



[JDS]  
**JOURNAL OF SYIAH KUALA  
DENTISTRY SOCIETY**

Journal Homepage : <http://jurnal.unsyiah.ac.id/JDS/>



**POTENSI EKSTRAK ALGA MERAH *Gracilaria verrucosa* SEBAGAI PENGHAMBAT PERKEMBANGAN PEMBENTUKAN BIOFILM *Enterococcus faecalis* PADA INFEKSI SALURAN AKAR GIGI**

Putri Rahmi Noviyandri<sup>1</sup>, Ridha Andayani<sup>1</sup>, Ervina Rizky<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Staf Pengajar Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Syiah Kuala

<sup>2</sup> Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Syiah Kuala

**Abstract**

*Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) is a facultative anaerobic Gram-positive bacteria which becomes the main bacteria occurrence failure of endodontic treatment. The red algae *Gracilaria verrucosa* (*G. verrucosa*) is one of the herbal plants that contain antibacterial compounds such as alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, and triterpenoid. This study aims to determine the potency red algae *G. verrucosa* extract as inhibitor of *E. faecalis* biofilm formation development. The red algae *G. verrucosa* extract with a concentration of 100%, 75%, 25%, 12,5%, and 6,25% was made in maceration method using ethanol 96%. Microtiter Plate Biofilm Assay method and ELISA reader with wavelength 595nm were used to test the biofilm. The result of One Way ANOVA showed  $p < 0,05$  which mean there was an effect of the test group on the formation of *E. faecalis* biofilm development and Post Hoc Tests-Duncan showed that there was a significant differences between each group of those concentration. In the treatment group, there was found two concentration that have significant differences, there were 100% and 6,25%. Based on the result of this study, we can conclude that the red algae *G. verrucosa* extract was useful as an inhibitor of *E. faecalis* biofilm formation development. The higher concentration of the red algae *G. verrucosa*, the higher its ability as an inhibitor of *E. faecalis* biofilm formation development.

**Keywords** : *Enterococcus faecalis*, red algae *Gracilaria verrucosa*, Microtiter Plate Biofilm Assay method, ELISA reader.

**PENDAHULUAN**

Perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi di bidang kesehatan gigi dan mulut, membuat masyarakat mulai memahami bahwa perawatan saluran akar adalah salah satu solusi untuk mencegah terjadinya kehilangan gigi.<sup>1</sup>

Berbagai macam mikroorganisme hidup dalam rongga mulut yang normal. Keberadaan mikroorganisme setelah perawatan saluran akar dapat menyebabkan kegagalan dalam perawatan saluran akar tersebut, salah satu nya adalah *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*).<sup>2</sup> *Enterococcus faecalis* merupakan suatu bakteri yang dikenal sebagai spesies yang paling resisten

• Corresponding author

Email address : [putriahminoviyandri@unsyiah.ac.id](mailto:putriahminoviyandri@unsyiah.ac.id)

ditemukan pada saluran akar terinfeksi dalam rongga mulut. Hal ini terjadi karena faktor virulensi dari *E. faecalis*.<sup>3</sup>

Faktor virulensi yang berperan dalam patogenesis *E. faecalis* terdiri dari beberapa komponen, komponen tersebut adalah *Aggregation Substansse (AS)*, *cytolysin*, *surface adhesins*, *Lipoteichoic Acid (LTA)*, *sex pheromones*, *Extraceluller Superoxide Production (ESP)*, *hyaluronidase*, dan *gelatinase lytic enzyme* dan AS-48. Faktor virulensi ini yang menyebabkan *E. faecalis* memiliki kemampuan bersaing dengan bakteri lain, serta membentuk kolonisasi pada *host*, resisten terhadap mekanisme pertahanan *host*. *E. faecalis* juga dapat melakukan fermentasi untuk menghasilkan asam laktik. bakteri ini juga mengkatabolisasi sumber energi dari karbohidrat, gliserol, laktat, malat, dan sitrat. Hal ini sangat membantu ketika *E. faecalis* hidup di daerah yang minim nutrisi seperti saluran akar yang terinfeksi.<sup>4</sup>

*Enterococcus faecalis* mampu mengadakan kolonisasi yang baik pada permukaan protein serta membentuk biofilm pada dinding-dinding dentin. Biofilm adalah suatu komunitas sel bakteri yang terstruktur dan saling menempel pada permukaan, bakteri-bakteri tersebut mampu memproduksi matriks polimer dan mampu melekat pada permukaan biologis maupun benda mati. Biofilm dapat memperluas jangkauan habitat multispesies mikroba tersebut, meningkatkan metabolisme, dan dapat meningkatkan virulensi bakteri.<sup>5</sup> Hal ini yang menyebabkan infeksi saluran akar menetap dan kegagalan perawatan saluran akar. Keberhasilan perawatan saluran akar tergantung pada saat proses pembersihan saluran akar tersebut.<sup>2</sup>

Salah satu larutan yang tepat dalam pembersihan saluran akar pada tahapan perawatan saluran akar adalah bahan irigasi.

Suatu bahan irigasi yang baik harus mampu melarutkan jaringan organik dan anorganik, bersifat antimikroba serta mempunyai efek toksisitas yang rendah. Berbagai macam jenis larutan irigasi dalam bidang konservasi gigi salah satunya yaitu natrium hipoklorit (NaOCl).<sup>6</sup> Namun pada beberapa individu tertentu dijumpai kelainan pada saat penggunaan natrium hipoklorit (NaOCl), seperti iritasi dan rasa sakit pada jaringan.<sup>7</sup> Keadaan seperti ini mengakibatkan perlunya dicari bahan alternatif seperti bahan alami yang memiliki sifat antimikroba yang digunakan untuk mengeliminasi bakteri *E. faecalis*, agar tidak terjadi infeksi berulang.<sup>6, 7</sup>

Sejak zaman dahulu, masyarakat Indonesia sudah menggunakan bahan alami untuk mengatasi masalah kesehatan, bahan alami diyakini masyarakat lebih aman. Pemanfaatan bahan alami seperti alga atau rumput laut juga sering digunakan untuk mengobati luka di kulit. Alga merupakan bagian dari tumbuhan laut perairan yang diklasifikasikan ke dalam 2 kelompok, yaitu makro alga dan mikro alga.<sup>8</sup> Alga banyak dimanfaatkan oleh masyarakat yang tinggal di daerah pesisir sebagai obat luar, salah satunya sebagai bahan antiseptik alami.<sup>9</sup>

Hasil penelitian Siregar AF dkk juga menunjukkan potensi alga sebagai antibakteri patogen yang dapat menyebabkan infeksi.<sup>9</sup> Salah satu penyakit infeksi yang sering menggunakan alga untuk penanganannya adalah infeksi pada kulit yang disebabkan oleh bakteri. Alga atau rumput laut jenis *Gracilaria verucosa* (*G. verucosa*) merupakan salah satu alga yang banyak tumbuh di Indonesia. Alga ini merupakan salah satu jenis alga merah.<sup>10</sup> *Gracilaria verrucosa* diharapkan memiliki kandungan kimia yaitu alkaloid, flavonoid, saponin,

steroid, triterpenoid, dan tanin yang berfungsi sebagai antibakterial.

Berdasarkan uraian tersebut, penulis termotivasi untuk menguji potensi ekstrak alga merah *G. verrucosa* dengan konsentrasi 100, 75, 50, 25, 12.5, 6.25% untuk melihat keefektifan ekstrak dari berbagai konsentrasi tersebut sebagai penghambat perkembangan pembentukan biofilm *E. faecalis* pada infeksi saluran akar gigi.

## BAHAN DAN METODE PENELITIAN

Alat yang digunakan adalah Autoklaf (ALP), Timbangan digital (HWH), Inkubator (Sanyo), Cawan petri (Pirex), Kaca preparat (Object glass), Jarum ose, Gelas ukur (Pirex), Hot plate, Rak tabung, Tabung reaksi, Lampu spiritus, Mikroskop cahaya (Olympus type BX 41), Pinset, Pipet tetes (Iwaki), Eppendorf tip ukuran 200 µl, Multi channel eppendorf tip, Rotary evaporator, Kertas saring, Shaker, Blender, Well plate (Corning), Vortex (Rotamixer), ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) reader dengan panjang gelombang 595nm (untuk melihat protein permukaan).

Bahan yang digunakan adalah alga merah *Gracilaria verrucosa*; *Enterococcus faecalis* ATCC 29212; media *Mueller Hinton Agar* (MHA) dengan komposisi (*Beef extract* 300 mg/L, asam amino 17,5 g/L, Amilium 1,5 g/L, *Bacto agar* 17,0 g/L); Larutan *McFarland* 0,5 setara dengan  $1,5 \times 10^8$  CFU/ml dengan komposisi (Asam Sulfat ( $H_2SO_4$ ) 1% 99,5 ml, Barium Klorida (BaCl) 1% 0,5 ml); Bahan pewarnaan Gram (Kristal ungu, Mordant, *Safranin*); Larutan NaCl 0,9%; Etanol 96%; *Phosphate buffer saline* (PBS); Alkohol 96%; Alkohol 98%; *Chlorhexidine Gluconate* 0,2% sebagai kontrol positif; Akudes; Spiritus; *Aluminium foil*; *Sterile wooden cotton*; Kapas; Kertas label; Alat

tulis; *Handscoon*; Masker; *Tissue*; dan Spidol marker.

Penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan desain *posttest only control group*. Penelitian ini dilakukan pada bulan Agustus 2017 di Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Syiah Kuala untuk proses ekstrak alga merah *G. verrucosa* serta uji fitokimia dan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan (FKH) Universitas Syiah Kuala untuk pengujian hasil ekstrak alga merah *G. verrucosa* terhadap penghambat perkembangan pembentukan biofilm *E. faecalis*.

## Kultur Bakteri

Kultur dilakukan dengan teknik goresan T (*streak T*). Kultur *Enterococcus faecalis* dilakukan pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA).<sup>11</sup> Cawan petri dibagi menjadi 3 bagian menggunakan spidol marker. Cara mengkultur adalah dengan memanaskan jarum ose dan ditunggu dingin, kemudian mengambil 1 ose biakan murni untuk diinokulasi di daerah 1, yaitu separuh cawan dengan goresan zig-zag. Kemudian dipanaskan kembali jarum ose dan ditunggu hingga dingin, lalu dilanjutkan dengan goresan zig-zag pada daerah 2 yang tegak lurus dengan goresan pertama, kemudian dilanjutkan goresan zig-zag pada daerah 3, tegak lurus dengan goresan kedua. Cawan petri yang telah digoreskan bakteri kemudian ditutup rapat dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dalam suasana anaerob.<sup>12</sup>

## Pembuatan Ekstrak *Gracilaria verrucosa*

Alga merah *G. verrucosa* yang diperoleh dari Kecamatan Pulo Aceh, Kabupaten Aceh Besar, yang ditanam hingga 7-8 minggu kemudian dipanen. Diambil

sebanyak 3 kg dicuci bersih dengan air, ditiriskan, dipotong kecil-kecil, dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada suhu ruangan selama 3 hari untuk menghilangkan kadar air sehingga didapat berat konstan alga merah.

Kemudian alga merah *G. verrucosa* diblender lalu diekstraksi dengan metode maserasi dengan cara memasukkan alga merah dalam toples dan direndam dengan pelarut etanol 96%, sambil diaduk-aduk setiap hari selama 2 hari. Setelah itu, ekstrak alga merah disaring menggunakan kertas saring sehingga didapatkan filtrat dan residu. Ekstraksi diulang sebanyak tiga kali dengan merendam kembali residu alga merah dengan etanol 96% sehingga diperoleh filtrat kedua dan ketiga. Kemudian semua filtrat dikumpulkan lalu diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C sampai pelarut etanol habis menguap hingga didapat ekstrak kental alga merah.<sup>13, 14</sup>

#### Uji Biofilm dengan Menggunakan Metode Plate Biofilm Assay

Metode ini digunakan untuk mengetahui jumlah biofilm dengan menginterpretasikan jumlah biofilm yang terbentuk sesuai dengan kepekatan warna dari masing-masing 96-well (sumuran) pada *Mikrotiter plate*. Pada *wellplate* ditempelkan kertas label yang memberikan keterangan waktu inkubasi yaitu 24, 48, 72 jam.

Langkah-langkahnya adalah *E. faecalis* yang sudah dikultur di media MHA dan ditumbuhkan pada media cair di-*centrifuge* terlebih dahulu selama 10 menit pada kecepatan 100 rpm. Setiap suspensi bakteri diukur dengan metode *Mc. Farland*

0,5 sehingga didapatkan estimasi jumlah suspensi bakteri mencapai  $1,5 \times 10^8$  CFU/ml. Bakteri yang sudah dikultur kemudian didiamkan selama 1 jam pada suhu ruangan sebagai fase adaptasi *E. faecalis* dengan *well*.

Kemudian ditambahkan ekstrak alga merah *G. verrucosa* berbagai konsentrasi (100, 75, 50, 25, 12.5, dan 6.25%) serta *Clorhexidine gluconate* 0,2% sebagai kontrol ke dalam *well* dan inkubasi selama 24, 48, 72 jam pada suhu 30°C. Setelah masa inkubasi, kemudian diisi dengan kristal violet dan inkubasi selama 20 menit. Kemudian dicuci dengan PBS dan *shaker*, untuk membuang *E. faecalis* yang tidak melekat pada dasar *well*.

Kemudian *well* dicuci dengan alkohol 98% diinkubasi selama 10 menit, dan dicuci lagi dengan alkohol 96% inkubasi selama 10 menit, kemudian keringkan. Kemudian baca hasil sampel dengan menggunakan *mikrotiter plate ELISA reader* dengan nilai absorbansi (OD) 595 nm. Nilai absorbansi (OD) yang didapat sebanding dengan kualitas sel *E. faecalis* dalam biofilm.<sup>15, 16</sup>

#### Analisis Data

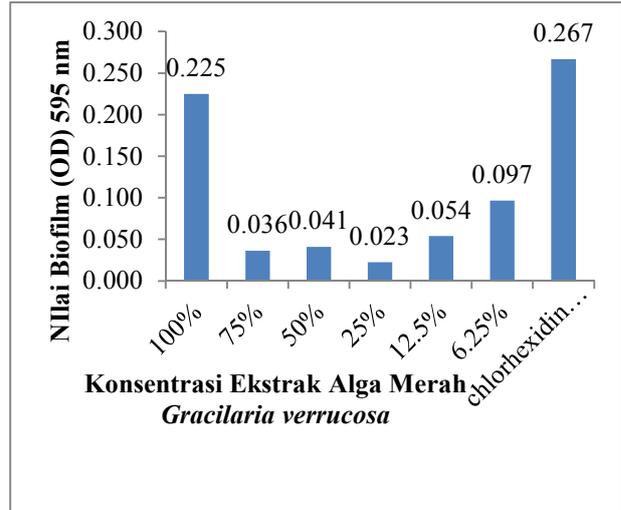
Analisis hasil penelitian ini dilakukan dengan *one way ANOVA* untuk mengetahui pengaruh berbagai konsentrasi ekstrak alga merah *G. verrucosa* sebagai penghambat perkembangan pembentukan biofilm *E. faecalis* pada infeksi saluran akar gigi.

#### HASIL PENELITIAN

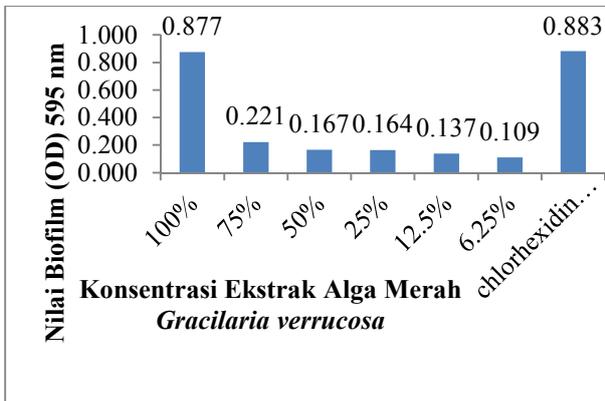
*Enterococcus faecalis* dikultur pada Media MHA dengan teknik goresan T setelah diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C dalam kondisi anaerob. Hasil kultur terlihat koloni bakteri berwarna putih keabu-abuan pada media MHA (Gambar 1)



Gambar 1. Koloni *E. faecalis* pada Media MHA.



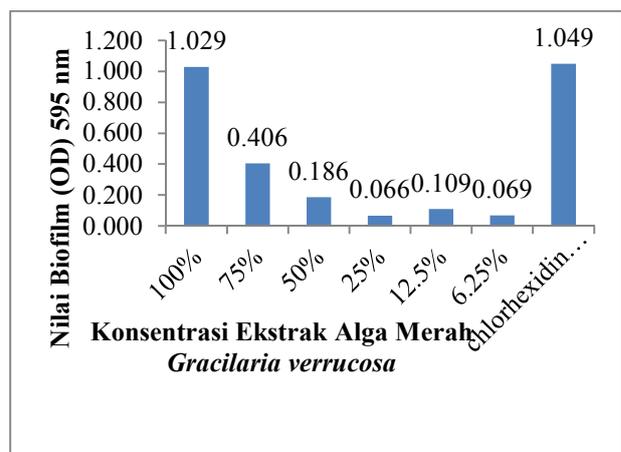
Gambar 3. Daya Hambat Pembentukan Biofilm *Enterococcus faecalis* dengan Ekstrak *Gracilaria verrucosa* Selama 48 Jam.



Gambar 2. Daya Hambat Pembentukan Biofilm *Enterococcus faecalis* dengan Ekstrak *Gracilaria verrucosa* selama 24 Jam.

Gambar 2 menunjukkan bahwa pada pembentukan biofilm *E. faecalis* yang diberikan ekstrak alga merah *G. verrucosa* dengan waktu inkubasi 24 jam berdasarkan *optical density* dengan panjang gelombang 595 nm adalah konsentrasi alga 100% menunjukkan nilai 0.877 sedangkan yang paling rendah pada konsentrasi 6.25% yaitu 0.109. Untuk kontrol positif *chlorhexidine gluconate* 0,2% yaitu 0,883

Gambar 3 menunjukkan bahwa pembentukan biofilm *E. faecalis* yang diberikan ekstrak alga merah *G. verrucosa* dengan waktu inkubasi 48 jam berdasarkan *optical density* dengan panjang gelombang 595 nm adalah pada konsentrasi 100% dengan nilai 0.225 sedangkan yang paling rendah pada konsentrasi 25% yaitu 0.023. Untuk kontrol positif *chlorhexidine gluconate* 0,2% yaitu 0.267.



Gambar 4. Daya Hambat Pembentukan Biofilm *Enterococcus faecalis* dengan Ekstrak *Gracilaria verrucosa* Selama 72 Jam.

Gambar 4 menunjukkan bahwa pembentukan biofilm pada *E. faecalis* yang diberikan ekstrak alga merah *G. verrucosa* dengan waktu inkubasi 72 jam berdasarkan *optical density* dengan panjang gelombang 595 nm adalah pada konsentrasi 100% dengan nilai 1.029 sedangkan yang paling rendah pada konsentrasi 25% yaitu 0.066. Untuk kontrol positif *chlorhexidine gluconate* 0,2% bernilai 1.049.

#### Uji Analisis Pembentukan Biofilm *Enterococcus faecalis* dengan one way ANOVA

Uji statistik pada penelitian ini menggunakan *one way ANOVA* dengan syarat lebih dari dua kelompok, distribusi data normal, dan varian data sama. Penelitian ini memiliki 4 kelompok perlakuan berdasarkan waktu inkubasi yaitu 24, 48, 72 jam dengan 1 kelompok kontrol. Hasil uji normalitas menunjukkan distribusi dan homogenitas varian data penelitian adalah normal dengan nilai sig  $p < 0,05$ . Hasil uji *one way ANOVA* menunjukkan nilai sig  $p < 0,05$ , membuktikan terdapat pengaruh dari semua kelompok uji terhadap pembentukan biofilm. Uji lanjut pada penelitian ini menggunakan *Post Hoc Tests-Duncan* dengan tujuan mengetahui ada tidaknya perbedaan antara masing-masing perlakuan. Hasil uji lanjut *Post Hoc Tests-Duncan* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok konsentrasi uji 100% dengan 6,25% serta kontrol positif *chlorhexidine gluconate* 0,2% dengan masing-masing kelompok waktu inkubasi 24, 48, 72 jam.

#### PEMBAHASAN

Tujuan dilakukannya pengeringan adalah untuk menurunkan kadar air, sehingga tidak mudah ditumbuhi jamur dan bakteri, menghilangkan aktivitas enzim yang bisa

menguraikan kandungan zat aktif, memudahkan proses pengolahan selanjutnya, sehingga dapat diringkas, agar alga merah ini tahan lama dan mudah disimpan.<sup>17</sup> Penghalusan dilakukan agar luas permukaan kontak simplisia dan pelarut menjadi lebih besar dan memungkinkan terjadinya penyaringan senyawa dengan lebih baik pula.<sup>18</sup>

Berdasarkan uji fitokimia, alga merah *G. verrucosa* diharapkan memiliki senyawa antibakteri alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid, dan tanin.<sup>19</sup> Pada penelitian ini, dilakukan juga uji fitokimia untuk mengetahui kandungan di dalam alga merah *G. verrucosa* yang memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Hasil yang diperoleh, steroid, triterpenoid, dan tanin menunjukkan hasil positif. Hal ini berbeda dengan alkaloid, flavonoid, saponin menunjukkan hasil negatif. Kondisi ini bisa saja karena teknik maserasi dengan menggunakan pelarut etanol yang digunakan untuk ekstraksi pada penelitian ini, diketahui memiliki sifat menguap yang tinggi pada saat diuapkan dengan *rotary evaporator*. Jadi, terdapat kemungkinan zat fitokimia yang ada di dalam alga merah *G. verrucosa* juga ikut menguap.<sup>20</sup>

Kultur bakteri *E. faecalis* yang sudah tumbuh pada media MHA kemudian dikonfirmasi dengan pewarnaan Gram. Teknik pewarnaan Gram dilakukan dengan tujuan mengetahui warna dan jenis Gram sel bakteri tersebut.<sup>21</sup> Dinding sel *E. faecalis* yang merupakan bakteri Gram-positif memiliki lapisan tebal peptidoglikan dan molekul lainnya.<sup>22</sup> Pewarnaan Gram dilakukan dengan penetesan kristal violet yang akan menyebabkan terbentuknya warna ungu pada bakteri Gram-positif.

Penambahan *lugol's iodine* akan menyebabkan interaksi antara sel sehingga

terjadi peningkatan pengikat warna *crystal violet-iodine complex*.<sup>23</sup> Penetasan etanol 96% pada tahap ketiga pewarnaan Gram berfungsi untuk melarutkan lapisan lipid pada dinding bakteri dan melunturkan warna ungu dari kristal violet pada bakteri Gram-negatif. Sebaliknya, pada bakteri Gram-positif penetasan larutan ini tidak terlalu berpengaruh karena kristal violet telah tertanam pada lapisan peptidoglikan yang tebal sehingga tidak mudah luntur.

Dalam penelitian ini, dilihat berdasarkan pembentukan biofilm *E. faecalis* dalam waktu 24, 48, 72 jam. Hasil 24 jam terlihat bahwa pembentukan biofilm masih tahap awal maka daya hambat pada pembentukan biofilm masih terlihat konsisten dari 0,109 nm pada konsentrasi 6,25% hingga 0,877 nm pada konsentrasi 100% serta kemampuan bakteri pada 24 jam masih belum resisten terhadap daya hambat ekstrak *G. verrucosa* (Gambar 2). Pada hasil 48 jam terlihat bahwa pembentukan biofilm sudah pada tahap biofilm yang hampir mature dilihat dari hasil daya hambat pada pembentukan biofilm sudah tidak konsisten lagi dimana pembentukan biofilm yang terendah 0,023 nm pada konsentrasi 25% dikarenakan kemampuan bakteri pun sudah bervariasi (Gambar 3).

Begitu juga dengan hasil 72 jam terlihat bahwa pembentukan biofilm sudah pada tahap mature dilihat dari hasil daya hambat pada pembentukan biofilm juga sudah tidak konsisten dimana pembentukan biofilm yang terendah 0,066 nm pada konsentrasi 25% juga karena kemampuan bakteri sudah bervariasi (Gambar 4). Zat fitokimia yang menghambat pertumbuhan bakteri pada alga merah *G. verrucosa* adalah steroid. Wiyanto DB mengemukakan mekanisme kerja steroid dalam menghambat mikroba adalah dengan merusak membran

plasma sel mikroba, sehingga menyebabkan bocornya sitoplasma keluar sel yang selanjutnya menyebabkan kematian sel. Diduga hal tersebut disebabkan karena molekul steroid memiliki gugus nonpolar (hidrofobik) dan polar (hidrofilik) sehingga memiliki efek surfaktan yang dapat melarutkan komponen fosfolipid membran plasma, fosfolipid merupakan komponen dominan yang menyusun membran plasma sel mikroba.<sup>24</sup>

Triterpenoid yang direaksikan dengan pereaksi *Liebermann-Burchard* (asam asetat glasial dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) menghasilkan warna merah-ungu hal ini didasari oleh kemampuan senyawa triterpenoid membentuk warna oleh H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dalam pelarut anhidrida asam asetat. Mekanisme kerja senyawa triterpenoid sebagai zat antibakteri diduga melibatkan kerusakan membran oleh senyawa lipofilik. Triterpenoid dapat bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri sehingga sel bakteri kekurangan nutrisi, pertumbuhan bakteri terhambat atau mati.<sup>25</sup>

Tanin merupakan salah satu jenis senyawa yang termasuk ke dalam golongan polifenol. Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah menghambat enzim *reverse* transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk. Tanin memiliki aktifitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktivkan enzim, dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel. Tanin juga mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan sel menjadi kurang sempurna.<sup>26</sup>

Hal ini menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati. Selain itu, Ngajow M dkk menyatakan kompleksasi

dari ion besi dengan tanin dapat menjelaskan toksisitas tanin. Mikroorganisme yang tumbuh di bawah kondisi aerobik membutuhkan zat besi untuk berbagai fungsi, termasuk reduksi dari prekursor ribonukleotida DNA. Hal ini disebabkan oleh kapasitas pengikat besi yang kuat oleh tanin.<sup>26</sup>

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak alga merah *G. verrucosa* memiliki pengaruh terhadap pembentukan biofilm pada semua kelompok uji. Hasil pengamatan menunjukkan masing-masing konsentrasi ekstrak alga merah *G. verrucosa* memiliki potensi sebagai penghambat perkembangan pembentukan biofilm *E. faecalis* pada infeksi saluran akar gigi. Semakin tinggi konsentrasi dari ekstrak alga merah *G. verrucosa* maka semakin tinggi juga kandungan zat aktif di dalamnya sehingga semakin tinggi kemampuannya sebagai penghambat pembentukan biofilm *E. faecalis* (Gambar 4). Sementara hasil daya hambat *chlorhexidine gluconate* 0,2% adalah nilai tertinggi sebagai kontrol positif pada waktu 24 jam, 48 jam dan 72 jam.

Hasil uji statistik menggunakan *one way ANOVA* dengan nilai  $p < 0,05$  yang menunjukkan ekstrak alga merah *G. verrucosa* memiliki pengaruh terhadap pembentukan biofilm *E. faecalis*. Kemudian dilakukan uji lanjutan dengan menggunakan *Post Hoc Tests-Duncan* dengan tujuan mengetahui ada tidaknya perbedaan antara tiap masing-masing perlakuan. Hasil uji lanjut *Post Hoc Tests- Duncan* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok konsentrasi uji 100% dengan 6,25% serta kontrol positif *chlorhexidine gluconate* 0,2% dengan masing-masing kelompok waktu inkubasi 24, 48, dan 72 jam.

*Chlorhexidine* adalah suatu antiseptik yang termasuk dalam golongan bisbiguanide yang umumnya digunakan dalam bentuk glukonat yang mampu menyerang bakteri Gram-positif dan negatif. *Chlorhexidine* dapat menyebabkan kematian sel bakteri dengan menimbulkan kebocoran sel dan koagulasi kandungan intraselular sel bakteri pada pemaparan konsentrasi tinggi. *Chlorhexidine* akan melintasi dinding sel atau membran luar, diduga melalui proses difusi pasif, dan menyerang sitoplasmik bakteri atau membran dalam sel bakteri. Kerusakan pada membran semi permiabel ini akan diikuti dengan keluarnya kandungan intraseluler sel bakteri.<sup>27</sup>

Berdasarkan analisis ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak alga merah *G. verrucosa* dapat bermanfaat sebagai penghambat perkembangan pembentukan biofilm *E. faecalis* pada infeksi saluran akar gigi. Semakin tinggi konsentrasi alga merah *G. verrucosa* maka semakin tinggi kemampuan ekstrak *G. verrucosa* sebagai penghambat pembentukan biofilm *E. faecalis*.

## SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini ekstrak alga merah *G. verrucosa* memiliki potensi sebagai penghambat perkembangan pembentukan biofilm *E. faecalis* pada infeksi saluran akar gigi. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka semakin tinggi ekstrak tersebut berpotensi sebagai penghambat perkembangan pembentukan biofilm *E. faecalis*.

## SARAN

Penelitian ini hanya melihat efek alga merah *G. verrucosa* terhadap penghambat pembentukan biofilm *E. faecalis*, oleh sebab

itu, disarankan untuk melakukan penelitian lanjutan berupa efek alga merah *G. verrucosa* terhadap pertumbuhan dan perkembangan bakteri *E. faecalis*. Serta melakukan penelitian lanjutan dengan menggunakan alga merah namun jenis alga merah yang lain yang memiliki antibakteri.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Hakim RF, Fakhrurrazi, Ferisa W. Pengaruh Air Rebus Daun Salam (*Euhenia polyantha wight*) Terhadap Pertumbuhan *Enterococcus faecalis*. *Journal Of Syiah Kuala dentistry Society* 2016;1(1):21-28.
2. Santoso ML, Sudirman A, Setyowati L. Konsentrasi Hambat Minimum Larutan Propolis Terhadap Bakteri *Enterococcus faecalis*. *Jurnal PDGI* 2012;61(3):96-101.
3. Wardhana D, Rukmo M, Budi A. Daya Antibakteri Kombinasi Metronidazol, Siprofloksasin, dan Minosiklin Terhadap *Enterococcus faecalis*. *Endo Restorasi Jurnal Ilmu Konservasi Gigi* 2008;1(1):23-28.
4. Kayaoglu G, Orstavik D. relationship to endodontik disease. *Virulence factors of Enterococcus faecalis* 2004;15(5):308-20.
5. Sumantri RP. Perbedaan Daya Antibiofilm *Enterococcus faecalis* Antara Larutan Irigasi NaOCl 5,25% dan Kombinasi Edta 17% dan NaOCl 2,5%. Thesis. Surabaya: Universitas Airlangga; 2013.
6. Yunizar M, Lamani S, Nuryanti A. Pengaruh Konsentrasi Atrisi Minyak Kayu Manis (*Cinnamomum burmani*) Terhadap Daya Hambat Pertumbuhan *Enterococcus faecalis*. *BIMKGI* 2014;2(1):1-11.
7. Hulsmann M, Hahn W. Complications during root canal irrigation—literature review and case reports. *Int Endodont J* 2000;33:186-93.
8. Rosyidi D, Widati AS, Prakoso J. Pengaruh Penggunaan Rumput Laut Terhadap Kualitas Fisik dan Organoleptik Chicken Nuggets. *J Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak* 2008;3(1):43-51.
9. Siregar AF, Sabdono A, Pringgienies D. Potensi Antibakteri Ekstrak Rumput Laut Terhadap Bakteri Penyakit Kulit *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Micrococcus luteus*. *J Marine Res* 2012;1(2):152-60.
10. Widiastuti IM. Produksi *Gracilaria verrucosa* yang Dibudidayakan di Tambak Dengan Berat Bibit dan Jarak Tanam yang Berbeda. *J Agrisains* 12 2011;12(1):57-62.
11. Nurdin D, Satari MH. Peranan *Enterococcus faecalis* terhadap persistensi infeksi saluran akar. In: Oscandar F, Sarilita E, editors. *Prosiding Dies Forum 52*. Bandung: Percetakan Sono offset; 2011. p. 69-76.
12. Armianty, Mattulada IK. Efektivitas antibakteri ekstrak daun sirih (*Piper betle Linn*) terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*. *Dentofasial* 2014;13(1):17-21.
13. Atikah N. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Herba Kemangi (*Ocimum americanum L*) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*. Skripsi. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah; 2013. p. 19.
14. Padmasari P, Astuti K, Warditiani N. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum Roxb.*). *J Farmasi Udayana* 2013:1-7.

15. Bachtiar BM, Bachtiar EW. Seleksi Aptamer-Anti *Candida Albicans* Untuk Menghambat Pembentukan Biofilm. *Prosiding InSINas* 2012:232-37.
16. Rachmawati HD, Aprilia, Parisihni K. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Mangrove *Acanthus ilicifolius* Terhadap Biofilm *Enterococcus faecalis*. *J Kedokt Gigi* 2015;9(2):138-47.
17. Endrasari R, Qanytah, Prayudi B. Pengaruh Pengeringan Terhadap Mutu Simplisia Temulawak di Kecamatan Tembalang Kota Semarang. *J Farmasi* 2010:435-42.
18. Rahmawati F. Optimasi Penggunaan Kromotografi Lapis Tipis (KLT) pada Pemisahan Senyawa Alkaloid Daun Pulai (*Alstonia scholaris* L.R.Br). Skripsi. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim; 2015. p. 24.
19. Foong FHN, Mohammad A, Ichwan SJA. Biological Properties of Cucumber (*Cucumis sativus* L.) Extracts. *Malaysian J Analytical Scie* 2015;19(6):1218-22.
20. Aziz T, N RCK, Fresca A. Pengaruh Pelarut Heksana dan Etanol, Volume Pelarut, dan Waktu Ekstraksi Terhadap Hasil Ekstraksi Minyak Kopi. *J Teknik Kimia* 2009;16(1):1-8.
21. Sardiani N, Litaay M, Budji RG, et al. Potensi Tunikata *Rhopalaea sp* Sebagai Sumber Inokulum Bakteri Endosimbion Penghasil Antibakteri; 1. Karakterisasi Isolat. *J Alam dan Lingkungan* 2015;6(11):1-10.
22. Navarre W. Surface Proteins of Gram-Positive Bacteria and Mechanisms of Their Targetting to the Cell Wall Envelope. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 1999;63(1):174-229.
23. *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Dasar*. Purwokerto: Universitas Jendral Sudirman; 2008. p. 1-72.
24. Wiyanto DB. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii* dan *Euclima denticullatum* Terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila* dan *Vibrio harveyii* *Jurnal KELAUTAN* 2010;3(1):1-16.
25. Haryati NA, Saleh C, Erwin. Uji Toksisitas dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Merah Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia Mulawarman* 2015;13(1):35-40.
26. Ngajow M, Abidjulu J, Kamu VS. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara *In vitro*. *Jurnal MIPA UNSRAT ONLINE* 2013;2(2):128-32.
27. Puspita KY. Pengaruh *Chlorhexidine Gloconate* 0,2% Terhadap Keberhasilan Perawatan *Periimplantitis Mucositis*. Skripsi. Denpasar: Universitas Mahasaraswati Denpasar; 2014. p. 5.