

POTENSI BAHAN CETAK EKSTRAK NATRIUM ALGINAT RUMPUT LAUT MERAH (*Kappaphycus alvarezii*) DALAM MENGHAMBAT PERTUMBUHAN *Streptococcus mutans*

Inneke Dwi Lestari Junaedi*, Depi Praharani**, Achmad Gunadi***, Izzata Barid****, Didin Erma Indahyani****, Niken Probosari****

*Mahasiswa, FKG Universitas Jember

**Bagian Periodonsia, FKG Universitas Jember

***Bagian Prostodontia, FKG Universitas Jember

****Bagian Biologi Oral, FKG Universitas Jember

*****Bagian Pedodonsia, FKG Universitas Jember

e-mail: praharanidepi.fkg@unej.ac.id

KEYWORDS

antibacterial, impression material, *Kappaphycus alvarezii*, sodium alginate, *Streptococcus mutans*

ABSTRACT

Introduction: Synthetic alginate is an impression material that is widely used in dentistry. Dental impressions may carry *Streptococcus mutans* bacteria, which is cariogenic bacteria. Red seaweed has the potential as a source of sodium alginate and has antibacterial activity. **Aim:** The purpose of this study is to analyze the ability of impression materials containing sodium alginate from red seaweed in inhibiting the growth of *S. mutans* bacteria. **Methods:** This study uses a laboratory experimental method with a post-test-only control group design. The number of research samples is 24, which are divided into group A (control), group B (red seaweed sodium alginate extract), and group C (red seaweed sodium alginate extract impression material). Sodium alginate was extracted from red seaweed (*Kappaphycus alvarezii*) by the acid method. Inhibition test of the growth of *S. mutans* bacteria using well diffusion method. Growth inhibition is characterized by the formation of an inhibition zone. **Result:** The test results showed that group A (control) does not have the ability to inhibit the growth of *S. mutans* bacteria. Meanwhile, group B (RLM Na-alginate extract) and group C (RLM Na-alginate extract impression material) have the same ability to inhibit the growth of *S. mutans* bacteria. **Conclusions:** Red seaweed sodium alginate extract impression material can inhibit the growth of *S. mutans*.

PENDAHULUAN

Bahan cetak merupakan salah satu bahan yang digunakan hampir di seluruh bidang kedokteran gigi. Bahan cetak berguna untuk mendapatkan suatu bentuk cetakan dari hubungan gigi dan jaringan rongga mulut, sehingga didapatkan model dari jaringan rongga mulut. Salah satu jenis bahan cetak

yang umum digunakan adalah tipe *irreversible hydrocolloid* seperti alginat.^{1,2} Bahan cetak yang saat ini sangat banyak digunakan di bidang kedokteran gigi Indonesia adalah alginat sintetis. Namun bahan cetak ini harus diimpor dari luar negeri. Selain itu bahan cetak alginat sintetis banyak ditambahkan zat seperti seng, barium, kadmium, timbal silikat dan fluorida ke dalam

formulasinya untuk meningkatkan sifat fisik, kimia, dan mekanik dari bahan cetak. Tetapi bahan-bahan tersebut juga dapat menyebabkan terhambatnya pertumbuhan sel.^{3,4}

Pada saat prosedur pencetakan gigi dan rahang, debris, saliva, dan darah termasuk juga mikroflora rongga mulut akan menempel pada hasil cetakan. *Streptococcus mutans* adalah salah satu mikroflora rongga mulut yang bisa saja menempel pada hasil cetakan. Meskipun *S. mutans* merupakan flora normal tetapi bakteri ini bersifat kariogenik karena berperan penting dalam menyebabkan timbulnya karies gigi.^{5,6,7}

The American Dental Association (ADA) menganjurkan untuk mencuci hasil cetakan dan melakukan disinfeksi sebelum dikirim ke laboratorium untuk menghilangkan debris, saliva, dan darah yang menempel. Proses disinfeksi yang dilakukan dapat mempengaruhi dimensi hasil cetakan.⁸ Oleh sebab itu, perlu dilakukan pengembangan bahan cetak alginat yang mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri (antibakteri) dan tersedia di dalam negeri. Salah satu alternatifnya adalah dengan menggunakan bahan alam.⁹

Indonesia sebagai negara maritim dengan wilayah perairan sangat luas memiliki keanekaragaman biota laut yang berpeluang besar untuk lebih dieksplorasi seperti rumput laut.^{10,11,12} Rumput laut memiliki bermacam-macam kandungan senyawa kimia seperti pigmen (*phycobiliprotein* dan karotenoid),

senyawa fenolik (*phlorotannins* dan *bromophenols*), senyawa nitrogen (alkaloid), polisakarida (agar, karaginan, dan alginat), dan terpenoid (*diterpenes* dan *sesquiterpenes*).^{13,14,15}

Alginat terbukti bersifat *biodegradable*, tidak karsinogenik, tidak beracun, dan tidak menimbulkan alergi. Oleh karena itu, alginat telah banyak digunakan untuk bidang obat-obatan, kosmetik, industri tekstil, bahan pembuatan *scaffold*, dan bahan *dressing* penyembuhan luka. Alginat dapat membantu proses regenerasi tulang, kulit, otot jantung, tulang kartilago, dan bahkan regenerasi saraf.^{13,16,17}

Rumput laut merah (RLM) adalah jenis rumput laut dengan kandungan alginat yang tinggi.¹³ RLM memiliki kandungan senyawa polisakarida yang dapat dibedakan menjadi 3, yaitu asam alginik, agar, dan karaginan.¹⁸ Natrium alginat (Na-alginat) merupakan salah satu garam natrium yang terkandung dalam asam alginik. Hasil penelitian Kubyskhin dkk. (2016) menunjukkan bahwa partikel nanosilver dalam keadaan stabil pada matriks Na-alginat ternyata memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri patogen (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, dan *Enterobacter cloacae*). Berdasarkan uraian di atas, maka penulis ingin meneliti tentang kemampuan bahan cetak yang mengandung ekstrak Na-alginat dari RLM jenis *Kappaphycus alvarezii* dalam

menghambat pertumbuhan *S. mutans* yang merupakan bakteri patogen penyebab karies.

METODE

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *the post-test-only control group design*. Penelitian dilakukan di Laboratorium *Bioscience* dan Teknologi Kedokteran Gigi (TKG) RSGM Universitas Jember yang dilaksanakan pada bulan Desember 2021-Januari 2022. Jumlah sampel pada penelitian sebanyak 24 yang dibagi menjadi kelompok A (kontrol), kelompok B (ekstrak Na-alginat RLM), kelompok C (bahan cetak ekstrak Na-alginat RLM) yang masing masing dilakukan 8 kali pengulangan.

Pembuatan suspensi *S. mutans*

Pembuatan suspensi bakteri *S. mutans* dilakukan dengan cara mengambil 1 ose *S. mutans* dari biakan lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang sudah berisi 2 ml MHB. Tabung reaksi ditutup kapas, dimasukkan *desiccator*. Diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Suspensi *S. mutans* diaduk dengan *thermolyne*, kemudian melakukan pengukuran absorbansinya dengan standar 0,5 *Mc Farland*.

Pembuatan Media Mueller-Hinton Agar

Langkah-langkah yang perlu dilakukan dalam pembuatan media MHA yaitu dengan mencampur 38 gr bubuk MHA dengan 1 liter *aquadest* steril dalam erlenmeyer, kemudian dihomogenkan dengan cara diaduk menggunakan alat *hotplate stirrer*. Lalu

larutan MHA dipanaskan hingga mendidih dalam *waterbath* hingga homogen. Media MHA dimasukkan *autoclave* yang bersuhu 121°C selama 15 menit agar steril. Selanjutnya dilakukan uji sterilisasi terhadap media MHA yang sudah steril dengan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Pembuatan Media Mueller-Hinton Broth

Mencampur 21 gr bubuk MHB dengan 1 liter *aquadest* steril dalam erlenmeyer, kemudian dihomogenkan dengan cara diaduk menggunakan *hotplate stirrer*. Selanjutnya larutan MHB dipanaskan hingga mendidih dalam *waterbath* hingga homogen. Media MHB dimasukkan kedalam *autoclave* bersuhu 121°C selama 15 menit agar steril. Kemudian melakukan uji sterilisasi terhadap media MHB yang sudah steril dengan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Ekstraksi Natrium Alginat dengan Metode Asam

RLM diperoleh dari perairan Desa Andelan, Kec. Wongsorejo, Banyuwangi. RLM dicuci menggunakan air mengalir, kemudian direndam dengan larutan KOH 0,1% dalam waktu 1 jam. Mencuci kembali RLM di air mengalir. Selanjutnya sampel dikeringkan dengan oven bersuhu 60°C selama 96 jam sampai kadar airnya <15%. RLM yang sudah kering dihaluskan dengan *blender*. 100 gram bubuk RLM direndam larutan HCl 1% dengan rasio 1:30 (b/v) dalam waktu 1 jam, kemudian dicuci bersih sampai pH netral. Setelah itu rendaman bubuk RLM diekstraksi dengan larutan Na₂CO₃ 2% (1:30;b/v) dalam

waterbath shaker pada suhu 60-70°C selama 2 jam, lalu filtratnya diambil dengan cara disaring dengan saringan ukuran 150 mesh. Selanjutnya filtrat dipucatkan dengan larutan NaOCl 10% sebanyak 4% dari volume filtrat sampai berwarna kuning gading selama 30 menit. Filtrat kemudian dititrasi menggunakan HCl 10% hingga pH mencapai 2,8-3,2. Endapan asam alginat yang diperoleh, dipisahkan dan dicuci bersih, kemudian dikonversi menjadi Na-alginat dengan larutan Na₂CO₃ 10% hingga pH netral. Tuang sedikit demi sedikit endapan ke dalam isopropil alkohol (1:2, v/v) sambil diaduk dan dibiarkan 30 menit. Na-alginat yang diperoleh dikeringkan dengan oven selama 72 jam pada suhu 60°C, dihaluskan dengan *blender*. Lalu disaring dengan saringan ukuran 60 mesh.

Pembuatan bahan cetak ekstrak Na-alginat RLM

Proses pembuatan bahan cetak ekstrak Na-alginat RLM dilakukan dengan mencampurkan beberapa komponen-komponen yang diperlukan. Langkah pertama yaitu, mencampurkan kalsium sulfat 14%, potassium sulfat 10%, tanah diatom (*filler*) 50%, trisodium fosfat atau trinatrium fosfat 2%, HPMC 6% dan 18% Na-alginat dari rumput laut merah. Proses pencampuran ini dilakukan menggunakan alat mortar dan *pestle*. Semua bahan yang telah dicampur, kemudian dihaluskan dengan *blender* dan disaring sampai homogen.

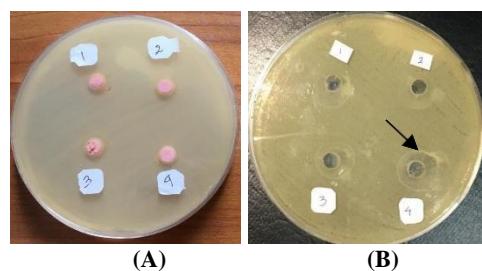
Uji Daya Hambat terhadap *Streptococcus mutans*

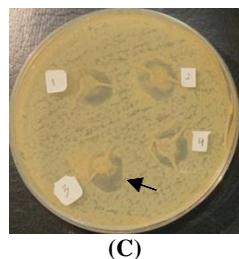
Metode yang digunakan yaitu *well diffusion*.¹⁹ Pada setiap lempeng MHA yang telah diinokulasi bakteri *S. mutans* dibuat sumuran dengan diameter 6mm dan tebal 4mm. Setiap sumuran diisi bahan sesuai kelompoknya, yaitu: kelompok A (kontrol) diisi bahan cetak *Hygedent®*, kelompok B diisi larutan ekstrak Na-alginat RLM, kelompok C diisi bahan cetak ekstrak Na-alginat RLM yang masing masing kelompok dilakukan 8 kali pengulangan.

Selanjutnya seluruh cawan Petri dimasukan ke dalam *desiccator* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah 24 jam zona bening di sekitar sumuran yang terbentuk diukur dengan jangka sorong sebagai zona hambat (mm).

HASIL

Hasil penelitian mengenai kemampuan bahan cetak yang mengandung ekstrak Na-alginat RLM (*K. alvarezii*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans* dapat dilihat pada Gambar 1.





Gambar 1. Hasil uji daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *S. mutans*. (A) Kelompok A (kontrol) tidak terdapat zona hambat; (B) Kelompok B (ekstrak Na-alginat RLM) terdapat zona hambat (tanda panah hitam); (C) Kelompok C (bahan cetak ekstrak Na-alginat RLM) terdapat zona hambat (tanda panah hitam).

Rata-rata diameter zona hambat yang diperoleh dikategorikan menurut Davis dan Stout (1976) dalam Handayani dkk., (2016) sebagai berikut: diameter zona hambat >20 mm dikategorikan sangat kuat, zona hambat 10 -20 mm dikategorikan kuat, zona hambat 5-10 mm dikategorikan sedang, dan zona hambat <5 mm dikategorikan lemah.²⁰ Berdasarkan hasil perhitungan rata-rata diameter zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *S. mutans*, derajat kekuatan zona hambat dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Derajat kekuatan zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *S. mutans*

Kelompok penelitian	Rata-rata	Kekuatan zona hambat
A (kontrol)	0 mm	-
B (Ekstrak Na-alginat RLM)	14,33 mm	Kuat
C (Bahan cetak ekstrak Na-alginat RLM)	15,45 mm	Kuat

Data yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisis secara statistik dengan SPSS. Pengolahan data dilakukan menggunakan program statistik *SPSS for window 22.0*, Hasil uji Kruskal Wallis didapatkan nilai signifikansi yaitu <0,05 yang artinya terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok.

Selanjutnya dilakukan uji Mann Whitney untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda signifikan yang hasilnya dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji Mann Whitney

Kelompok sampel	A	B	C
A	-	0,000*	0,000*
B			0,074
C			-

Keterangan:

Kelompok A : kontrol
Kelompok B : ekstrak Na-alginat RLM
Kelompok C : bahan cetak ekstrak Na-alginat RLM

* : signifikan

Berdasarkan Tabel 2 maka dapat diinterpretasikan, bahwa kelompok A (kontrol) tidak memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *S. mutans*. Sedangkan rata-rata diameter zona hambat antara kelompok B (ekstrak Na-alginat RLM) dan kelompok C (bahan cetak ekstrak Na-alginat RLM) tidak ada perbedaan yang signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok B dan C memiliki kemampuan yang sama dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans*. Kekuatan zona hambat baik kelompok B dan C termasuk dalam kategori kuat (Tabel 1).

PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini mendapatkan bahwa bahan cetak yang mengandung ekstrak Na-alginat dari RLM jenis *K. alvarezii* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans*. Hasil penelitian ini sama dengan penelitian oleh Afriani (2019) dan Król dkk. (2017) yaitu ekstrak Na-alginat mempunyai kemampuan

dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.^{9,21}

Kemampuan daya hambat ekstrak Na-alginat RLM maupun bahan cetak ekstrak Na-alginat RLM terhadap *S. mutans* termasuk kategori kuat karena diameter zona hambatnya berada pada kisaran 10-20 mm. Ekstrak Na-alginat RLM mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans* kemungkinan karena senyawa nanosilver dalam keadaan stabil pada Na-alginat memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri dengan cara mendekati membran sel bakteri dan melakukan penetrasi ke dalam bakteri. Kemudian partikel nanosilver akan berdifusi serta menyerang rantai pernapasan bakteri, dan akhirnya terjadi kematian sel bakteri. Selain itu, Na-alginat memiliki kandungan gugus aktif yang memiliki aktivitas antibakteri. Ion hidroksil (OH-) Na-alginat yang mengandung oksidan merupakan radikal bebas yang reaktif dan bereaksi dengan beberapa biomolekul. Mekanisme daya hambat dari ion hidroksil yaitu menyebabkan terjadinya induksi ion hidroksil yang bereaksi dengan membran sel, dan komponen seperti mitokondria sehingga struktur bakteri mengalami perubahan ireversibel, kemudian akan terjadi kerusakan serta kematian sel. Selain itu ion Na⁺ juga memiliki kontribusi besar terhadap aktivitas antimikroba.^{22,23,24}

Kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans* kemungkinan juga bisa disebabkan adanya komponen trisodium

fosfat dan kalsium sulfat dalam bahan cetak. Trisodium fosfat dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara merusak membran sel bakteri yang menyebabkan makromolekul dan ion dari sel keluar. Selanjutnya sel bakteri akan mengalami kematian.²⁵ Kalsium sulfat yang ditambahkan dengan bahan antibakteri lainnya dapat meningkatkan aktivitas antibakteri dari bahan tersebut.²⁶

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa bahan cetak yang mengandung ekstrak natrium alginat rumput laut merah (*K. alvarezii*) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans*.

REFERENSI

1. Amalina R, Sutanto D, Sunendar B. Perbandingan Tensile Strength, Tear Strength, Dan Reproduction Of Detail Bahan Cetak Alginat Sintesis Dengan Variasi Jumlah Nanoselulosa Dan Metakaolin Terhadap Jeltrate®. SONDE (Sound of Dentistry). 2018;3(1):1-5.
2. Budiono B, Susilaningsih E, Fatmasari D. Pengembangan instrumen penilaian kinerja keterampilan mencetak rahang bergigi teknik mukostatik. Journal of Research and Educational Research Evaluation. 2016;5(1):49-56
3. Febriani M. Alginate impression vs alginate impression plus cassava starch: analisis gambaran mikroskopik. STOMATOGNATIC-Jurnal Kedokteran Gigi. 2015 Dec 16;8(2):67-73.
4. Pithon MM, dos Santos RL, Martins FO, Romanos MT. Cytotoxicity of dental alginates. Revista Odonto Ciência. 2010 Jun 13;24(3):270-3.
5. Hati AK, Multazamudin M, Iqbal M. Uji Aktivitas Antibakteri dan Kandungan Senyawa

- Aktif Ekstrak n-Heksan, Etil Asetat dan Etanol 70% biji Melinjo (*Gnetum gnemon*. L) terhadap bakteri *Salmonella thypi* dan *Streptococcus mutans*. Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product. 2018 Jul 31;1(1).
6. Nomura Y, Fujita Y, Ishihara Y, Kakuta E, Okada A, Maki K, Hanada N. Effects of cariogenic bacteria and sealant evaluated by International Caries Detection Assessment System. The Open Dentistry Journal. 2019 Dec 31;13(1) 512-519.
 7. Ongo TA, Rachmadi P, Arya IW. Stabilitas dimensi hasil cetakan bahan cetak elastomer setelah disemprot menggunakan sodium hipoklorit. Dentino J Ked Gigi. 2014;2(1):83-88.
 8. Zulkarnain M, Singh JK. Pengaruh penambahan pati ubi kayu pada bahan cetak alginat terhadap stabilitas dimensi model gigi tiruan. Jurnal Material Kedokteran Gigi. 2018 Jul 23;3(2):54-61.
 9. Afriani W. Uji Perbandingan Aktivitas Antibakteri Serbuk Alginat Rumput Laut Cokelat (*Sargassum SP.*) dengan Variasi Agen Pengekstrak [Doctoral dissertation]. Banda Aceh: UIN Ar-Raniry.; 2019.
 10. Salim Z, dan Ernawati. *Info Komoditi Rumput Laut*. Jakarta: Badan Pengkajian dan Pengembangan Kebijakan Perdagangan Al Mawardi Prima; 2015.
 11. Sanger G, Kaseger BE, Rarung LK, Damongilala L. Potensi beberapa jenis rumput laut sebagai bahan pangan fungsional, sumber pigmen dan antioksidan alami. Jurnal pengolahan hasil perikanan Indonesia. 2018 Aug 16;21(2):208-17.
 12. Suparmi S, Sahri A. Mengenal potensi rumput laut: kajian pemanfaatan sumber daya rumput laut dari aspek industri dan kesehatan. Majalah Ilmiah Sultan Agung. 2009;44(118):95-116.
 13. Borkowski D, Krucińska I, dan Draczyński Z. Preparation of Nanocomposite Alginate Fibers Modified with Titanium Dioxide and Zinc Oxide. Polymers. 2020;12(5): 1-14.
 14. Torres P, Santos JP, Chow F, dan dos Santos DYC. A Comprehensive Review of Traditional Uses, Bioactivity Potential, and Chemical Diversity of The Genus *Gracilaria* (*Gracilariales*, *Rhodophyta*). Algal Research. 2019;37: 288-306.
 15. Trica B, Delattre C, Gros F, Ursu AV, Dobre T, Djelveh G, Michaud P, Oancea F. Extraction and characterization of alginate from an edible brown seaweed (*Cystoseira barbata*) harvested in the Romanian Black Sea. Marine drugs. 2019 Jul 8;17(7):405.
 16. Pasanda OS, Azis A. The Extraction of Brown Algae (*Sargassum* sp) Through Calcium Path to Produce Sodium Alginate. Jurnal Bahan Alam Terbarukan. 2018 Feb 21;7(1):64-9.
 17. Rasyida A, Pradipta TR, Wicaksono ST, Pratiwi VM, dan Rakhamawati YW. Preliminary Study of Alginates Extracted from Brown Algae (*Sargassum sp.*) Available in Madura Island as Composite Based Hydrogel Materials. Materials Science Forum. 2019;964: 240-245.
 18. Kadi A. Rumput laut sebagai produk alam dari Perairan Indonesia. Jurnal Oseana. 2014;39(3):31-40.
 19. Sari ZA, Feibriawan R. Perbedaan Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Metode Well Diffusion dan Kirby bauer Terhadap Pertumbuhan Bakteri. Jurnal Medika Hutama. 2021 Jul;2(04): 1156-1162.
 20. Handayani F, Warnida H, Nur SJ. Formulasi dan uji aktivitas antibakteri *Streptococcus mutans* dari sediaan mouthwash ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.). Media Sains. 2016 Apr;9(1):74-84.
 21. Król Ź, Marycz K, Kulig D, Marędziak M, Jarmoluk A. Cytotoxicity, bactericidal, and antioxidant activity of sodium alginate hydrosols treated with direct electric current. International Journal of Molecular Sciences. 2017 Mar 22;18(3):678.
 22. Aprilisna M, Ramadhan CA, Sunendar B, Widodo HB. Karakteristik dan Aktivitas Antibakteri Scaffold Membran Cangkang Telur yang Diaktivasi Karbonat Apatit. Majalah Kedokteran Gigi Indonesia. 2015;1(1):59-67.
 23. Kubyshkin A, Chegodar D, Katsev A, Petrosyan A, Krivorutchenko Y, Postnikova O. Antimicrobial effects of silver nanoparticles stabilized in solution by sodium alginate. Biochemistry & molecular biology journal. 2016;2(2): 1-7.
 24. Sofos JN. Antimicrobial effects of sodium and other ions in foods: a review 1. Journal of Food Safety. 1984 Mar;6(1):45-78.
 25. Sarjit A, Dykes GA. Antimicrobial activity of trisodium phosphate and sodium hypochlorite against *Salmonella* biofilms on abiotic surfaces with and without soiling with chicken juice. Food Control. 2017 Mar 1;73:1016-1022.
 26. Ducheyne P. Comprehensive Biomaterials II. 2nd ed. Philadelphia: Elsevier; 2017.p. 289-313.