

## LAPORAN PENELITIAN

## Daya Hambat Minyak Hati Ikan Hiu Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Porphyromonas gingivalis*

(*The Inhibition of Shark Liver Oil Against The Growth of Porphyromonas gingivalis Bacteria*)

Felisitas Maria Agustina\*, Dian Mulawarmanti\*\*, Yoifah Rizka Wedarti\*\*\*

\*Sarjana Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

\*\*Biokimia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

\*\*\*Periodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

### ABSTRACT

**Background:** *Porphyromonas gingivalis* is the dominant bacteria that found in chronic periodontitis. Conventional antibacterial (antibiotic) especially tetracycline mostly used for periodontal treatment, but antibiotic usage often causes resistant, allergy, and toxic. Shark Liver Oil *Centrophorus* sp species have antibacterial effect through its contents, squalene and squalamine that can be developed as an antibacterial adjuvant therapy in periodontal disease. **Purpose:** To examine the inhibition effect of Shark Liver Oil to the growth of *Porphyromonas gingivalis*. **Materials and Methods:** This study used a research design post test only control group design. The research subject is *Porphyromonas gingivalis* strain ATCC 33277 which have total amount 30 samples, divided into 5 groups. Three groups were given the shark liver oil with different concentrations of 10%, 15%, and 20%. Positive control were given the tetracycline and negative control were given the DMSO 1%. The inhibition was examined using diffusion method and was inoculated on MH agar. The inhibitory effect has been observed by measuring the diameter of clear area on the disk using digital calipers in milimeter. **Result:** Shark liver oil could inhibit the growth of *Porphyromonas gingivalis* in every concentrations. Concentration 10% with 9,06 mm, concentration 15% with 11,31 mm, concentration 20% with 13,2 mm, while the negative control with 6,01 mm, and positive control with 30,09 mm. **Conclusion:** Shark liver oil could inhibit the growth of *Porphyromonas gingivalis*.

**Keywords:** Shark liver oil, *Porphyromonas gingivalis*, periodontal disease, squalene, squalamine

**Correspondence:** Dian Mulawarmanti, Department of Oral Biology, Faculty of Dentistry, Hang Tuah University, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Phone 031-5912191, Email: [dian.mulawarmanti@hangtuah.ac.id](mailto:dian.mulawarmanti@hangtuah.ac.id)

## ABSTRAK

**Latar belakang:** *Porphyromonas gingivalis* adalah bakteri paling dominan yang ditemukan pada periodontitis kronis. Antibakteri konvensional (antibiotik), terutama tetrasiklin sering digunakan untuk menunjang terapi periodontal, akan tetapi penggunaan antibiotik sering menimbulkan resisten, alergi, dan toksik. Minyak hati ikan hiu spesies *Centrophorus sp* memiliki sifat antibakteri melalui kandungannya yaitu squalene dan squalamine, sehingga memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai terapi ajuvan pada penyakit periodontal. **Tujuan:** Mengetahui daya hambat minyak hati ikan hiu terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*. **Bahan dan Metode:** Penelitian ini menggunakan rancangan penelitian post test only control group design. Subjek penelitian adalah bakteri *Porphyromonas gingivalis* strain ATCC 33277 sebanyak 30 sampel yang dibagi menjadi 5 kelompok. Tiga kelompok diberi minyak hati ikan hiu dengan konsentrasi 10%, 15%, dan 20%. Kontrol positif diberi tetrasiklin dan kontrol negatif diberi DMSO 1%. Daya hambat diperiksa dengan menggunakan metode difusi dan diinokulasikan pada media MH agar. Daya hambat dihitung dengan mengukur diameter zona jernih pada disk dengan menggunakan digital callipers dalam satuan milimeter. **Hasil:** Minyak hati ikan hiu dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada setiap konsentrasi. Konsentrasi 10% (9,06 mm), konsentrasi 15% (11,31 mm), konsentrasi 20% (13,2 mm), sedangkan kontrol negatif (6,01 mm), dan kontrol positif (30,09 mm). **Simpulan:** Minyak hati ikan hiu dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*.

**Kata kunci:** Minyak hati ikan hiu, bakteri *Porphyromonas gingivalis*, penyakit periodontal, antibakteri

**Correspondence:** Dian Mulawarmanti, Biokimia, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah, Jl. Arif Rahman Hakim 150 Surabaya. Telp. (031) 5912191. E-mail: [dian.mulawarmanti@hangtuah.ac.id](mailto:dian.mulawarmanti@hangtuah.ac.id)

## PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara kepulauan terluas di dunia. Keuntungannya, tingkat keragaman jenis dari biota-biota laut di Indonesia sangat beragam baik dari jenis ikan-ikan bertulang sejati maupun ikan-ikan bertulang rawan, salah satunya adalah ikan hiu<sup>1</sup>. Hal tersebut diperkuat dengan adanya penangkaran ikan hiu di Pulau Menjangan Besar (Jawa Tengah) dan juga di Pulau Nusa Keramba di Indonesia.<sup>2</sup>

Minyak dari hati hiu sering digunakan masyarakat awam di daerah NTT sebagai obat untuk sakit gigi. Organ hati dipilih karena memiliki kandungan squalene dan squalamine

yang paling besar dan merupakan pusat metabolisme.<sup>3</sup>

Squalamine dan squalene yang merupakan kandungan pada minyak ini diketahui memiliki sifat antimikroba. Squalamine mempunyai efek terapi sebagai antimikroba dan antiangiogenik<sup>4</sup>. Struktur biokimia squalene adalah C<sub>30</sub> H<sub>50</sub> (C<sub>30</sub>: 6n-omega 2) *trans isoprenoid*, yang artinya satu senyawa C<sub>30</sub> polyfrenyl mengandung 6 prenyl (atau yang lebih dikenal sebagai isoprenoid atau isoprena) karena terdapat struktur ikatan ganda, isoprenoid ini memiliki fungsi antioksidan yang kuat juga mempunyai kandungan antibiotik alami.<sup>5</sup>

Kandungan antibakteri alami inilah yang dapat dimanfaatkan

sebagai terapi alternatif dari penyakit yang disebabkan oleh karena bakteri gram negatif, salah satunya adalah penyakit periodontal. Antimikroba konvensional (antibiotik), terutama tetrasiklin sering digunakan untuk menunjang terapi penyakit periodontal, akan tetapi antimikroba konvensional (antibiotik) dapat menimbulkan efek samping yaitu terjadi resisten, reaksi alergi, dan reaksi toksik<sup>6</sup>, oleh karena itu, diperlukan terapi alternatif untuk mengobati penyakit periodontal tanpa efek samping.

Penyakit periodontal adalah suatu proses patologis yang mengenai jaringan periodonsium. Keparahan penyakit periodontal tidak terlepas dari pengaruh virulensi bakteri yang terakumulasi dalam plak<sup>7</sup>. Perawatan penyakit periodontal adalah secara mekanik dan kimia. *Scaling* dan *root planing* dilakukan untuk mengeliminasi pertumbuhan bakteri plak di samping itu, dapat digunakan antimikroba untuk menghambat pertumbuhan bakteri plak.

*Porphyromonas gingivalis* merupakan bakteri paling dominan yang ditemukan pada periodontitis kronis, selain *Tannerella forsythia*, dan *Treponema denticola* yang dikenal sebagai bakteri *red complex*, merupakan bakteri yang biasanya berhubungan dengan kehilangan perlekatan dan tulang pada periodontitis kronis.<sup>7,8</sup>

Pemilihan dosis aman dipilih dari penelitian yang dilakukan oleh Hafez et al (2011)<sup>9</sup> yang menggunakan dosis minyak hati ikan hiu sebesar 10% dan 20% yang diberikan secara per oral untuk tikus dengan hiperkolesterolemia. Dosis aman minyak hati ikan hiu yang diberikan secara per oral untuk tikus adalah 1000-2000 mg/kg/hari. Oleh karena

hal tersebut peneliti ingin melakukan penelitian daya hambat pertumbuhan bakteri dengan menggunakan dosis 10%, 15%, dan 20%.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini terdiri dari 5 kelompok yaitu: satu kelompok kontrol positif (tetrasiklin), satu kelompok kontrol negatif (DMSO 1%), dan tiga kelompok perlakuan dengan konsentrasi minyak hati ikan hiu yang berbeda yaitu 10%, 15%, dan 20% dimana setiap kelompok terdiri dari 6 sampel.

Minyak hati ikan hiu yang digunakan didapatkan dari merk dagang X dan mengandung 100% hati hiu *Centrophorus sp* yang kemudian akan diencerkan dengan menggunakan DMSO 1%. Pada penelitian ini, bahan uji diencerkan sampai kandungannya mencapai 10%, 15%, dan 20%. Selanjutnya, bahan yang akan diuji terlebih dahulu diaduk hingga bahan tercampur homogen dengan pelarutnya menggunakan *vortex* selama 10 detik. Setelah itu disterilisasi dengan *syringe mikroporous membrane* diameter 0,2 µm untuk menjaga kemurnian dan adanya kontaminasi mikroorganisme lain.

Bakteri *Porphyromonas gingivalis* berupa biakan dalam media Blood Agar yang telah diinkubasikan selama 24 jam dengan suhu 37°C dalam suasana anaerob. Kekeruhan suspensi bakteri *Porphyromonas gingivalis* tersebut kemudian disamakan dengan standar *Mc Farland* 0,5 untuk memperoleh suspensi bakteri yang mengandung  $1.5 \times 10^8$  CFU/ml (*Colony Forming Units*) dengan memegang tabung reaksi bersebelahan

dan memandangnya pada latar belakang putih bergaris hitam.

Sejumlah 12 petri dish yang telah berisi media MHA steril dibagi menjadi 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Kemudian, mengambil biakan bakteri *Porphyromonas gingivalis* dari media BHI cair yang telah disetarakan dengan larutan *Mc Farland* 0,5 dan diusapkan pada seluruh permukaan lempeng media MHA agar steril dengan menggunakan lidi kapas steril.

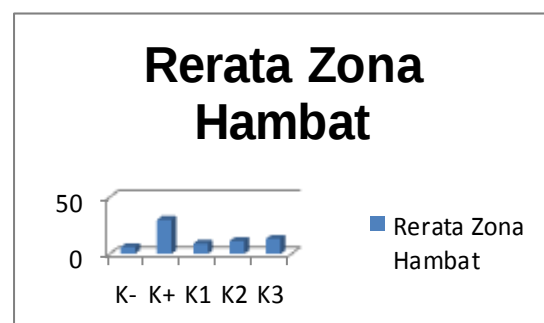
Uji daya hambat menggunakan metode difusi yaitu dengan meletakkan kertas saring yang sudah dicelup pada media MHA agar *Porphyromonas gingivalis*, sedangkan pada kelompok kontrol (+) menggunakan *tetracycline disk* dengan diameter 6mm. Kertas saring diletakkan pada media nutrisi agar yang berisi bakteri *Porphyromonas gingivalis* dengan menggunakan pinset steril yang sedikit ditekan, kemudian petridish dimasukkan ke dalam inkubator selama 2x24 jam dengan suhu 37°C dalam suasana anaerob. Setelah 2x24 jam, zona hambat yang berupa area jernih di sekitar kertas saring diukur dengan menggunakan *digital calipers*. Pengukuran dilakukan dari batas jernih terakhir yang berdekatan dengan koloni pada sebelah kiri sampai batas jernih terakhir yang berdekatan dengan koloni pada sebelah kanan. Diameter zona hambat yang timbul menunjukkan adanya daya antibakteri pada masing-masing konsentrasi minyak hati ikan hiu.

## HASIL

Data dari hasil penelitian di deskripsikan sebagai berikut :

**Tabel 1.** Rerata diameter zona hambat dan standar deviasi minyak hati ikan hiu terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*.

| Kelompok     | Replikasi | Rerata ± Standart Deviasi |
|--------------|-----------|---------------------------|
| K-           | 6         | 6,01 ± 0,00816            |
| K+           | 6         | 30,09 ± 2,32668           |
| K1           | 6         | 9,06 ± 0,49012            |
| K2           | 6         | 11,31 ± 0,48363           |
| K3           | 6         | 13,2 ± 0,96025            |
| <b>Total</b> | <b>30</b> |                           |



**Gambar 1.** Grafik rerata diameter zona hambat (mm)

Grafik diatas menunjukkan adanya daya hambat dari minyak hati ikan hiu. Diikuti dengan adanya peningkatan daya hambat dari konsentrasi 10% hingga 20%. Daya hambat terbesar dihasilkan oleh K+ (Tetrasiklin) sebagai kontrol positif. Daya hambat terbesar dari kelompok perlakuan yaitu pada kelompok K3 (20%).

Dari hasil uji Mann-Whitney menunjukkan terdapat perbedaan daya hambat bakteri *Porphyromonas gingivalis* yang bermakna ( $p < 0,05$ ) adalah kelompok K+ dengan kelompok K-, kelompok K1 dengan kelompok K- dan K+, kelompok K2 dengan kelompok K-, K+, dan K1, serta

kelompok K3 dengan kelompok K-, K+, K1, dan K2.

Penelitian ini menunjukkan bahwa minyak hati ikan hiu dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada semua kelompok perlakuan dengan konsentrasi 10%, 15%, dan 20%. Rata-rata zona hambat dengan minyak hati ikan hiu terbesar terdapat pada konsentrasi 20%, yaitu sebesar  $13,2 \pm 0,96025$ , sedangkan rata-rata zona hambat terkecil terdapat pada konsentrasi 10%, yaitu sebesar  $9,06 \pm 0,49012$ . Hal ini menunjukkan bahwa daya hambat dari minyak hati ikan hiu mengalami peningkatan sesuai dengan konsentrasi yang digunakan dalam penelitian. Pada kelompok kontrol positif dengan tetrasiklin didapatkan daya hambat terbesar yaitu  $30,09 \pm 2,32668$ . Selain itu, pada kelompok kontrol negatif dengan DMSO 1% didapatkan rerata sebesar  $6,01 \pm 0,00816$ , yang artinya tidak didapatkan adanya daya hambat karena 6 mm hanya merupakan diameter dari kertas saring.

## PEMBAHASAN

Penggunaan tetrasiklin sebagai kontrol terhadap perlakuan yang diberikan minyak hati ikan hiu karena tetrasiklin merupakan antibiotik yang sering digunakan dalam perawatan penyakit periodontal, juga tetrasiklin merupakan golongan antibiotik berspektrum luas sehingga memiliki kemampuan daya hambat yang sangat besar terhadap bakteri penyebab periodontitis, termasuk *Porphyromonas gingivalis*.<sup>10,7</sup> Tetrasiklin berkonsentrasi lebih tinggi dalam cairan gingiva dibandingkan pada sirkulasi aliran darah. Hal ini

membuat tetrasiklin lebih efektif dibandingkan antibiotik lainnya pada kasus perawatan penyakit periodontal.<sup>11</sup> Selain itu, tetrasiklin memiliki efek antikolagenase yang dapat menghambat kerusakan jaringan dan membantu regenerasi tulang.<sup>7</sup> Tetrasiklin bekerja dengan cara menghambat sintesis protein. Adanya gangguan sintesis protein pada bakteri tersebut akan mengakibatkan terhentinya sintesis protein dan dapat mengakibatkan kematian sel bakteri. Menurut Rinawati (2011),<sup>12</sup> antibiotik yang memiliki mekanisme kerja menghambat sintesis protein, mempunyai daya antibakteri yang sangat kuat. Hal ini ditunjukkan dengan rerata zona hambat tetrasiklin yang jauh lebih besar dibandingkan dengan minyak hati ikan hiu, yang mekanisme kerjanya dengan merusak dinding sel. Meskipun memiliki efek antibakteri yang sangat besar, tetrasiklin memiliki kekurangan yaitu memiliki efek samping seperti alergi, resistensi, dan bisa juga keracunan yang akan sangat berbahaya bagi manusia.<sup>13</sup>

Minyak hati ikan hiu mengandung *squalene*, *alkylglycerols*, *n3-PUFA* (*polyunsaturated fatty acid*), dan *squalamine*. Daya hambat minyak hati ikan hiu didapatkan melalui kandungan *squalene* dan *squalamine*. *Squalene* efektif dalam mengikat molekul oksigen yang bebas. *Squalene* mempunyai kandungan oksigen yang tinggi dan kandungan oksigen tersebut akan dibawa ke seluruh membran sel hingga membran dalam (*membrane cytoplasmic*) dan akan mencapai seluruh daerah dengan kandungan oksigen yang rendah.<sup>14</sup> Bakteri *Porphyromonas gingivalis* adalah bakteri gram negatif anaerob, dimana bakteri ini tidak dapat hidup pada

lingkungan dengan oksigen yang tinggi, dengan demikian pemberian squalene akan menyebabkan sel bakteri menjadi lisis.

Pemberian *squalamine* akan menyebabkan pelepasan ATP intraseluler yang lalu akan mengubah integritas dari membran sel dengan peningkatan permeabilitas dari membran sel. Peningkatan permeabilitas ini akan menyebabkan membran sel bakteri semakin mudah dilalui oleh *squalamine* sehingga *squalamine* akan masuk ke bakteri gram negatif yang menyebabkan membran sel luarnya menjadi rusak.<sup>15</sup> *Squalamine* bertindak sebagai molekul membran aktif yang akan menargetkan integritas membran dari bakteri melalui interaksi kelompok amino yang bermuatan positif dengan gugus fosfat yang bermuatan negatif pada lipopolisakarida (LPS). Pemberian *squalamine* akan menyebabkan perubahan susunan kontak molekul antara lapisan dalam dan luar dari *lipid layer*, yang akan menyebabkan induksi pertukaran lipid. Perubahan pada membran sel akan ditunjukkan dengan struktur membran yang berkerut dan sel yang kosong. Kerusakan besar pada membran bakteri disebabkan oleh sifatnya yang seperti *detergent effect* pada *micelle formation*.<sup>4</sup> Membran sel yang rusak akan diikuti oleh kematian sel bakteri. Menurut Alhanout (2010),<sup>4</sup> *squalamine* efektif digunakan sebagai antibakteri baik pada bakteri gram negatif ataupun bakteri gram positif. Dalam penelitian ini digunakan seluruh minyak hati ikan hiu yang mengandung 4 komponen aktif. Squalene dan *squalamine* merupakan komponen aktif dengan kandungan terbesar. Kandungan n3-pufa dan alkylglycerols jauh lebih kecil dibandingkan kandungan squalene dan

*squalamine*, sehingga efeknya tidak terlalu berpengaruh terhadap viabilitas bakteri.

Sesuai dengan hasil penelitian ini, minyak hati ikan hiu memiliki efek antibakteri terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Daya hambat terbesar didapatkan dengan konsentrasi 20%, namun efektifitasnya masih jauh dibandingkan dengan tetrasiklin sehingga apabila digunakan secara topikal atau lokal bersama dengan tetrasiklin diharapkan penggunaan tetrasiklin menjadi lebih singkat sehingga dapat mengurangi resiko terjadinya resisten dan mempercepat penyembuhan.

## SIMPULAN

Minyak hati ikan hiu dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada konsentrasi 10%, 15%, dan 20%. Konsentrasi minyak hati ikan hiu 20% diketahui memiliki daya hambat terbesar diantara terbesar diantara konsentrasi lainnya, namun daya hambatnya masih lebih kecil dibandingkan dengan tetrasiklin sebagai kontrol positif.

## DAFTAR PUSTAKA

1. White WT, Last PR, Stevens JD, Yearsly GK, Fahmi, Dharmadi. 2006. Economically Important Sharks and Rays. Australia : Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR). P. 76-66 3-1.
2. Kementrian Perdagangan Republik Indonesia. 2013. Market Brief : Sirip Ikan Hiu Atase Perdagangan Tokyo. Market Brief Atdag Tokyo 3/2013. Available from : [http://dipen.kemendag.go.id/app\\_frontend/admin/docs/researchcorner/3431376299938hiu.pdf](http://dipen.kemendag.go.id/app_frontend/admin/docs/researchcorner/3431376299938hiu.pdf). Diakses 25 Juni 2014.

3. Guyton AC, Hall JE. 2008. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Edisi 11. Jakarta: EGC.
4. Alhanout K, Malesinki S, Vidal N, Peyrot V, Rolain JM, Brunel JM. 2010. New insights into the Antibacterial Mechanism of action of squalamine. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* doi:10.1093/jac/dkq213. Available from: <http://jac.oxfordjournals.org/content/early/2010/06/14/jac.dkq213.full>. Diakses 6 April 2014.
5. Tjan, Lukas. 2006. Squalene, The Miraculous Essential omega 2 oil, Secrets from the sea. Science Nutritions. Available at : <http://www.scienceforlife.eu/tekst%20what%20is%20squalene.htm>. Diakses 24 Maret 2014.
6. Newman MG, Takei HH, Carranza FA. 2006. *Clinical Periodontology*. 10<sup>th</sup> Edition. Philadelphia : WB Saunders. P. 241-5.
7. Newman MG, Takei H, Carranza FA, Klokkevold PR. 2012. *Clinical Periodontology* 11th.Edition. Missouri : Saunder Elsevier. P. 492, 482-4, 294-8, 222, 201-5, 163,130.
8. Herawati D, Fauziah. 2008. Aplikasi Subgingiva Gel Metronidasol 25% Sebagai Bahan Tambahan pada Scaling dan Root Planing. *Majalah Kedokteran Gigi*. 15 (2): 186-183.
9. Hafez AMM, Othman MA, Seleim MAA. 2011. Effect of Shark Oil on Renal Cortical Structure In Hypercholesterolemic Rats. *Egyptian Journal of Histology* 05/2011; 34(2):391-402. Available from : [http://www.researchgate.net/publication/232209030\\_Effect\\_of\\_shark\\_liver\\_oil\\_on\\_renal\\_cortical\\_structure\\_in\\_hypercholesterolemic\\_rats](http://www.researchgate.net/publication/232209030_Effect_of_shark_liver_oil_on_renal_cortical_structure_in_hypercholesterolemic_rats). Diakses 9 Mei 2014.
10. Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran* Ed 20. Jakarta: Salemba Medika. H. 120-26.
11. Perry A Dorothy, Beemsterboer L Phyllis. 2007. *Periodontology for the Dental Hygienist* 3<sup>rd</sup> ed. Missouri : Saunders Elsevier. P. 249-50, 82-3, 39.
12. Rinawati DW. 2011. Daya Hambat Tumbuhan Majapahit (*Crescentia cujute* L) Terhadap Bakteri *Vibrio alginolyticus*. Skripsi, Institut teknologi Sepuluh November Surabaya. Jawa Timur.
13. Gunawan SG, Setiabudy R, Nafrialdi, Elysabeth. 2009. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 5. Jakarta. Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. H. 585.
14. Güneş, FE. 2013. Medical Use of Squalene as a Natural Aktioksidan. *Journal of Marmara University Institute of Health Sciences*, 3(4) Available from : [www.scopemed.org/?mno=47406](http://www.scopemed.org/?mno=47406). Diakses tanggal 9 Mei 2014
15. Lavigne JP, Brunel JM, Chevalier J, Pages JM. 2010. Squalamine, an original chemosensitizer to combat antibioticresistant Gram-negative bacteria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* Advance Access doi:10.1093/jac/dkq031. Available from : <http://jac.oxfordjournals.org/content/65/4/799.full>. Diakses 10 April 2014.