitas antibiofilm *S. mutans* ATCC 25175. Nilai IC₅₀ dari fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari ekstrak daun alamanda adalah 1,69; 1,38; 1,65; dan 1,90 mg/mL. Aktivitas penghambatan paling besar terhadap biofilm *S. mutans* ditunjukkan oleh fraksi etil asetat yang juga merupakan fraksi teraktif dengan nilai IC₅₀ 1,38 mg/mL.

Kata kunci : Alamanda, *S. mutans* ATCC 25175, Antibiofilm, IC₅₀

ABSTRACT

YULIANTI, I. 2019. TEST ACTIVITIES ANTIBIOFILM EXTRACT AND FRACTIONS OF ALAMANDA LEAVES (*Allamanda cathartica* L.) AGAINST *Streptococcus mutans* ATCC 25175, SKRIPSI, FACULTY OF FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Bacteria in the oral cavity are associated with oral health as well as dental caries. *Streptococcus* relies on biofilms to survive and survive in the oral cavity. The main factor causing dental caries is *S. mutans* colonization in dental biofilms. Alamanda leaves contain flavonoid chemicals which have the potential to inhibit the intercellular adhesion genes of *icaA* and *icaD*, which are one of the factors in biofilm formation. The aim of this study was to determine the antibiofilm activity of *n*-hexane, ethyl acetate and water fractions from ethanol extract of alamanda leaves against *S. mutans* ATCC 25175.

Alamanda leaf powder was extracted by maceration method using 96% ethanol solvent. The extract obtained was fractionated with *n*-hexane, ethyl acetate and water solvents. Extracts and fractions were tested for antibiofilm activity against *S. mutans* ATCC 25175 by the *Microtiter Plate Biofilm Assay* method using a *microtiterplater flat-bottom polystyrene 96 wells* followed by a *microplate reader* at $\lambda = 550$ nm. The concentrations used were 2, 4, 6, and 8 mg/mL. Statistical analysis was performed using the ANOVA test and continued with the *posthoc* test.

The results showed the extract and fraction of ethanol extract of Alamanda leaves could inhibit the formation of biofilm *S. mutans* ATCC 25175. IC₅₀ values of the *n*-hexane, ethyl acetate and water fractions from the extract of alamanda leaf were 1.69; 1.38; 1.65; and 1.90 mg/mL. The greatest inhibitory activity of *S. mutans* biofilms is shown by the ethyl acetate fraction which is also the most active fraction with an IC₅₀ value of 1.38 mg/mL.

Keywords : Alamanda, *S. mutans* ATCC 25175, Antibiofilm, IC₅₀

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Persentase penduduk yang mempunyai masalah gigi dan mulut menurut Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2007 dan 2013 meningkat dari 23,2% menjadi 25,9% (Kemenkes RI 2013). Masalah gigi yang biasanya ditemukan adalah karies gigi. Karies gigi dan gigi berlubang adalah suatu penyakit pada jaringan keras gigi yang ditandai oleh rusaknya email dan dentin, disebabkan oleh aktivitas metabolisme bakteri dalam plak yang menyebabkan terjadinya demineralisasi akibat interaksi antara produk mikroorganisme, ludah dan bagian yang berasal dari makanan dan email (Sri Ramayanti 2013).

Faktor yang menyebabkan terjadinya karies gigi antara lain adalah faktor keturunan, ras, jenis kelamin, umur, jenis makanan, frekuensi menyikat gigi yang benar, kebiasaan jelek dan pentingnya kontrol ke dokter, faktor host yaitu kekuatan dari permukaan gigi, adanya plak yang berisi bakteri, biasanya bakteri patogen yang kariogenik seperti *Streptococcus mutans* (Tarigan, 2012). Karies pada gigi dapat berkembang jika di dalam mulut terdapat bakteri yang menimbulkan karies. *S. mutans* merupakan mikroorganisme yang paling utama pada terjadinya karies dan banyak terdapat pada plak gigi. Bakteri ini membentuk tumpukan *Extracellular Polymeric Substance* (EPS) dimana EPS merupakan produk yang dihasilkan sendiri oleh mikroorganisme tersebut dan dapat melindungi dari pengaruh buruk lingkungan, yang disebut biofilm (Prakash, *et al.* 2003).

Keberadaan *S. mutans* dalam perkembangan biofilm oral meningkatkan insidensi karies. *S. mutans* akan menempel di permukaan enamel membentuk matriks biofilm dan diperhitungkan sebagai agen etiologi karies utama pada manusia. *S. mutans* akan menguraikan karbohidrat, membentuk glukon sebagai media perlekatan dan agregasi serta melepaskan zat asam yang akan merusak mineral penyusun gigi. Dalam kaitan ketersediaan nutrisi pada matriks biofilm, *S. mutans* juga dapat melakukan mekanisme inhibisi kepada bakteri-bakteri pionir tertentu sehingga koloni *S. mutans* dapat terus meningkat.

Studi penghambatan terbentuknya biofilm sekarang ini telah banyak dilakukan untuk mengevaluasi kemampuan berbagai ekstrak yang memiliki aktivitas antibakteri. Salah satu tanaman yang dikenal memiliki aktivitas antibakteri yaitu tanaman alamanda (*A. cathartica* L.). Berdasarkan penelitian (Kusmiati *et al.* 2014) serbuk dan ekstrak daun alamanda (*A. cathartica* L.) mengandung senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin galat, steroid dan triterpenoid. Senyawa flavonoid merupakan salah satu antimikroba yang bekerja mengganggu fungsi membran sitoplasma (Parikesit 2011). Ekstrak tanaman yang mengandung senyawa flavonoid berpotensi sebagai antibiofilm karena dapat menghambat *intercellular adhesion genes icaA dan icaD* (Lee *et al.* 2013). Gen *icaA* dan *icaD* dapat mensintesis *Polysaccharide Intercellular Adhesion* (PIA) yang mempunyai peran penting dalam pembentukan biofilm (Rohde *et al.* 2010 ; Archer, *et al.* 2011; Arciola *et al.* 2012). Tanaman alamanda mengandung senyawa saponin. Senyawa tersebut terbukti efektif menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif. Persentase penghambatan biofilm *S. mutans* ATCC 25175 dinyatakan dengan IC_{50} (*Inhibitor Concentration*) yaitu konsentrasi senyawa uji yang menghambat biofilm sebesar 50%. Nilai IC_{50} ditentukan dari persamaan regresi linier antara konsentrasi sampel dengan persentase penghambatan biofilm.

Penelitian yang dilakukan oleh Kusmiati *et al.* , menunjukkan bahwa Uji aktivitas antimikroba menunjukkan bahwa fase petroleum eter, etil asetat, kloroform, dan daun metanol alamanda berpotensi menghambat *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Candida albicans* dan *Saccharomyces cerevisiae*. Aktivitas Antimikroba tertinggi diamati untuk fase petroleum eter alamanda yang menghambat zona 10,45 mm terhadap *S. cerevisiae*. Sedangkan fase etil asetat, kloroform dan metanolase dari alamanda menunjukkan zona penghambatan terbesar masing-masing 7,33 mm, 8,59 mm dan 7,02 mm terhadap *C. albicans*. Berdasarkan uraian yang telah dipaparkan diatas, maka penulis ingin melakukan suatu penelitian tentang bagaimana efektivitas fraksi dan ekstrak daun alamanda (*A. cathartica* L.) sebagai antibiofilm terhadap bakteri *S. mutans* ATCC 25175.

B. Perumusan Masalah

Pertama, apakah fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol daun alamanda (*A. cathartica* L.) mempunyai aktivitas penghambatan antibiofilm terhadap *S. mutans* ATCC 25175 ?

Kedua, antara fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol daun alamanda manakah yang paling efektif dalam menghambat pembentukan biofilm *S. mutans* ATCC 25175 ?

Ketiga, berapakah nilai IC₅₀ yang didapatkan dari ekstrak dan fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air daun alamanda (*A. cathartica* L.) dalam menghambat biofilm *S. mutans* ATCC 25175 ?

C. Tujuan Penelitian

Pertama, untuk mengetahui aktivitas antibiofilm fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol daun alamanda (*A. cathartica* L.) dalam menghambat pembentukan biofilm *S. mutans* ATCC 25175.

Kedua, untuk mengetahui keefektifan antara fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol daun alamanda dalam menghambat pembentukan biofilm *S. mutans* ATCC 25175

Ketiga, untuk mengetahui nilai IC₅₀ yang didapatkan dari ekstrak dan fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air daun alamanda (*A. cathartica* L.) dalam menghambat pembentukan *S. mutans* ATCC 25175.

D. Kegunaan Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi alternatif sebagai bahan alam yang memiliki aktivitas sebagai antibiofilm terhadap pertumbuhan biofilm bakteri *S. mutans* serta menambah wawasan dan pengetahuan penulis dalam bidang eksperimen tentang pemanfaatan fraksi dan ekstrak daun alamanda (*A. cathartica* L.) sebagai penghambat pertumbuhan biofilm bakteri *S. mutans*.