

LAPORAN PENELITIAN

Daya Hambat Ekstrak Teripang Emas (*Stichopus hermanii*) terhadap Bakteri *Enterococcus faecalis*

(Inhibitory Effect of Gold Sea Cucumber (*Stichopus Hermanii*)
Extract on *Enterococcus faecalis* Bacteria)

Roy Tamara*, Linda Rochyani**, Paulus Budi Teguh***

*Sarjana Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

**Konservasi Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

***Prostodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

ABSTRACT

Background: *Enterococcus faecalis* is one caused bacteria of root canal infections. ChKM is mostly used as sterilization agent in endodontic treatment. *Stichopus hermanii* extract has been reported to have antibacterial effects for gram-negative and gram-positive bacteria, so could be potentially developed as a root canal sterilization agent. **Purpose:** The aim of this study was to determine the inhibitory effect of *Stichopus hermanii* extract on *Enterococcus faecalis* bacteria. **Materials and Methods:** This study was an experimental study with post test only control group design and were tested by diffusion methods with 4 groups concentration of 2,5%, 3%, 3,5%, 4%, and 2 controls groups using DMSO 1% as negative control, and ChKM as positive control, each group consisted of 7 samples. The inhibition effect were examined by measure the diameter of the clear zone around the disc. Data were analyzed by one way ANOVA test and followed by LSD test. **Results:** Results showed that the mean of inhibition zone at concentrations of 2,5% (7,3543 mm), 3% (8,1086 mm), 3,5% (8,7286 mm), 4% (9,4029 mm), DMSO 1% (6,0257 mm) and ChKM (25,49 mm). It had been proved that. *Stichopus hermanii* extract could inhibit the growth of *Enterococcus faecalis* ($p < 0,05$). The largest diameter of the clear zone was in the concentration of 4%. **Conclusion:** *Stichopus hermanii* extract could inhibit the growth of *Enterococcus faecalis* and the most effective inhibitory concentration is 4%.

Keywords: Endodontic treatment, antibacterial, *Stichopus hermanii*, *Enterococcus faecalis*

Correspondence: Linda Rochyani, Department of Convservation, Faculty of Dentistry, Hang Tuah University, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Phone. 031-5912191, Email: lindarochyani@yahoo.co.id

ABSTRAK

Latar belakang: *Enterococcus faecalis* merupakan salah satu bakteri penyebab infeksi saluran akar. Perawatan saluran akar terdiri dari beberapa tahapan, diantaranya yaitu sterilisasi saluran akar. ChKM merupakan obat yang sering digunakan pada tahapan ini. Ekstrak *Stichopus hermanii* diketahui memiliki efek antibakteri terhadap bakteri gram negatif dan gram positif, sehingga berpotensi dikembangkan sebagai obat sterilisasi saluran akar.

Tujuan: Untuk mengetahui kemampuan ekstrak *Stichopus hermanii* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*. **Bahan dan Metode:** Penelitian eksperimental dengan desain penelitian the post test only control group, serta diuji menggunakan metode difusi dengan 4 konsentrasi, yaitu 2,5%, 3%, 3,5%, 4%, dan 2 kontrol yaitu kontrol negatif menggunakan DMSO 1% serta kontrol positif menggunakan ChKM, dimana tiap kelompok terdiri dari 7 sampel. Daya hambat diperiksa dengan mengukur diameter zona jernih disekitar kertas saring. Analisis data menggunakan uji one way ANOVA diikuti dengan uji LSD. **Hasil:** Hasil penelitian menunjukkan rerata zona hambat pada konsentrasi 2,5% (7,3543 mm), 3% (8,1086 mm), 3,5% (8,7286 mm), 4% (9,4029 mm), untuk kontrol negatif DMSO 1% (6,0257 mm) dan kontrol positif ChKM (25,49 mm). Ini menunjukkan bahwa ekstrak *Stichopus hermanii* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis* ($p < 0,05$). Diameter terbesar dari zona jernih di sekitar kertas saring terdapat pada konsentrasi 4%. **Simpulan:** Ekstrak *Stichopus hermanii* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis* dengan konsentrasi hambat yang paling efektif adalah 4%.

Kata kunci: perawatan endodontik, antibakteri, *Stichopus hermanii*, *Enterococcus faecalis*

Korespondensi: Linda Rochyani, Departemen Konsevasi Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Telepon 031-5912191, Email: lindarochyani@yahoo.co.id

PENDAHULUAN

Kesehatan gigi dan mulut masyarakat Indonesia masih merupakan hal yang perlu mendapat perhatian serius dari tenaga kesehatan, baik dokter maupun perawat gigi, hal ini terlihat bahwa penyakit gigi dan mulut masih diderita oleh 90% penduduk Indonesia. Penyakit gigi dan mulut yang banyak diderita masyarakat di Indonesia adalah penyakit jaringan penyangga gigi dan karies gigi.¹

Survei Nasional Riskesdas 2007 melaporkan bahwa 75% penduduk Indonesia memiliki riwayat karies gigi dengan rata-rata jumlah kerusakan gigi sebesar lima gigi setiap orang dan empat gigi diantaranya sudah dicabut karena sudah tidak bisa dipertahankan

lagi.² Salah satu usaha mempertahankan gigi dengan karies yang parah agar tetap berada dalam lengkungnya dan berfungsi dengan baik adalah perawatan saluran akar.³ Perawatan saluran akar dapat mengalami keberhasilan atau kegagalan. Perawatan saluran akar dikatakan berhasil jika pasien tidak merasa sakit saat dilakukan palpasi dan perkusi, tidak ada pembengkakan, terjadi penyembuhan tulang yang sempurna, dan resorpsi akar berhenti. Perawatan saluran akar dikatakan gagal jika pasien sensitif saat dilakukan palpasi dan perkusi, terjadi pembengkakan karena infeksi sekunder.⁴

Terdapat bermacam-macam penyebab kegagalan perawatan saluran akar, antara lain preparasi saluran akar

yang kurang, pengisian saluran akar yang tidak adekuat dan mikroorganisme. Diantara faktor-faktor tersebut, mikroorganisme baik yang tersisa setelah perawatan saluran akar atau yang timbul setelah pengisian saluran akar merupakan faktor utama penyebab kegagalan perawatan saluran akar.⁵ Banyak penelitian telah menunjukkan bahwa mikroorganisme dipertimbangkan sebagai penyebab utama adanya kelainan pulpo-periapikal yang persisten sebagai kegagalan endodontik.⁶ Mikroorganisme dan produknya memiliki peran yang penting dalam patogenesis infeksi pulpa dan periapikal.⁷

Mikroorganisme yang paling banyak diisolasi dari saluran akar yang terinfeksi adalah bakteri obligat *anaerob*.⁸ Pada perawatan saluran akar yang gagal, ditemukan sejumlah bakteri *anaerob* seperti *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*), *Streptococcus anginosus*, *Bacteroides gracilis*, dan *Fusobacterium nucleatum*.⁹

Enterococcus faecalis adalah suatu bakteri fakultatif gram positif yang dikenal sebagai spesies yang paling resisten pada rongga mulut dan paling sering ditemukan pada kasus dengan kelainan setelah perawatan saluran akar.⁶ *Enterococcus faecalis* merupakan suatu organisme yang mempunyai peran penting sebagai etiologi dari lesi periradikuler yang persisten setelah perawatan saluran akar.¹⁰ *Enterococcus faecalis* ditemukan sebanyak 20 dari 30 kasus infeksi endodontik yang persisten pada gigi yang telah dilakukan perawatan saluran akar. Spesies ini ditemukan pada 18% dari kasus infeksi endodontik primer, prevalensinya pada gigi dengan pengisian saluran akar lebih tinggi lagi yaitu 67% dari

kasus.¹¹ Prevalensi *Enterococcus faecalis* disebabkan antara lain karena *Enterococcus faecalis* dapat beradaptasi pada kondisi yang kurang menguntungkan seperti hiperosmolaritas, panas, *ethanol*, hidrogen peroksida, asam, dan basa.⁶ *Enterococcus faecalis* dapat menginvasi tubulus dentin untuk perlindungan dari preparasi saluran akar kemomekanikal, dan teknik dressing intrakanal. Selanjutnya jika ada kesempatan, *Enterococcus faecalis* dapat terlepas dari tubuli menuju ruangan saluran akar dan menjadi sumber infeksi ulang.¹² Beberapa studi telah melaporkan rendahnya sensitifitas *Enterococcus faecalis* terhadap terhadap obat-obatan sterilisasi saluran akar seperti kalsium hidroksida karena diperkirakan efek basa-nya meningkatkan sifat adhesif dari bakteri.¹³

Eliminasi *Enterococcus faecalis* dari akar yang terinfeksi telah menjadi fokus utama dalam perawatan saluran akar karena keberadaan bakteri tersebut memegang peranan penting dalam patogenesis penyakit pulpa dan periradikular serta keberhasilan dari perawatan saluran akar. Hal yang terpenting dari perawatan endodontik adalah aktivitas reduksi atau eliminasi bakteri yang menginfeksi.^{14,15} Mengingat anatomi ruang pulpa yang sangat rumit serta jauhnya penetrasi bakteri ke dalam tubulus dentin, maka tindakan preparasi saluran akar disertai irigasi tidak dapat membebaskan saluran akar dari bakteri, sehingga diperlukan medikamen saluran akar atau sterilisasi saluran akar.¹⁶

Perawatan saluran akar membutuhkan penggunaan obat sterilisasi yang mampu mengeliminasi endotoksin bakteri yang telah melekat pada struktur gigi yang tidak

tereliminasi sempurna saat proses instrumentasi saluran akar. Penggunaan obat sterilisasi saluran akar selama perawatan endodontik harus dapat mensterilisasi dan mengurangi jumlah mikroorganisme patogen dalam saluran.¹⁴ Salah satu obat sterilisasi saluran akar yang sering digunakan adalah golongan fenol, seperti *ChKM* dan *Cresophene*. Obat sterilisasi golongan fenol ini memiliki beberapa kelemahan yaitu bau yang menyengat, rasa tidak enak, dapat terserap oleh tumpatan sementara, dapat menyebar ke rongga mulut sehingga pasien akan mengeluhkan rasa yang tidak enak dan bersifat alergen sehingga dapat menyebabkan reaksi imun yang dapat membahayakan pulpa.^{16,17}

Banyaknya kelemahan dari obat-obat sterilisasi saluran akar dan adanya bakteri yang resisten terhadap antibiotik seperti *Enterococcus faecalis* mengakibatkan penggunaan antibiotik dalam terapi menjadi terbatas, sehingga para peneliti mulai mengembangkan terapi non-antibiotik baik sebagai terapi pengobatan penyakit ataupun sebagai upaya pencegahan penyakit.¹⁸ Bahan-bahan yang digunakan sebagai terapi non-antibiotik dapat menggunakan bahan-bahan yang berasal dari laut Indonesia. Laut Indonesia memiliki sumber daya hayati dan nonhayati yang besar jumlahnya. Adapun sumber daya hayati diantaranya teripang emas yang termasuk salah satu spesies timun terbanyak ditemukan pada perairan laut dangkal di wilayah laut Indonesia.¹⁹

Teripang (filum *Echinodermata*) memiliki kandungan gizi yang telah dibuktikan oleh peneliti modern dapat menyembuhkan luka, digunakan sebagai antikoagulan dan

antitrombotik, menurunkan kadar kolesterol dan lemak darah, antikanker, antitumor, imunostimulan, antirematik, antimalaria, antivirus, antijamur, dan antibakteri.²⁰ Senyawa metabolit sekunder saponin *Stichopus hermanii* terbukti mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan bakteri gram negatif seperti *Bacillus subtilis*, *Streptococcus mutans*, dan *Mixed Periodontopathogen*.^{21,22,23}

Ekstrak *Stichopus hermanii* bersifat tidak toksik pada konsentrasi hingga 2,5% terhadap stem sel fibroblas gingival.²⁴ Konsentrasi ekstrak *Stichopus hermanii* yang digunakan dalam penelitian ini adalah 2,5%, 3%, 3,5% dan 4% dengan asumsi bahwa bakteri *Enterococcus faecalis* memiliki mekanisme pertahanan yang lebih kuat dibandingkan dengan stem sel fibroblas gingival, sehingga diperlukan konsentrasi yang lebih tinggi untuk menghambat pertumbuhan bakteri tersebut. Penelitian tentang daya hambat ekstrak *Stichopus hermanii* terhadap pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis* belum pernah dilakukan.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi ekstrak teripang emas dalam menghambat pertumbuhan *Enterococcus faecalis*, sehingga hasil penelitian ini dapat dieksplorasi pemanfaatannya bagi pengembangan teknologi kedokteran khususnya ekstrak teripang emas dalam menghambat bakteri *Enterococcus faecalis* pada infeksi endodontik yang persisten pasca perawatan saluran akar.

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian *true experimental*

dengan rancangan penelitian *the post test only control group design*.

Besar sampel pada penelitian ini adalah 42 petridish berisi koloni bakteri *Enterococcus faecalis* yang dibagi dalam 6 kelompok. Teknik pengambilan sampel adalah secara *simple random sampling* (acak atau secara undian).

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah masker, *handsoun*, rak tabung reaksi, tabung reaksi, *petridish* (cawan petri), *yellow tip*, *blue tip*, mikro pipet, *autoclave*, inkubator, pinset, excavator, spiritus brander, korek api, *anaerobic jar*, gaskit, blender, timbangan digital, *vacum rotary evaporator*, *digital calipers* Krisbow dengan ketelitian 0,01 mm, kertas saring berbentuk lingkaran Ø 6 mm, lidi kapas steril, *syringe microporus membrane* (mikro filter) *Whatman* Ø 0,2 µm.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah suspensi bakteri *Enterococcus faecalis*, ekstrak *Stichopus hermanii* dengan konsentrasi 2,5%, 3%, 3,5% dan 4%, *ChKM*, etanol 96 %, *DMSO* 1%, larutan *Mc Farland* 0,5, media *BHI* cair, media *BHI* agar.

Ekstrak *Stichopus hermanii* diperoleh melalui metode maserasi hasil *freeze dried Stichopus hermanii* dengan pelarut etanol 96%. *Stichopus hermanii* segar dibersihkan dari organ bagian dalam dan dicuci bersih dengan air. Setelah itu diblender dengan aquades dan dikeringkan dengan alat *freeze dryer*. Hasil *freeze dried Stichopus hermanii* di blender untuk mendapatkan partikel yang lebih kecil dan halus. Setelah itu mulai dilakukan maserasi selama 3 hari dengan pelarut etanol untuk mendapatkan ekstrak etanol *Stichopus hermanii*. Selanjutnya hasil maserasi diuapkan dengan alat

evaporator suhu 50°C agar zat pelarut terpisah kemudian hasil penguapan didinginkan sehingga menghasilkan ekstrak kental (ekstrak etanol teripang emas).²⁵

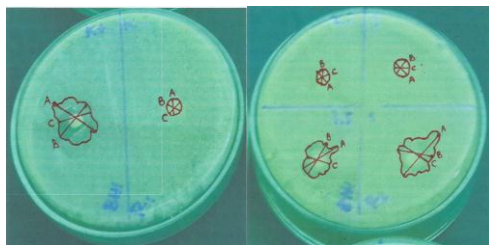
Persiapan ekstrak *Stichopus hermanii* dengan berbagai konsentrasi di dalam tabung-tabung steril dengan menggunakan pengenceran *DMSO* 1%.

Bakteri *Enterococcus faecalis* biakan murni berupa biakkan dalam *BHI* cair yang sudah diinkubasi selama 24 jam dalam suasana *anaerob*, selanjutnya kekeruhannya disetarakan dengan standar *Mc Farland* 0,5.

Daya hambat diuji menggunakan metode difusi (metode *Kirby – Bauer*). Pertama, disiapkan 1 tabung reaksi. Tabung reaksi diisi dengan *BHI* cair yang telah diinokulasikan dengan 1 ml suspensi bakteri *Enterococcus faecalis* yang setara dengan larutan *Mc. Farland* 0,5. Biakan bakteri diusapkan pada seluruh permukaan lempeng *BHI* agar steril dengan menggunakan kapas lidi steril.

Siapkan 42 cakram kertas saring. 7 cakram kertas saring masing-masing dicelupkan ke dalam bahan antibakteri yaitu ekstrak *Stichopus hermanii* 2,5% selama 10 detik. 7 cakram kertas saring masing-masing dicelupkan ke dalam bahan antibakteri yaitu ekstrak *Stichopus hermanii* 3% selama 10 detik. 7 cakram kertas saring masing-masing dicelupkan ke dalam bahan antibakteri yaitu ekstrak *Stichopus hermanii* 3,5% selama 10 detik. 7 cakram kertas saring masing-masing dicelupkan ke dalam bahan antibakteri yaitu ekstrak *Stichopus hermanii* 4% selama 10 detik. 7 cakram kertas saring masing-masing dicelupkan ke dalam larutan *ChKM* 1 ml. 7 cakram kertas saring lainnya masing-masing dicelupkan ke dalam *DMSO* 1% 1 ml.

Letakkan seluruh kertas saring tersebut pada media *BHI* agar *Enterococcus faecalis* dengan menggunakan pinset steril agak ditekan-tekan. *Petri dish* dimasukkan ke dalam inkubator selama 2x24 jam dengan suhu 37° C dalam sungkup *anaerob*. Setelah 48 jam, diameter zona hambat yang terbentuk berupa area jernih (*clear zone*) disekitar kertas saring diukur dengan menggunakan *digital calipers* (dalam satuan mm). Pengukuran tersebut dilakukan sebanyak tiga kali dari jarak daerah jernih terpanjang, terpendek, dan media dengan menggunakan *digital calipers* dalam satuan millimeter (mm) lalu dibagi 3 sehingga didapatkan rata-ratanya (*means*). Diameter zona hambat yang timbul menunjukkan adanya daya antibakteri pada masing-masing konsentrasi ekstrak *Stichopus hermanii*.²⁶



Gambar 1. Pengukuran diameter zona hambat pada kelompok kontrol dan ekstrak *Stichopus hermanii*

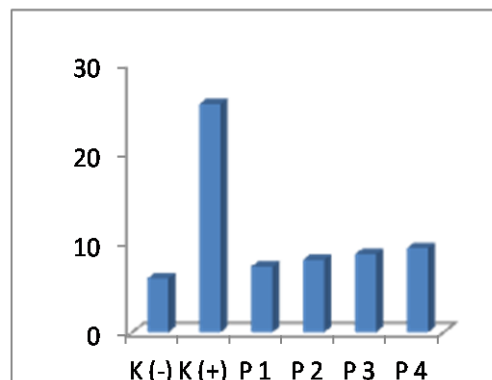
Teknik analisa data yang dipakai untuk membandingkan daya hambat pemberian ekstrak *Stichopus hermanii* dengan konsentrasi 2,5%, 3%, 3,5% dan 4% terhadap pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis* adalah dengan uji *one way analysis of varians* (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji *LSD*.²⁷

HASIL

Data yang diperoleh dari hasil penelitian ditabulasi dan dianalisis secara deskriptif yang bertujuan untuk memperoleh gambaran distribusi dan peringkasan data guna memperjelas penyajian hasil, kemudian dilakukan uji hipotesis menggunakan statistik analitik dengan taraf signifikansi 95% ($p=0,05$) dengan menggunakan program SPSS versi 20.

Tabel 1. Rata-rata dan simpangan baku diameter zona hambat ekstrak teripang emas (*Stichopus hermanii*) terhadap bakteri *Enterococcus faecalis* pada *BHI* Agar dengan satuan milimeter

Kelompok	Rerata (mm)	Standar Deviasi
K(-)	6.0257	0.04541
K(+)	25.49	4.84769
P1	7.3543	0.43539
P2	8.1086	0.70615
P3	8.7286	0.70615
P4	9.4029	1.18619



Gambar 2. Rata-rata diameter zona hambat pada masing-masing kelompok

Sebelum dilakukan uji hipotesis, maka setiap kelompok diuji normalitasnya dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk*, karena pada penelitian ini jumlah sampel <50.

Hasil uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa data berdistribusi normal dan hasil uji *Levene* didapatkan

nilai signifikansi 0.123, sehingga dapat disimpulkan bahwa data hasil penelitian homogen ($p > 0,05$).

Hasil data di atas diketahui memiliki distribusi data yang normal dan memiliki varians yang homogen. Oleh karena itu, uji dilanjutkan dengan menggunakan uji *one way ANOVA* karena desain/rancangan penelitian ini menggunakan lebih dari 2 kelompok yang tidak berpasangan dengan skala pengukuran numerik (rasio). Uji *one way ANOVA* ini digunakan untuk mengetahui adanya perbedaan pada tiap kelompok baik secara terpisah maupun bersama-sama.

Pada uji *one way ANOVA*, diperoleh nilai $p = 0.000$ ($p < 0.05$) yang artinya terdapat perbedaan yang bermakna (signifikan). Selanjutnya, untuk melihat perbedaan daya hambat masing-masing kelompok perlakuan, maka dilakukan pengujian *LSD* dengan signifikansi $p < 0.05$.

Tabel 2. Tabel hasil uji *LSD*

Kelompok	Rata-rata	Kelompok	Rata-rata	Sig.
K(-)	6.0257	K(+)	25.49	0.000*
		P1	7.3543	0.000*
		P2	8.1086	0.000*
		P3	8.7286	0.000*
		P4	9.4029	0.000*
K(+)	25.49	P1	7.3543	0.000*
		P2	8.1085	0.000*
		P3	8.7286	0.000*
		P4	9.4029	0.000*
P1	7.3543	P2	8.1086	0.025*
		P3	8.7286	0.000*
		P4	9.4029	0.000*
P2	8.1086	P3	8.7286	0.098
		P4	9.4029	0.030*
P3	8.7286	P4	9.4029	0.130

Keterangan : * $p < 0.05$

Dari hasil uji *LSD* diketahui bahwa perbedaan rerata diameter zona hambat pada kelompok K(-) signifikan dibandingkan dengan kelompok K(+), P1, P2, P3, dan P4. Kelompok K(+)

signifikan dibandingkan dengan kelompok P1, P2, P3, dan P4. Kelompok P1 signifikan dibandingkan dengan kelompok P2, P3 dan P4. Kelompok P2 signifikan dibandingkan dengan kelompok P4. Perbedaan yang paling signifikan terdapat pada kelompok K(-) dengan kelompok K(+), P1, P2, P3, P4, antara kelompok K(+), dengan kelompok P1, P2, P3, P4, dan antara kelompok P1 dengan kelompok P3, P4.

PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan 6 kelompok, yaitu kelompok K(-) sebagai kontrol negatif menggunakan *DMSO* 1%, kelompok K(+), sebagai kontrol positif menggunakan *ChKM* dan kelompok 1, 2, 3 dan 4 adalah kelompok perlakuan yang diberi ekstrak *Stichopus hermannii* dengan konsentrasi yang berbeda, yaitu 2,5%, 3%, 3,5% dan 4%.

Peneliti menggunakan *DMSO* 1% sebagai kontrol negatif karena dapat digunakan sebagai pengencer bahan alam agar lebih mudah homogen. *DMSO* 1% memiliki sifat antibakteri yang kecil sehingga dapat mempengaruhi daya penghambatan bakteri.²⁸ Hal ini dapat dilihat dari rerata zona hambat pada kelompok kontrol negatif (*DMSO* 1%), yaitu 6,0257 mm. Peneliti menggunakan *ChKM* sebagai kontrol positif karena salah satu mekanisme kerja *ChKM* dalam menghambat bakteri sama dengan mekanisme kerja flavonoid yang terkandung dalam ekstrak *Stichopus hermannii* yaitu mendenaturasi protein sel bakteri.^{29,30,31} Selain itu *ChKM* merupakan obat sterilisasi saluran akar yang sering digunakan dalam klinik dan harganya relatif murah.¹⁷

Ekstrak teripang emas (*Stichopus hermanii*) yang digunakan di dalam penelitian ini dibuat dengan metode *freeze drying* yang kemudian dilarutkan dengan pelarut etanol (polar) dengan metode maserasi. Keuntungan menggunakan metode *freeze drying* adalah kadar air pada hasil ekstrak lebih rendah dibandingkan dengan metode ekstrak yang lain. Hal ini disebabkan oleh bahan yang akan diekstrak dibekukan terlebih dahulu kemudian dilanjutkan dengan pengeringan dengan menggunakan tekanan rendah sehingga kandungan air yang sudah menjadi es akan langsung menjadi uap (sublimasi). Tingkat keamanan senyawa dalam ekstrak lebih baik karena resiko terjadinya degradasi senyawa dalam ekstrak cukup rendah karena suhu yang digunakan cukup rendah.³² Setelah *freeze drying* selesai dilakukan, hasil *freeze dry* tersebut diekstraksi dengan pelarut etanol dengan metode maserasi.³³

Metode maserasi adalah cara ekstraksi sederhana yang dilakukan dengan cara merendam serbuk sampel dalam pelarut organik selama satu hari sebanyak tiga kali perulangan pada temperatur kamar dan terlindungi dari cahaya. Maserasi sangat menguntungkan dalam mengekstrak senyawa bahan alam, karena dengan perendaman, pelarut akan mempunyai waktu interaksi dengan sampel lebih lama untuk melakukan pemecahan dinding dan membran sel sampel. Hal ini terjadi karena adanya perbedaan tekanan antara bagian dalam dan luar sel sehingga senyawa metabolit sekunder yang ada di dalam sitoplasma akan keluar dan terlarut dalam pelarut organik.³⁴

Peneliti memilih etanol sebagai pelarut karena etanol merupakan

senyawa polar yang bersifat universal yang dapat melarutkan senyawa bersifat polar dan sedikit senyawa non-polar. Etanol umumnya dapat mengekstrak komponen dari golongan glikosida dan minyak atsiri.³⁵ Hasil uji senyawa kandungan *triterpene glycoside* pada ekstrak etanol lebih besar daripada kandungan *triterpene glycoside* pada ekstrak heksana.³⁶ *Triterpene glycoside* merupakan sebutan untuk *holothurin* yang merupakan senyawa saponin pada teripang dan berfungsi sebagai antibakteri.³⁷ Konsentrasi etanol yang digunakan sebagai pelarut dalam penelitian ini adalah konsentrasi 96% karena menghasilkan pemisahan kandungan yang lebih mudah.³⁸

Maserat yang diperoleh berupa ekstrak etanol diuapkan dengan alat penguap *rotary evaporator*. Alasan penggunaan *rotary evaporator* sebagai alat penguap adalah karena pelarut dapat menguap di bawah titik didihnya dengan bantuan penurunan tekanan sehingga senyawa kimia yang terkandung di dalam pelarut tidak rusak atau terdekomposisi.³⁴

Penelitian untuk melihat adanya daya hambat ekstrak *Stichopus hermanii* terhadap pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis* dilakukan dengan metode difusi yang menggunakan media agar *BHI*. Agar *BHI* merupakan media agar yang baik untuk membiakkan bakteri *Enterococcus faecalis* karena media ini dilengkapi dengan hemin dan vitamin K1 yang dapat berfungsi sebagai faktor pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*.³⁹ Penelitian ini menggunakan metode difusi karena karena penelitian tentang daya hambat ekstrak *Stichopus hermanii* terhadap pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis* dengan metode difusi belum

pernah dilakukan, sehingga dengan metode ini peneliti dapat melihat tingkat sensitivitas *Enterococcus faecalis* terhadap ekstrak *Stichopus hermanii* secara kualitatif.

Hasil penelitian yang dilakukan memperlihatkan bahwa makin besar konsentrasi ekstrak *Stichopus hermanii* maka makin besar pula diameter zona hambatnya. Rata-rata zona hambat pada konsentrasi 2,5% (7,3543 mm), 3% (8,1086 mm), 3,5% (8,7286 mm) dan 4% (9,4029 mm). Pada penelitian ini telah dapat disimpulkan bahwa ekstrak *Stichopus hermanii* dengan konsentrasi 2,5%, 3%, 3,5% dan 4% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis* dengan rata-rata zona hambat terbesar pada konsentrasi 4% sebesar 9,4029 mm, tetapi *ChKM* yang digunakan sebagai kontrol positif pada penelitian ini memiliki zona hambat yang jauh lebih besar yaitu dengan rata-rata sebesar 25,49 mm. Terdapat dua alasan yang menyebabkan hal tersebut dapat terjadi, yaitu *ChKM* mempunyai zat antibakteri *chloro-phenol* sebesar 60%. Pada ekstrak teripang emas, persentase senyawa antibakterinya kecil, yaitu flavonoid 0,04%, alkaloid 0,11%, saponin 0,12% dan tanin 0,02%.^{30,40} Alasan kedua adalah adanya kandungan *kamfer* dalam *ChKM* yang berfungsi memperpanjang efek antimikroba, sehingga daya hambat *ChKM* lebih besar dibandingkan ekstrak *Stichopus hermanii*.⁴⁰

Hasil uji *LSD* yang telah dilakukan menunjukkan bahwa perbandingan rerata diameter zona hambat antar semua kelompok ekstrak *Stichopus hermanii* menunjukkan perbedaan yang bermakna, kecuali perbandingan antara konsentrasi 3% dan 3,5%, serta konsentrasi 3,5% dan 4%. Perbedaan yang paling signifikan

ditentukan dengan rerata diameter zona hambat yang paling besar, yaitu ekstrak *Stichopus hermanii* pada konsentrasi 4%.

Antibiotik yang memiliki mekanisme kerja menghambat sintesis protein, mempunyai daya antibakteri sangat kuat.⁴¹ Hal ini ditunjukkan dengan ukuran zona hambat *ChKM* jauh lebih besar dibanding zona hambat yang menggunakan ekstrak *Stichopus hermanii*. *ChKM* sebagai antibiotik non alamiah memiliki beberapa kekurangan seperti yang telah dijelaskan sebelumnya yaitu bau yang menyengat, rasa tidak enak, dapat terserap oleh tumpatan sementara, dapat menyebar ke rongga mulut sehingga pasien akan mengeluhkan rasa yang tidak enak dan bersifat alergen sehingga dapat menyebabkan reaksi imun yang dapat membahayakan pulpa.¹⁶ Pemilihan ekstrak *Stichopus hermanii* sebagai antibakteri alamiah dapat dijadikan alternatif dalam mengeliminasi bakteri *Enterococcus faecalis* yang resisten di dalam saluran akar merupakan pilihan yang dapat diaplikasikan.

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat dipilih dan diaplikasikan ekstrak *Stichopus hermanii* dengan konsentrasi 4% karena memiliki zona hambat yang lebih besar, sehingga diasumsikan lebih baik dibandingkan dengan ekstrak *Stichopus hermanii* dengan konsentrasi 2,5%, 3% dan 3,5%.

SIMPULAN

Ekstrak teripang emas (*Stichopus hermanii*) dengan konsentrasi sebesar 2,5%, 3%, 3,5%, dan 4% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*. Konsentrasi ekstrak teripang emas (*Stichopus*

hermanii) 4% memiliki daya hambat terbesar diantara konsentrasi lainnya, namun daya hambat yang dihasilkan masih lebih kecil dibandingkan dengan *ChKM* (*Chlorophenol Kamfer Menthol*) sebagai kontrol positif.

DAFTAR PUSTAKA

- Anitasari S dan Rahayu N.E. 2005. Hubungan Frekuensi Menyikat Gigi dengan Tingkat Kebersihan Gigi dan Mulut Siswa Sekolah Dasar Negeri di Kecamatan Palaran Kotamadya Samarinda Provinsi Kalimantan Timur. *Maj, Kedokteran Gigi (Den. J.)*, 38 (2): 90-88.
- Depkes RI. 2012. Pedoman Paket Dasar Pelayanan Kesehatan Gigi dan Mulut di Puskesmas. Kementerian Kesehatan RI. Jakarta. Available from: <http://perpustakaan.depkes.go.id:8180/handle/123456789/1777>. Diakses 14 Mei 2013.
- Yanti N. 2004. Biokompatibilitas Larutan Irigasi Saluran Akar. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Sumatera Utara. Medan. H. 7-1.
- Bergenholtz G, et al. 2003. Textbook of Endodontology. 2nd ed. United Kingdom: Blackwell Publishing.
- Mulyawati E. 2011. Peran Bahan Disinfeksi pada Perawatan Saluran Akar. *Majalah Kedokteran Gigi*, 18(2): 209-205.
- Wardhana DV, dkk. 2008. Daya Antibakteri Kombinasi Metronidazol, Siprofloksasin, dan Minosiklin Terhadap *Enterococcus faecalis*. *Jurnal Ilmu Konservasi Gigi*, Vol 1 (1). Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga. Surabaya.
- Souza et al. 2005. Endodontic Therapy Associated with Calcium Hydroxide as an Intracanal Dressing: Microbiologic Evaluation by the Checkerboard DNA-DNA Hybridization Technique. *Journal of Endodontic*, 3(2): 83-79.
- Squiera JF and Rocas IN. 2008. Endodontic Microbiology in : Endodontic Principles and Practice 4th ed. Michigan: Saunders. P. 46-38.
- Bodrumlu E and Semiz M. 2006. Antibacterial Activity of a New Endodontic Sealer Against *Enterococcus faecalis*. *J Can Dent Assoc*, 72(7): 637 a-c.
- Stuart CH, et al. 2006. *Enterococcus faecalis*: Its Role in Root Canal Treatment Failure and Current Concepts in Retreatment. *Journal of Endodontics*, Vol 32(2). The University of Texas Health Science Center. Texas: San Antonio.
- Rocas IN, et al. 2004. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. *The American Association of Endodontics*, 30(5): 5-1.
- Sedgley CM, et al. 2005. Virulence, Phenotype and Genotype Characteristics of Endodontic *Enterococcus spp.* *Oral Microbiology Immunologi*, 20: 10-9.
- Kayaoglu G and Orstavik D. 2004. Virulence Factors of *Enterococcus faecalis*: Relationship of Endodontic Disease. *Crit Rev Oral Biol Med*, Vol 15(5): 308-20.
- Beatrice dan Lusiana. 2010. Daya Antibakteri Ekstrak Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*. Scheff (Boerl)) terhadap *Enterococcus faecalis* Sebagai Bahan Medikamen Saluran Akar Secara In Vitro. Skripsi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Sumatera Utara. Medan. H. 3-1.
- Cogulu D, et al. 2007. Detection of *Enterococcus faecalis* in Necrotic Teeth Root Canals by Culture and Polymerase Chain Reaction Methods. *European Journal of Dentistry*.
- Walton dan Torabinejad. 2008. Prinsip dan Praktik Ilmu Endodontia. Edisi 3. Jakarta: EGC.
- Grossman, et al. 2010. Endodontics Practice. 12th ed. New Delhi: Wolters Kluwer Health.
- Devine DA and Marsh PD. 2009. Prospects for The Development of Probiotics and Prebiotics For Oral Applications. *Journal of Oral Microbiol*, 1: 10.3402/jom.v1i0.1949.
- Purwati. dkk. 2008. Katalog Timun Laut Anggota Ordo Aspidochirotida (Echinodermata, Holothuroidea). Pusat Penelitian Oseanografi. LIPI. Jakarta.
- Farouk AE, et al. 2007. New Bacterial Species Isolated from Malaysian Sea Cucumber with Optimized Secreted Antibacterial Activity. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 3(20): 65-60.
- Brilliantin A. 2011. Daya Hambat Ekstrak Teripang Emas (*Stichopus hermanii*) terhadap *Streptococcus mutans*. Skripsi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah. Surabaya.

22. Muttaqien W. 2011. Daya Hambat Ekstrak Teripang Emas (*Stichopus hermanii*) terhadap *Mixed periodontopathogen*. Skripsi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah, Surabaya.
23. Wawolumaya JT. 2012. Potensi Antibakteri pada Beberapa Jenis Teripang (*Stichopus spp.*) yang Berasal dari Perairan Lampung Selatan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Padjadjaran.
24. Revianti S dan Parisihni K. 2012. Kajian Bioaktivitas Antijamur Ekstrak Teripang pada Kandidiasis Oral. Penelitian Hibah Fundamental.
25. Harjanti RS. 2008. Pemungutan Kurkumin dari Kunyit (*Curcuma domestica val.*) dan Pemakaiannya sebagai Indikator Analisis Volumetri. Jurnal Rekayasa Proses, 2(2): 49-54
26. Kumala S dan Indriani D. 2008. Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Cengkeh (*Eugenia aromatic L.*). Jurnal Farmasi Indonesia, 4(2): 87-82.
27. Dahlan S. 2012. Statistik untuk kedokteran dan kesehatan. Jakarta: Salemba Medika. H. 87
28. Patel, dkk. 2009. Evaluation of some medicinal plants used in traditional wound healing preparations for antibacterial property against some pathogenic bacteria. Journal of Clinical Immunology and Immunopathology Research, 1 (1): 012-007.
29. Laila AN. 2012. Pengaruh Konsentrasi dan Lama Perendaman Infusa Daun Sirih (*Piper betle Linn.*) terhadap Total Bakteri dan Sifat Organoleptik pada Ikan Bawal (*Formio niger*). Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Muhammadiyah. Semarang.
30. Rizal MB. 2012. Komposisi Senyawa Organik dan Anorganik Ekstrak Teripang Pasir dan Teripang Emas yang Biokompatibel terhadap Jaringan Pulpa. Skripsi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah. Surabaya.
31. Bachtiar SY, dkk. 2012. Pengaruh Ekstrak Alga Cokelat (*Sargassum sp.*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. Journal of Marine and Coastal Science, 1(1): 60-53.
32. Sembiring BB. 2009. Pengaruh Konsentrasi Bahan Pengisi dan Cara Pengeringan terhadap Mutu Ekstrak Kering Sambiloto. Bul. Littro, 20(2): 181-173.
33. Mamahit L. 2009. Satu Senyawa Steroid dari Daun Gedi (*Abelmoschus manihot L. Medik*) Asal Sulawesi Utara. Ejournal Universitas Sam Ratulangi, Vol 2(1): 38-33.
34. Budi FS, dkk. 2011. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Asam Kalimbawan (*Sarcotheca diversifolia* (Miq) Hallier F) terhadap DPPH. Available from <http://beliebet.wordpress.com/2011/07/12/uji-aktivitas-antioksidan-ekstrak-buah-asam-kalimbawan-sarcotheca-diversifolia-miq-hallier-f-terhadap-dpph/>. Diakses 12 November 2013.
35. Murhadi, 2007. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanta*) dan Daun Pandan (*Pandanus amaryllifolius*). Jurnal Teknologi dan Industri Pangan, p 7-24
36. Saleh MR. 2013. Perbandingan Kadar Glikosaminoglikan dan *Triterpene Glycoside* pada Ekstrak Teripang Emas (*Stichopus hermanii*) dengan Pelarut Etanol (Polar) dan Heksana (Non polar). Skripsi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah, Surabaya.
37. Bordbar S. 2011. High-Value Components and Bioactives from Sea Cucumbers for Functional Foods – A Review. Marine Drugs. P. 1805-1761.
38. Marnoto T. 2012. Ekstraksi Tannin sebagai Bahan Pewarna Alami dari Tanaman Putrimalu (*Mimosa pudica*) Menggunakan Pelarut Organik. Reaktor, 14(1). P. 45-39.
39. Acumedia. 2011. Brain-Heart Infusion Agar (7115). PI 7115 Rev 4.
40. Osswald R. 2005. The Problem of Endodontitis and Managing It Through Conservative Dentistry. P. 144-134.
41. Rinawati DW. 2011. Daya Hambat Tumbuhan Majapahit (*Crescentia cujute L.*) terhadap Bakteri *Vibrio alginolyticus*. Skripsi Institut Teknologi Sepuluh November Surabaya. Jawa Timur.