

## Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Rumput Laut (*Kappaphycus alvarezii*) pada Berbagai Tingkat Konsentrasi terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans*

<sup>1</sup>Agus Saifudin, <sup>2</sup>Sapto Raharjo, <sup>2</sup>Amiruddin Eso

<sup>1</sup>Pendidikan Dokter FK UHO Kendari

<sup>2</sup>Fakultas Kedokteran UHO Kendari

Email: saprjo@yahoo.com

### ABSTRACT

Red algae *Kappaphycus alvarezii* contain flavonoids compound which has activity as an anti bacterial. This study aims to determine the difference of inhibition zone of the growth of *Streptococcus mutans* bacteria by seaweed methanol extract (*K. alvarezii*) at each concentrations. This research was conducted by post-test only design (one-shot case study) with a variable treatment of the seaweed methanol extract (*K. alvarezii*) against *S. mutans*. Extracts were then divided into 7 concentration of 5%, 25%, 50%, 65%, 75%, 85%, and 95%. Data were analyzed to determine the difference of inhibition zone seen from the ANOVA test (analysis of variance) followed by a post hoc test. The results of the bivariate analysis showed there were no difference of inhibition zone of the growth of *S. mutans* bacteria by seaweed methanol extract of *K. alvarezii* at the concentration of 65%, 75%, 85%, and 95% ( $p = 0,143$ ). This research concluded that there were no difference of inhibition zone of the growth of *S. mutans* bacteria by seaweed methanol extract of *K. alvarezii*.

**Keywords :** *Kappaphycus alvarezii*, *Streptococcus mutans*

### PENDAHULUAN

*Streptococcus mutans* adalah salah satu mikroba pada mulut manusia yang umumnya terkait dengan etiologi penyakit karies gigi (Argimon, *et al*, 2011). Bakteri ini berperan dalam memfermentasikan sakarida menjadi asam, asam tersebut dapat melarutkan email gigi sehingga gigi menjadi berlubang (Samad, 2008).

Karies gigi atau gigi berlubang adalah infeksi endogen kronis yang disebabkan oleh demineralisasi enamel sampai dentin, sebagai dampak dari adanya asam yang dihasilkan oleh bakteri plak melalui proses metabolisme karbohidrat. Survei Kesehatan Nasional pada 2002 menunjukkan bahwa prevalensi kerusakan gigi di Indonesia adalah 60 %, yang berarti antara sepuluh orang Indonesia, enam dari mereka menderita kerusakan gigi (Sidarta dkk., 2013).

Indonesia sebagai negara yang kaya dengan keanekaragaman hayati memiliki berbagai macam tanaman laut yang dapat dimanfaatkan sebagai obat alternatif alami. Pemakaian tanaman laut untuk pengobatan perlu digali lebih mendalam, salah satunya adalah rumput laut (Purnamasari dkk, 2010). Sementara itu, di Sulawesi Tenggara yang terdapat lokasi pembudidayaan rumput laut, yakni berada di Kabupaten Konawe, Kabupaten Konawe Selatan, Kabupaten Wakatobi dan Kabupaten Muna.

Sekarang ini, penggunaan antibiotik telah meningkat secara signifikan dikarenakan infeksi yang berat dan bakteri patogen yang menjadi resisten terhadap obat karena penggunaan antibiotik yang tidak teratur (Viswanathan dan Nalamuthu, 2013). Bakteri patogen resisten terhadap antibiotika antara lain ampisilin, kotrimoksazol, dan tetrasiklin, sehingga sekarang ini banyak penelitian yang dilakukan untuk mencari

obat-obatan baru yang berasal dari alam (Singkoh, 2011). Tetrasiklin hidroklorida yang digunakan sebagai kontrol positif dalam penelitian Riwandy (2014) memiliki diameter rerata zona hambat 6 mm (< 14 mm). Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri Tetrasiklin hidroklorida terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dalam penelitiannya bersifat resisten.

*Kappaphycus alvarezii* diketahui sebagai alga merah (Rhodophyceae) yang ditemukan di bawah air surut rata-rata. Menurut penelitian rumput laut ini memiliki kandungan kimia karagenan dan senyawa fenol, terutama flavonoid (Iskandar dkk., 2003). Flavonoid dapat menghambat perakitan dinding sel bakteri. Penghambatan tersebut mengakibatkan penggabungan rantai glikan tidak terhubung silang ke dalam peptidoglikan dinding sel menuju suatu struktur yang lemah dan menyebabkan kerusakan pada dinding sel bakteri yang berakibat lisis pada sel bakteri (Jawetz dkk., 2008). Sementara dalam penelitian lain didapatkan bahwa, zona inhibisi bakteri gram positif terhadap ekstrak alga (zona inhibisi sekitar 19 mm) lebih tinggi daripada bakteri gram negatif (zona inhibisi sampai sekitar 14 mm) (Salem *et al*, 2011).

Ekstrak alga merah *K. alvarezii* dapat menghambat pertumbuhan bakteri, baik itu bakteri gram negatif maupun gram positif dan bioaktivitas ekstrak alga merah *K. alvarezii* cenderung bersifat bakteriostatik (Dwyana, 2012). Hasil uji daya hambat ekstrak *K. alvarezii* terhadap bakteri *S. aureus* (gram positif) menunjukkan adanya respon hambatan pertumbuhan, namun pada bakteri ini tidak terdapat perbedaan tingkat konsentrasi terhadap diameter zona bening

bakteri, artinya perbedaan mungkin terjadi terhadap masing-masing konsentrasi namun tidak signifikan (Fajrianto, 2014).

Berdasarkan keterangan di atas, belum ada kajian uji kadar hambat ekstrak metanol *K. alvarezii* (rumput laut) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*. Oleh karena itu, peneliti ingin mengetahui pada tingkat konsentrasi berapa kadar hambat ekstrak metanol rumput laut (*K. alvarezii*) dapat digunakan sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

## METODE PENELITIAN

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan 7 perlakuan dan setiap perlakuan terdiri atas 3 ulangan. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November sampai Desember 2015 di Laboratorium Penelitian Fakultas Farmasi dan Kedokteran Universitas Halu Oleo Kendari, Sulawesi Tenggara.

### Pengambilan dan Persiapan Sampel

*K. alvarezii* yang telah dikumpulkan dibersihkan dari pengotor, selanjutnya dicuci di bawah air mengalir sampai bersih, ditiriskan, lalu dikeringkan di bawah sinar matahari selama 3 hari. Kenampakan fisik sampel yang telah kering yaitu keras, kaku, kecoklatan, dan sedikit berbau. Sampel yang telah kering diserbukkan dengan menggunakan alat pencacah hingga diperoleh serbuk yang halus dan seragam. Hasilnya dimasukkan ke dalam wadah gelas tertutup.

Ekstraksi *K. alvarezii* menggunakan cara maserasi. Maserasi dilakukan dengan

merendam serbuk halus *K. alvarezii* (100 g) kedalam pelarut metanol (polar) dengan volume 500 ml selama  $3 \times 24$  jam sambil sesekali diaduk (Madurina dan Sudira, 2009). Maserat dipisahkan dari ampas dengan penyaringan menggunakan corong yang telah dilapisi kertas saring lalu diuapkan dengan Rotary Vacuum Evaporator sehingga diperoleh ekstrak cair dengan berat 40 g.

### Uji Daya Hambat Antibakteri

#### a. Sterilisasi Alat

Cawan petri, erlenmeyer, gelas kimia, gelas ukur, dan tabung reaksi disterilisasi di dalam oven selama 2 jam pada suhu  $180^{\circ}\text{C}$ . Jarum ose disterilkan dengan pembakaran langsung di atas api bunsen. Media dan kertas cakram diameter 6 mm disterilkan dalam autoklaf pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit (Mpila dkk., 2012).

#### b. Pengenceran ekstrak

Pengenceran ekstrak *K. alvarezii* dilakukan dengan mengencerkan ekstrak menjadi konsentrasi 5%, 25%, 50%, 65%, 75%, 85% dan 95% dalam 5 ml larutan akuades. Kemudian dimasukkan dalam botol vial yang sudah dilabel dan disimpan dalam lemari kulkas.

#### c. Pembuatan Media Nutrient Agar

Media dasar dibuat dengan cara ditimbang Nutrient Agar (NA) sebanyak 2,5 gram, lalu dilarutkan dalam 125 ml aquades (20 g/1000 ml) menggunakan erlenmeyer. Setelah itu, media dihomogenkan dengan stirer diatas penangas air sampai mendidih. Media yang sudah homogen ini disterilkan dalam autoklaf pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  selama

15 menit, kemudian didinginkan sampai suhu  $\pm 45-50^{\circ}\text{C}$  (Mpila dkk., 2012).

#### d. Pembuatan Standar Kekeruhan Larutan (Larutan 0,5 Mc. Farland)

Larutan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1% sebanyak 9,95 ml dicampurkan dengan larutan  $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}_{n1}$  1% sebanyak 0,05 ml dalam botol vial. Kemudian dikocok dengan vortex sampai terbentuk larutan yang keruh. Kekeruhan ini dipakai sebagai standar kekeruhan suspensi bakteri uji.

#### e. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Bakteri uji yang telah diinokulasi diambil dengan kawat ose steril lalu disuspensikan kedalam tabung yang berisi 2 ml larutan NaCl 0,9% hingga di peroleh kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan larutan *Mc. Farland* 0,5

#### f. Pengujian Daya Hambat Ekstrak *K. alvarezii*

Langkah-langkah pengujian daya hambat antibakteri adalah sebagai berikut :

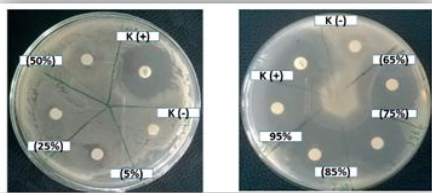
- Sebanyak 15 ml media agar dituang dalam cawan petri steril.
- Biakan bakteri pada suspensi diambil sebanyak 15  $\mu\text{l}$  dan dituang ke dalam cawan petri steril lalu dihomogenkan dengan media agar.
- Masing-masing ekstrak sebanyak 15  $\mu\text{l}$  ditetaskan pada kertas cakram steril dan dibiarkan beberapa saat.
- Kertas cakram yang sudah kering diletakkan secara teratur di atas medium agar yang mengandung bakteri uji dan kemudian diberi label.
- Cawan petri yang berisi bakteri uji dan ekstrak senyawa antibakteri tersebut

diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

- f. Daya hambat ekstrak ditentukan dengan cara mengurangi diameter zona hambat yang terbentuk dengan diameter kertas cakram (6 mm) (Saranani, 2013).

**HASIL**

Data diperoleh berdasarkan hasil pengamatan ada atau tidaknya zona hambat yang terbentuk setelah pemberian ekstrak dalam beberapa konsentrasi. Pada penelitian ini uji aktivitas antibakteri ekstrak rumput laut *K. alvarezii* terhadap pertumbuhan bakteri *S. mutans* diamati selama 1x24 jam pada suhu 37°C menunjukkan adanya zona hambat yang terbentuk pada setiap kelompok perlakuan (**Gambar 1**).



**Gambar 1.** Hasil Uji Daya Hambat ekstrak *K. alvarezii*

**1. Analisis Univariat**

Uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini menggunakan 7 kelompok perlakuan dengan variasi konsentrasi ekstrak metanol *K. alvarezii* yaitu, 5%, 25%, 50%, 65%, 75%, 85%, dan 95% seperti yang tampak pada **Tabel 3**.

Pengenceran untuk membuat variasi konsentrasi menggunakan akuades. Pada penelitian ini diuji coba antibakteri eritromisin sebagai kontrol positif dan metanol sebagai kontrol negatif seperti pada **Tabel 4**.

**Tabel 3.** Hasil Aktivitas Antibakteri *K. alvarezii*

Konsentrasi	Diameter Zona Hambat (mm)			
	I	II	III	Rerata
5%	0	8,5	0	2,83
25%	2,5	0	0	0,83
50%	6,75	0	0	2,25
65%	30	25,5	25,25	26,91
75%	30,75	26,5	28,75	27,91
85%	30,5	29,25	27,75	29,16
95%	34	30,75	31	31,91

**Tabel 4.** Hasil Uji kontrol + dan kontrol -

Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)			
	I	II	III	Rerata
Kontrol +	23,5	32,25	23	26,25
Kontrol -	0	0	0	0

Data diolah menggunakan program komputer dengan melakukan uji statistik pada perlakuan yang memberikan hasil zona hambat yang bermakna, yakni konsentrasi 65%, 75%, 85% dan 95%. Didapatkan hasil uji normalitas terhadap variabel penelitian kadar hambat *S. mutans* terdistribusi normal ( $p > 0,05$ ), dengan homogeni variansi signifikan ( $p > 0,05$ ).

**2. Analisis Bivariat**

Rerata hasil uji daya hambat sampel pada konsentrasi 65%, 75%, 85% dan 95% terhadap bakteri *S. mutans* dapat dilihat pada **Tabel 5**.

**Tabel 5.** Hasil Rerata Uji Antibakteri

Konsent rasi	Rera ta	SD	Mini mum	Maksi mum	P
65%	26,9	2,7	25,25	30,00	
75%	27,9	3,3	24,25	30,75	
85%	29,2	1,4	27,75	30,50	0,143
95%	31,9	1,8	30,75	34,00	

Adapun dari hasil analisis statistic Anova One Way didapatkan signifikansi sebesar 0,143 dengan interpretasi  $H_0$  diterima karena  $p$  value (0,143)  $>$   $\alpha$  (0,05) yang artinya tidak ada perbedaan zona hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* oleh ekstrak metanol rumput laut (*K. alvarezii*) pada konsentrasi 65%, 75%, 85% dan 95%. Oleh karena hasil uji ANOVA menunjukkan uji yang tidak bermakna atau tidak terdapat perbedaan maka analisis tidak dilanjutkan ke uji post hoc.

## PEMBAHASAN

Perbedaan dalam tingkat aktivitas penelitian ini dibandingkan dengan literatur lain mungkin karena perbedaan sistem pelarut, faktor lingkungan dan jenis senyawa bioaktif yang terkandung didalam rumput laut (Rajasulochana, *et al*, 2013).

Penelitian ekstrak *Kappaphycus alvarezii* bersifat bakteriostatik karena hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Sedangkan eritomisin sebagai kontrol dalam penelitian ini bersifat bakteriosida. Sifat antibakteri rumput laut ini diketahui dengan inkubasi yang dilakukan sampai 48 jam, jika daerah hambatan tetap bening selama 48 jam maka zat tersebut bersifat bakteriosidal dan jika ditumbuhi bakteri maka bersifat bakteriostatik (Wiyanto, 2010).

Suatu antimikroba bersifat bakteriostatik jika senyawa antimikroba tersebut hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri jika pemberian senyawa terus dilakukan dan jika dihentikan atau habis, maka pertumbuhan dan perbanyakan dari bakteri akan kembali meningkat yang ditandai dengan

berkurangnya diameter zona hambatan. Sebaliknya bersifat bakteriosida jika diameter zona hambatan meningkat, hal ini disebabkan karena senyawa ini mampu membunuh dan menghentikan aktivitas fisiologis dari bakteri, meskipun pemberian senyawa tersebut dihentikan. Senyawa flavonoid diduga mekanisme kerjanya mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi. Flavonoid juga bersifat lipofilik yang akan merusak membran mikroba. Di dalam flavonoid mengandung suatu senyawa fenol. Pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dapat terganggu disebabkan senyawa fenol. Fenol merupakan suatu alkohol yang bersifat asam sehingga disebut juga asam karbolat. Fenol memiliki kemampuan untuk mendenaturasikan protein dan merusak membran sel. Kondisi asam oleh adanya fenol dapat berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* (Rahayu, 2000).

Senyawa fenol dan turunannya (flavonoid) merupakan salah satu antibakteri yang bekerja dengan mengganggu fungsi membran sitoplasma. Adanya senyawa fenol ini menyebabkan perusakan pada membran sitoplasma. Ion  $H^+$  dari senyawa fenol dan turunannya (flavonoid) akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipida pada dinding sel bakteri akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat dan asam fosfat. Fosfolipida tidak mampu mempertahankan bentuk membran sitoplasma akibatnya membran sitoplasma akan bocor dan bakteri akan mengalami hambatan pertumbuhan bahkan kematian. Flanovoid mencegah pembentukan energi pada membran sitoplasma dan menghambat

motilitas bakteri, yang juga berperan dalam aksi antimikrobal (Widiastuti, 2008 dalam Yunus dkk.,2009).

## SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan zona hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* oleh ekstrak metanol rumput laut (*Kappaphycus alvarezii*) pada konsentrasi 65%, 75%, 85% dan 95%; serta ekstrak rumput laut *Kappaphycus alvarezii* konsentrasi 65%, 75%, 85% dan 95% memberikan respon kuat terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

## SARAN

Perlu dilakukan pengujian isolasi dan identifikasi senyawa bioaktif yang berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji. Perlu mengetahui atau mempertimbangkan faktor-faktor yang mempengaruhi pengumpulan rumput laut (musim, cuaca, sumber daya manusia, dan sebagainya).

## DAFTAR PUSTAKA

Argimon, S dan Caufield, P.W. "Distribution of Putative Virulence Genes in *Streptococcus mutans* Strains Does Not Correlate with Caries Experience". *Journal Of Clinical Microbiology*, 2011, 2, hal. 984–992.

Clinical and Laboratory Standards Institute (Us). M100-S24 Performance Standards For Antimicrobial Susceptibility; Twenty-Fourth Informational Supplement. 2014.

Dwyana, Z. dan Johannes, E. Uji Efektivitas Ekstrak Kasar Alga Merah *Eucheuma Cottonii* Sebagai

Antibakteri Terhadap Bakteri Patogen. 2012.

- Fajrianto, M. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Rumput Laut (*Eucheuma* sp) pada Berbagai Tingkat Konsentrasi terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Skripsi Sarjana. Kendari: Fakultas Kedokteran Universitas Halu Oleo, 2014.
- Iskandar, Y, Rusmiati, D. dan Dewi, R.R. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Rumput Laut (*Eucheuma cottonii*) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* dan *Bacillus Cereus*. 2003. [http://pustaka.unpad.ac.id/wp-content/uploads/2009/05/akt\\_anbakteri\\_ekstrak\\_rumput\\_laut.pdf](http://pustaka.unpad.ac.id/wp-content/uploads/2009/05/akt_anbakteri_ekstrak_rumput_laut.pdf). (Diakses tanggal 12 November 2013).
- Jawetz, E., Melnick, J.L. dan Adelberg, E.A. 2008. *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan (Review of Medical Microbiology)* : Diterjemahkan oleh H. Tomang. Jakarta: Penerbit EGC.
- Mpila, D.A., Fatimawali, dan Wiyono, W.I. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mayana (*Coleus atropurpureus* [L] Benth) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* Secara In-Vitro. Skripsi. Manado. Fakultas MIPA. Universitas Sam Ratulangi. 2012.
- Purnamasari, D.A, Munadziroh, E, dan Yogiartono, R.M. "Konsentrasi ekstrak biji kakao sebagai material alam dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*". *Jurnal PDGI*. 2010, 59, hal. 14-18.
- Rahayu, P. W. "Aktivitas Antimikroba Bumbu Masakan Tradisional Hasil Olahan Industri Terhadap Bakteri Patogen dan Perusak". *Buletin*

- Teknologi dan Industri Pangan. 2000, 11(2), hal. 42-48.
- Rajasulochana, P., Krishnamoorthy, P. dan Dhamotharan, R. "An Investigation on the Antioxidants, Antifungal and Antibacterial of the *Kappaphycus Alvarezii*". Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences, 2013, 4, hal. 586-589.
- Riwandy, A., Aspriyanto, D., dan Budiarti L.Y. "Aktivitas Antibakteri Ekstrak Air Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans* In Vitro". Jurnal Kedokteran Gigi Dentino, 2014, 1, hal. 10-64.
- Salem W.M, Galal H dan Nasr El-deen F. "Screening For Antibacterial Activities In Some Marine Algae From The Red Sea". African Journal of Microbiology Research. 2011, 5, hal.
- Samad, S. Perbandingan Efek Antibakteri dari Jus Belimbing (*Averrhoa carambola*) terhadap *Streptococcus mutans* pada Waktu Kontak dan Konsentrasi yang Berbeda. Artikel Karya Tulis Ilmiah. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang, 2008.
- Saranani SR. Uji Daya Hambat Ekstrak Tanaman Komba-Komba (*Chromolaena odorata*) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus* sp, *Salmonella typhi* YCTC, dan *Escherichia coli* ATCC 35218. Skripsi Sarjana. Kendari. Fakultas Kedokteran Universitas Halu Oleo, 2013.
- Sidarta, Y.O. dkk. "White Pepper Extract (*Piper nigrum* L.) as Antibacterial Agent for *Streptococcus mutans* In Vitro". IOSR Journal of Dental and Medical Sciences, 2013, 4, Issue 6.
- Singkoh, M.F.O. "Aktivitas Antibakteri Ekstrak Alga Laut *Caulerpa racemosadari* Perairan Pulau Nain". Jurnal Perikanan dan Kelautan Tropid. 2011, 7, hal. 123-127.
- Viswanathan, S dan Nallamuthu, T. "Screening of Phytochemical and Antibacterial activity of three different seaweeds from Gulf of Mannar, Tamilnadu". Phykos. 2013, 43, hal. 32-38.
- Wiyanto, D.B. "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii* dan *Euचेuma denticullatum* Terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila* dan *Vibrio harveyii*". Jurnal Kelautan. 2010, 3, hal. 1-17.
- Yunus, Arisandi, A. dan Abida, I.W." Daya Hambat Ekstrak Metanol Rumput Laut (*Eucheuma spinosum*) Terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila*". Jurnal Kelautan Universitas Trunojoyo.