

LAPORAN PENELITIAN

Daya Hambat Ekstrak Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Mixed* periodontopatogen In Vitro

*(The Inhibition of Sand Sea Cucumber (*Holothuria scabra*) Extract on The Growth of Mixed periodontopatogen bacteria in vitro)*

Susi Krestiana*, Widyastuti**, Vivin Ariestania***

*Sarjana Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

**Periodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

***Prostodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

ABSTRACT

Background: Periodontitis is caused by the occupation of gram-negative bacteria (mixed periodontopatogen) in oral cavity. Despite causing resistance, antibiotics are still used as a therapy for periodontitis. Sand sea cucumber (*Holothuria scabra*) extract hold some potentials, if developed, to become the alternative therapy for periodontitis due to its antibacterial effects against gramnegative bacteria. **Purpose:** To determine sand sea cucumber extract (*Holothuria scabra*) in inhibiting the growth of mixed periodontopatogen bacteria. **Materials and Methods:** This study used a research design the post-test only control group design. 40 samples of BHI agar plates, contained mixed periodontopatogen bacteria samples, were divided into 5 groups samples. K1 (negative control) was given distilled water containing filter paper, K2 (positive control) was given the antibiotic tetracycline disc 30 µg, while P1, P2, and P3 were given a filter paper containing sand sea cucumber extract with a concentration of 150 g/ml, 300 g/ml, and 450 g/ml. All sample from each group were anaerobically inoculated for 2x24 hours. After inoculation, the area around the filter paper will appear to be clear and it will be measured with digital calipers (mm). The acquired data will be analyzed using the Kruskal-Wallis and Mann-Whitney test. **Result:** The inhibition rate of K1 ($6,00 \pm 0,00$), K2 ($28,975 \pm 1,20049$), P1 ($6,8525 \pm 0,30156$), P2 ($7,6237 \pm 0,51281$), and P3 ($8,75 \pm 0,3525$). **Conclusion:** Sand sea cucumber extract (*Holothuria scabra*) can inhibit the growth of Mixed periodontopatogen bacteria.

Keywords: *Holothuria scabra*, periodontal disease, Mixed periodontopatogen

Correspondence: Widyastuti, Department of Perodontia, Faculty of Dentistry, Hang Tuah University, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Phone 031-5912191

ABSTRAK

Latar belakang: Periodontitis merupakan salah satu penyakit dengan tingkat penyebaran yang luas dalam masyarakat yang disebabkan oleh bakteri gram negatif (mixed periodontopatogen) didalam rongga mulut. Antibiotik sering digunakan sebagai terapi periodontitis namun banyak terjadi resistensi. Ekstrak teripang pasir (*Holonthuria scabra*) memiliki efek antibakteri terhadap bakteri gram negatif sehingga berpotensi untuk dikembangkan sebagai alternatif terapi penyakit periodontal (periodontitis). **Tujuan:** Mengetahui efektivitas ekstrak *Holonthuria scabra* dalam menghambat pertumbuhan bakteri mixed periodontopatogen secara in vitro. **Bahan dan Metode:** Penelitian ini menggunakan rancangan penelitian the post test only control group design. 40 sampel BHI agar yang telah berisi bakteri mixed periodontopatogen dibagi menjadi 5 kelompok sampel. K1 merupakan kelompok kontrol negatif yang diberi kertas saring berisi Aquadest, K2 merupakan kelompok kontrol positif yang diberi antibiotik Tetracycline disc 30 µg, P1, P2, dan P3 merupakan kelompok yang diberi kertas saring yang berisi ekstrak teripang pasir (*Holonthuria scabra*) masingmasing dengan konsentrasi 150 µg/ml, 300 µg/ml, dan 450 µg/ml. Semua kelompok sampel diinokulasi selama 2x24 jam dalam suasana anaerob. Setelah proses inokulasi, akan terlihat area jernih disekitar kertas saring dan diukur dengan digital calipers (dalam satuan mm). Data yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan uji Kruskal-Wallis dan uji Mann-Whitney. **Hasil:** Hasil studi menunjukkan daya hambat K1 ($6,00 \pm 0,00$), K2 ($28,975 \pm 1,20049$), P1 ($6,8525 \pm 0,30156$), P2 ($7,6237 \pm 0,51281$), dan P3 ($8,75 \pm 0,3525$). **Simpulan:** Ekstrak teripang pasir (*Holonthuria scabra*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri Mixed periodontopatogen secara in vitro.

Kata kunci: *Holonthuria scabra*, Penyakit periodontal (periodontitis), Mixed periodontopatogen

Correspondence: Widyastuti, Departemen Periodonsia, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Telepon 031- 5912191

PENDAHULUAN

Penyakit periodontal merupakan penyakit yang paling banyak terjadi dan tersebar luas di masyarakat seluruh dunia. Menurut Survey Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) tahun 2004, secara umum 39% penduduk Indonesia mempunyai masalah kesehatan gigi dan mulut. Penyakit karies gigi dan penyakit periodontal merupakan dua penyakit gigi dan mulut yang paling sering ditemukan di klinik gigi dan merupakan penyebab utama hilangnya gigi di dalam rongga mulut, tetapi yang paling banyak terjadi di Indonesia adalah penyakit periodontal. Prevalensi penyakit periodontal pada

kelompok umur 25-64 tahun pada penduduk pedesaan dan penduduk Kawasan Timur Indonesia (KTI) berada di atas prevalensi nasional. Presentase tertinggi penduduk yang kehilangan seluruh gigi yang disebabkan oleh penyakit periodontal adalah kelompok 65 tahun atau lebih, yaitu sebesar 30%, kemudian kelompok umur 55-64 tahun (18%), dan kelompok umur 45-54 tahun (7%).¹ Beberapa tahun terakhir, periodontitis dapat menjadi faktor risiko penyakit sistemik, antara lain penyakit kardiovaskuler, endokarditis, diabetes militus, pneumonia bakterial, dan stroke.²

Penyakit periodontal pada dasarnya merupakan kelompok infeksi

rongga mulut yang memiliki faktor etiologi utama berupa plak gigi. Plak bakteri adalah penyebab utama penyakit periodontal tetapi bukanlah satu-satunya penyebab bagi semua kerusakan periodontal).³ Keparahan penyakit periodontal tidak terlepas dari pengaruh virulensi bakteri yang terakumulasi dalam plak.⁴ Beberapa penelitian telah dilakukan dengan melibatkan beberapa spesies bakteri sebagai patogen pada penyakit periodontal. Spesies-spesies tersebut meliputi bakteri anaerob obligat seperti *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Bacterioides forsythus* dan spesies *Wollinella*, serta bakteri gram negatif anaerob, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, spesies *Capnocytophaga* dan *Eikenella corrodens*.³

Perawatan penyakit periodontal yang sering dilakukan sampai saat ini adalah dengan *scaling* dan *root planing*. *Scaling* dan *root planing* dilakukan untuk mengeliminasi pertumbuhan bakteri plak sehingga dapat mengurangi resiko terjadinya penyakit periodontal.⁵ Disamping itu untuk mencegah pertumbuhan bakteri plak, dapat menggunakan antimikroba untuk menghambat pertumbuhan bakteri plak. Antimikroba dapat menurunkan konsentrasi bakteri di dalam plak sehingga dapat membantu menghilangkan peradangan.⁶ Antimikroba yang efektif digunakan sekarang ini adalah antimikroba konvensional (antibiotik). Antimikroba konvensional (antibiotik) sangat ideal untuk pencegahan dan perawatan penyakit periodontal karena dapat bekerja secara spesifik terhadap bakteri patogen periodontal, tidak menimbulkan alergi, tidak bersifat toksik, aktivitasnya di rongga mulut

dapat dipertahankan untuk waktu yang lama dan harga yang sangat terjangkau.^{5,6}

Antimikroba konvensional yang sering digunakan untuk menghambat bakteri plak dalam penyakit periodontal adalah *Amoxycillin*, *Metronidazole*, *Ciprofloxacin*, *Tetracycline*, *Clindamycin*, dan *Sefalosporin*.⁴

Suatu metode alternatif diperlukan untuk mengontrol tingkat prevalensi penyakit periodontal di seluruh lapisan masyarakat. Salah satunya dengan pemanfaatan obat alternatif biota-biota laut. Biota laut melalui sintesis kimia dapat dijadikan obat karena sifatnya yang alami dan relatif aman. Teripang pasir (*Holothuria scabra*) adalah hewan laut yang sudah banyak digunakan sebagai pengobatan tradisional sejak dahulu.⁷ *Holothuria scabra* merupakan jenis teripang yang memiliki sumber biofarmako potensial dari hasil laut dan sebagai makanan kesehatan yaitu bahan baku berbagai industri di berbagai Negara dan bernilai ekonomis.⁸ Teripang pasir hidup di perairan berpasir atau di antara karang yang tertutup pasir.⁹ Teripang pasir telah diuji memiliki beberapa aktivitas biologis dan farmakologis antara lain bersifat antibakteri baik terhadap bakteri Gram positif maupun Gram negatif.¹⁰ Beberapa kandungan senyawa kimia yang penting pada teripang pasir adalah senyawa saponin, flavonoid, alkaloid, dan tanin.¹¹

Pada penelitian yang dilakukan oleh Rizal (2012), diketahui bahwa *Holothuria scabra* memiliki kandungan antibakteri (glikosida dan saponin) yang terbesar dibandingkan jenis teripang *Stichopus hermannii*. Kandungan glikosida pada *Holothuria scabra* 1,03% dan saponin 2,56%

sedangkan, pada *Stichopus hermanii* kandungan glikosida 0,88% dan saponin 0,12% .¹² Penelitian yang lain, dilakukan oleh Dinita (2008) menunjukkan bahwa ekstrak teripang jenis teripang *Holothuria atra* dapat menghambat bakteri *mixed* periodontopatogen terbesar pada konsentrasi 25 mg/ml¹³, sedangkan pada jenis teripang *Stichopus hermanii* dapat menghambat bakteri *mixed* periodontopatogen pada konsentrasi 20 mg/ml.¹⁴ Pada penelitian Aras (2013), diketahui bahwa ekstrak teripang *Holothuria scabra* bersifat toksik dengan nilai LC50 0,5886 µg/ml untuk ekstrak etil asetat 5 pada konsentrasi 1000 µg/ml.

Pada penelitian sebelumnya oleh Nimah dkk (2012) menguji bioaktivitas ekstrak *Holothuria scabra* terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (bakteri anaerob gram negatif) dan *Bacillus cereus* (bakteri anaerob gram positif) pada konsentrasi 150 mg/ml, 300 mg/ml, dan 450 mg/ml. Hasil penelitian, pada konsentrasi 450 mg/ml memiliki daya hambat terbesar terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus cereus*,¹⁰ tetapi belum ditemukan adanya daya hambat ekstrak teripang *Holothuria scabra* terhadap bakteri *mixed* periodontopatogen. Oleh karena itu, akan dilakukan penelitian tentang daya hambat ekstrak teripang *Holothuria scabra* terhadap bakteri *mixed* periodontopatogen pada konsentrasi 150 mg/ml, 300 mg/ml, dan 450 mg/ml sesuai dengan penelitian sebelumnya dengan jenis bakteri yang sama, yaitu bakteri gram negatif.¹⁰ Peneliti menggunakan konsentrasi yang kecil bertujuan untuk mencegah timbulnya toksik yang berlebih dari teripang itu sendiri.

Keinginan untuk menemukan obat alternatif untuk penyakit periodontal yang bisa diterapkan di masyarakat luas menjadi alasan peneliti untuk meneliti lebih lanjut tentang efek antibakteri pada ekstrak teripang *Holothuria scabra* terhadap bakteri-bakteri *Mixed* periodontopatogen.

BAHAN DAN METODE

Teripang pasir seberat 400-500 gram/ekor dicuci dan dibersihkan, kemudian daging teripang dikumpulkan dan diletakkan dibawah air mengalir untuk menghilangkan sisa-sisa kotoran yang menempel pada daging teripang, kemudian direndam dengan aquadest steril untuk membuang garam dan parasit. Teripang pasir disiapkan untuk diblender dengan cara memotong bagian teripang menjadi ukuran 3 x 2 cm agar memudahkan dalam proses blender kemudian ditimbang dahulu masing-masing 500 gram menggunakan timbangan digital lalu dicampur dengan 500 ml aquades steril dan diblender sampai memperoleh konsistensi yang halus dan disimpan dalam wadah plastik. Teripang yang digunakan sebanyak 1433,2 gr dicampur dengan 1500 ml aquadest steril.

Setelah itu dilakukan prosedur pembuatan ekstrak kasar menggunakan metode *freeze dry*. Metode *freeze dry* yaitu pengeringan teripang pasir dari cairan yang ada di tubuh teripang pasir. Teripang pasir basah dimasukkan ke *freeze dryer* dengan tekanan 20 Pa dan suhu 4°C selama 39 jam.¹⁶ Hasil ekstrak kasar teripang pasir sebanyak 179,9 gr dilarutkan dengan menggunakan

indikator pelarut semi polar yaitu dengan pelarut etil asetat dan direndam (proses maserasi) selama 24 jam kemudian disaring dengan kertas saring. Residu diberi etil asetat dan disaring lagi. Metode maserasi adalah cara ekstraksi sederhana dengan merendam bahan yang akan diekstrak ke dalam pelarut organik selama satu hari sebanyak tiga kali pengulangan pada suhu ruangan dan jauh dari paparan sinar matahari.¹⁷ Cairan hasil penyaringan terbentuk 3 macam keadaan, yaitu pekat, setengah pekat, dan tidak pekat. Selanjutnya hasil penyaringan diuapkan dengan alat rotari evaporator (*rotavapor*) dengan suhu 50°C agar zat pelarut terpisah.¹⁸ Penguapan pertama pada cairan yang tidak pekat sehingga cairan hasil penyaringan habis dan dilanjutkan dengan cairan yang setengah pekat kemudian yang pekat. Hasil penguapan didinginkan sehingga menghasilkan ekstrak kental (ekstrak etil asetat teripang pasir).

Ekstrak etil asetat teripang pasir diencerkan dengan menggunakan aquadest steril. Bahan uji tersebut mengandung 100% *Holonthuria scabra* yang artinya sama dengan 100 mg *Holonthuria scabra* dalam 100 ml. 1 µg artinya sama dengan 0,001 mg. Untuk konsentrasi 1 µg/ml : 1 µg *Holonthuria scabra* menjadi 0,001 mg/ml : 0,001 mg *Holonthuria scabra* diencerkan dalam 1 ml aquadest steril.

Pengenceran bahan uji untuk konsentrasi 150 µg/ml (P1) adalah dengan mengubah µg menjadi mg dengan mengalikan 150 dengan 0,001 menjadi 0,15 mg/ml : 0,15 mg *Holonthuria scabra* diencerkan dalam 1 ml aquadest steril, untuk konsentrasi 300 µg/ml (P2) menjadi 0,3 mg/ml : 0,3 mg *Holonthuria scabra* diencerkan dalam 1 ml aquadest steril, dan untuk

konsentrasi 450 (P3) menjadi 0,45 mg/ml : 0,45 mg *Holonthuria scabra* diencerkan dalam 1 ml aquadest steril. Lalu ekstrak teripang pasir yang akan diuji sebelum digunakan terlebih dahulu disterilkan dengan *Syringe mikroporus membrane* diameter 0,02µm.

Bakteri *Mixed* periodontopatogen diambil dari biakan murni yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Hang Tuah Surabaya yang berupa biakan dalam *BHI* cair yang sudah diinkubasi selama 24 jam dalam suasana *anaerob*. Kemudian biakan bakteri *Mixed* periodontopatogen dari media *BHI* cair disetarakan kekeruhannya dengan larutan Mc Farland 0,5 dengan mata telanjang untuk memperoleh suspensi bakteri yang mengandung $1,5 \times 10^8$ CFU/ml.¹³ Selanjutnya mengusapkan biakan tersebut pada seluruh permukaan lempeng media *BHI* agar steril dengan menggunakan lidi kapas steril.

Selanjutnya siapkan *petri dish* yang telah berisi media *BHI* agar dan biakan bakteri *Mixed* periodontopatogen yang terdiri dari 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Kemudian pada kelompok kontrol negatif (K1), kertas saring (*disk*) dicelupkan dalam *Aquades steril* sebanyak 1 ml selama 10 detik, sedangkan pada kelompok kontrol positif (K2) menggunakan kertas saring (*disk*) yang telah berisi *Tetracycline* 30 µg.

Pada kelompok perlakuan (P1, P2, P3), letakkan kertas saring tersebut pada media nutrisi agar yang berisi ekstrak teripang pasir (*Holonthuria scabra*) dengan menggunakan pinset steril agak ditekan-tekan. Kemudian memasukkan *petri dish* ke dalam inkubator selama 2x24 jam dengan

suhu 37⁰ dalam suasana anaerob. Setelah 2x24 jam, mengukur zona hambat ekstrak *Holonthuria scabra* yang berupa area jernih di sekitar kertas saring dengan menggunakan digital calipers (dalam satuan mm). Pengukuran dilakukan 3 kali dengan 3 diameter yang berbeda dari diameter terpanjang, sedang dan terpendek karena bentuk zona hambat (area jernih) tidak rata dan tidak beraturan, kemudian hasilnya dirata-ratakan. Biasanya diameter zona hambat yang timbul menunjukkan adanya daya antibakteri pada masing-masing konsentrasi ekstrak *Holonthuria scabra*.

HASIL

Data hasil penelitian dianalisis secara deskriptif yang bertujuan untuk memperoleh gambaran distribusi dan peringkasan data guna memperjelas penyajian hasil.

Tabel 1. Hasil uji statistik deskriptif

Kelompok	N	Rerata	Standart Deviasi
K1	8	6,0000	0,00000
K2	8	28,9750	1,20049
P1	8	6,8525	0,30156
P2	8	7,6237	0,51281
P3	8	8,7500	0,35250

Berdasarkan tabel 1, didapatkan rerata kelompok yang paling tinggi yaitu kelompok K2 kemudian diikuti oleh P3, P2, P1, dan K1. Setelah itu dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk*, karena jumlah sampel kurang dari 50. Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa setiap kelompok perlakuan memiliki nilai signifikansi >0,05, sehingga dapat dikatakan bahwa diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Mixed*

periodontopatogen dalam satuan millimeter (mm) berdistribusi normal, selanjutnya dilakukan uji homogenitas (Uji *Levene*).

Hasil uji homogenitas (Uji *Levene*) diketahui bahwa nilai signifikansi adalah sebesar 0,001 mempunyai signifikansi kurang dari 0,05 ($p < 0,05$) maka disimpulkan bahwa zona hambat pertumbuhan bakteri *Mixed* periodontopatogen adalah tidak homogen sehingga dilakukan transformasi data.

Transformasi data dilakukan untuk menormalkan distribusi data yang tidak normal, setelah dilakukan transformasi data diulangi dengan tes homogenitas dilihat apakah data telah homogen atau tidak. Hasil transformasi data menunjukkan variasi data tidak homogen karena nilai signifikansi adalah sebesar 0,011 mempunyai signifikansi kurang dari 0,05 ($p < 0,05$). Variasi data tidak homogen sehingga dilakukan uji non parametric menggunakan uji Kruskal-Wallis.

Hasil uji Kruskal-Wallis diperoleh nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan adanya perbedaan daya hambat bakteri *Mixed* periodontopatogen yang bermakna pada masing-masing kelompok. Selanjutnya dilakukan uji *MannWhitney* untuk melihat kelompok mana yang mempunyai perbedaan yang bermakna pada daya hambat *Mixed* periodontopatogen dalam milimeter dengan membandingkan antar dua kelompok yang tidak berpasangan.

Dari hasil uji *Mann-Whitney* menunjukkan terdapat perbedaan daya hambat bakteri *Mixed* periodontopatogen yang bermakna ($p < 0,05$) adalah pada kelompok K1 dengan kelompok K2, P1, P2 dan P3.

Kelompok K2 dengan kelompok P1, P2, dan P3. Kelompok P1 dengan kelompok P2 dan P3. Kelompok P2 dengan kelompok P3.

PEMBAHASAN

Penyakit periodontal merupakan kelainan yang paling banyak terjadi dalam mulut yang disebabkan oleh mikroorganisme dan plak bakterial yang terletak pada mahkota gigi.¹⁹ Periodontitis disebabkan oleh suatu infeksi dari bakteri anaerob (*mixed periodontopatogen*) seperti *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Bacteroides forsythus*, dan *Actinobacillus actinomycescomitans* dimana terapinya dengan mengurangi plak dan menjaga kebersihan mulut.²⁰ Namun, pembersih plak dengan teknik mekanik saja tidak cukup sehingga diperlukan antibiotik sebagai penunjang terapi periodontitis.^{20,21,22} Banyaknya peningkatan resistensi antibiotik sekarang ini mendorong untuk menemukan senyawa antibakteri baru melalui keanekaragaman hayati biota laut Indonesia untuk mengontrol tingkat prevalensi penyakit periodontal di seluruh lapisan masyarakat, salah satunya adalah teripang pasir (*Holothuria scabra*). Biota laut melalui sintesis kimia dapat dijadikan obat karena sifatnya yang alami dan relatif aman.⁹

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra*) dengan konsentrasi yang berbeda-beda dalam mencegah penyakit periodontal yang lebih lanjut. Menurut Nimah dkk (2012), senyawa metabolit sekunder saponin pada ekstrak *Holothuria scabra* terbukti mampu

menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif dan bakteri gram positif seperti *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus cereus* pada konsentrasi yang paling efektif 450 µg/ml.¹⁰ Pada penelitian Aras (2013), diketahui bahwa ekstrak teripang *Holothuria scabra* bersifat toksik dengan nilai LC50 0,5886 µg/ml untuk ekstrak etil asetat pada konsentrasi 1000 µg/ml, oleh karena itu konsentrasi ekstrak *Holothuria scabra* yang digunakan dalam penelitian ini adalah 150 µg/ml, 15 Pada penelitian ini peneliti 300 µg/ml, 450 µg/ml. Memilih konsentrasi ekstrak *Holothuria scabra* dari penelitian terdahulu karena diharapkan dengan konsentrasi ini juga memiliki daya antibakteri sehingga dapat mengurangi efek toksisitasnya.

Penelitian ini menggunakan *tetracycline* sebagai kontrol positif dan Aquades sebagai kontrol negatif.²⁴ Peneliti menggunakan Aquades steril sebagai kontrol negatif karena dapat digunakan sebagai pengencer bahan alami agar lebih mudah homogen, bersifat netral, dan tidak memiliki daya hambat terhadap bakteri.²⁴ Peneliti menggunakan *tetracycline* sebagai kontrol positif karena memiliki kemampuan daya hambat yang sangat besar terhadap bakteri *mixed periodontopatogen* serta sering digunakan dalam perawatan di bidang periodontal.²⁴

Ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra*) yang digunakan di dalam penelitian ini dibuat dengan metode *freeze drying*. Peneliti menggunakan metode *freeze drying* karena dapat mempertahankan mutu hasil pengeringan, menghambat aktivitas mikroba dan mencegah terjadinya reaksi-reaksi kimia.²⁵ Tahap selanjutnya melakukan proses

ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi.²⁵ Pemilihan metode ekstraksi merupakan hal penting untuk mendapatkan zat pokok atau zat aktif dari suatu bahan. Proses 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.²⁵

Peneliti menggunakan etil asetat sebagai pelarut karena etil asetat merupakan senyawa semi polar yang bersifat universal yang dapat melarutkan senyawa bersifat polar dan sedikit senyawa non polar.²⁶ Menurut penelitian Nimah dkk (2012), hasil uji senyawa saponin dan alkaloid pada ekstrak etil asetat lebih besar daripada kandungan saponin dan alkaloid pada ekstrak metanol.¹⁰

Uji daya hambat dilakukan dengan metode difusi untuk mengetahui daya hambat ekstrak *Holonthuria scabra* pada *BHI* agar karena metode ini digunakan untuk mengukur kekuatan hambatan ekstrak *Holonthuria scabra* terhadap bakteri *Mixed* periodontopatogen.²⁴ Metode difusi merupakan metode yang sederhana dan mudah prosedurnya serta dapat digunakan untuk menguji bakteri aerob maupun fakultatif anaerob.²⁶ Agar *BHI* adalah media agar yang baik untuk membiakkan bakteri *Mixed* periodontopatogen. Alasan memilih metode ini adalah karena penelitian tentang daya hambat ekstrak *Holonthuria scabra* terhadap

pertumbuhan bakteri *Mixed* periodontopatogen dengan metode difusi belum pernah dilakukan, sehingga dengan metode ini peneliti dapat melihat tingkat sensitivitas *Mixed* periodontopatogen terhadap ekstrak *Holonthuria scabra* secara kualitatif.

Penelitian menunjukkan ekstrak *Holonthuria scabra* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Mixed* periodontopatogen pada semua kelompok perlakuan dengan konsentrasi 150 µg/ml, 300 µg/ml, dan 450 µg/ml. Berdasarkan hasil penelitian terlihat Ekstrak *Holonthuria scabra* bersifat bakteriostatik, semakin besar konsentrasi ekstrak *Holonthuria scabra* maka semakin besar pula diameter zona hambatnya. Hal ini disebabkan karena semakin tinggi konsentrasi ekstrak *Holonthuria scabra* maka konsentrasi kandungan bahan aktif yang terkandung didalamnya semakin tinggi sehingga kemampuan untuk menghambat bakteri semakin besar. Rata-rata zona hambat terbesar pada ekstrak *Holonthuria scabra* terdapat pada konsentrasi 450 µg/ml (8,75 mm) dibandingkan dengan konsentrasi 150 µg/ml (6,8525 mm), dan konsentrasi 300 µg/ml (7,6237 mm) pada kelompok perlakuan, sedangkan kontrol positif *Tetracycline* 30 µg/ml (28,975 mm) memiliki zona hambat terbesar dibandingkan ekstrak *Holonthuria scabra*.

Ekstrak *Holonthuria scabra* dapat menurunkan jumlah koloni bakteri karena adanya bahan aktif yang terkandung berupa saponin, alkaloid, flavonoid, dan tanin. Keempat senyawa tersebut memiliki sifat sebagai antibakteri.^{10,27} Saponin bekerja mengganggu stabilitas membran bakteri, dan merusak

membran sitoplasma sel bakteri, sehingga menyebabkan sel bakterilisis.²⁸ Alkaloid bekerja mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel bakteri tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel bakteri tersebut.²⁹ Tanin bekerja merusak membran sel bakteri, menginaktivasi enzim, dan destruksi materi genetik bakteri sehingga fungsi sel bakteri terganggu.²⁹ Sedangkan Flavonoid bekerja mengganggu aktivitas transpeptidase peptidoglikan sehingga pembentukan dinding sel terganggu dan sel bakteri mengalami lisis.³⁰ Sedangkan kontrol positif (*Tetracycline* 30 µg/ml) memiliki zona hambat terbesar dibandingkan ekstrak *Holonthuria scabra*, ini dikarenakan *tetracycline* bekerja dengan cara mengikat dirinya pada subunit 30S dari ribosom bakteri yang berperan dalam menghambat sintesis protein dengan menghalangi perlekatan *tRNA-aminoasil* yang bermuatan, sehingga *tetracycline* menghalangi penambahan asam amino baru pada rantai peptida yang terbentuk. Adanya gangguan sintesis protein pada bakteri tersebut berakibat sangat fatal yaitu terhentinya sintesis protein dan dapat mengakibatkan kematian sel bakteri (bakterisid).³¹ *Tetracycline* meskipun memiliki tingkat antibakteri yang tinggi namun mempunyai efek samping seperti alergi, resistensi, dan mungkin keracunan sehingga cukup berbahaya bagi manusia. *Tetracycline* memiliki kekurangan yaitu pada pemakaian jangka panjang dapat menyebabkan terjadinya disgenesis berupa perubahan warna gigi permanen.³¹ Oleh karena itu, ekstrak *Holonthuria scabra* dapat digunakan sebagai bahan adjuvan pada terapi

mekanik tetapi perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui penurunan jumlah koloni bakteri *Mixed* periodontopatogen.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa Ekstrak teripang pasir (*Holonthuria scabra*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Mixed* periodontopatogen secara in vitro pada konsentrasi 150 µg/ml, 300 µg/ml, 450 µg/ml dan semakin besar konsentrasi semakin besar pula daya hambatnya. Tetrasiklin 30 µg mempunyai daya hambat lebih besar dari pada ekstrak teripang pasir (*Holonthuria scabra*) pada konsentrasi 150 µg/ml, 300 µg/ml, dan 450 µg/ml.

DAFTAR PUSTAKA

1. Survey Kesehatan Rumah Tangga (SKRT). 2004. Sudut Pandang Masyarakat mengenai Status, Cakupan, Ketanggapan, dan Sistem Pelayanan Kesehatan Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan DepKes RI, 3: 20-18.
2. Sudibyo, 2003. Penyakit Periodontal Sebagai Fokus Infeksi dan Faktor Risiko Terhadap Manifestasi Penyakit Sistemik. Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada. <http://journal.ac.id/bitstream/123456789/37189/4.pdf>. Diakses 2 April 2013
3. Herawati D dan Fauziah, 2008. Aplikasi Subgingiva Gel Metronidasol 25% Sebagai Bahan Tambahan Pada *Scaling* dan *Root Planing*. Majalah Kedokteran Gigi; 15(2) : 186-183.
4. Newman MG, Takei H. Carranza FA, 2012. *Clinical periodontology*. 10th ed, Philadelphia; WB Saunder Co. 339-65.
5. Mombeli A, Schmid B, Reitar A. 2002. *Persistensi Pattern of Phorpyromonas gingivalis, Prevotella intermedia, and Lactobacillus actinomycetemcomitans After Mechanical Therapy of Periodontal disease: J Periodontology*, No 71: 21-14.

6. Diaz R, Ghofaily LA, Patel J, et al. 2006. *Characterization of Leucotoxin from a Clinical Strain of Actinobacillus Actinomycetemcomitans*. *Microb Pathol*; 40(2): 48-5.
7. Thanh Nguyen Van, Dang Nguyaen Hai, Kiem Phan van, Cuong Nguyen Xuan, Huong Thanh Hoang, Minh Chau Van. 2006. *A New Triterpene Glycoside from the Sea Cucumber Holothuria scabra Collected in Vietnam*. Available from <http://www.vjol.info/index.php/ASEAN/article/viewFile/986/927>. Diakses 2 Mei 2013.
8. Karnila R, Astawan M, Sukarno, dan Wresdiyati T. 2011. Analisis Kandungan Nutrisi Daging dan Tepung Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Segar. *Berkala Perikanan Terubuk*, Vol 39(2): 60-51.
9. Kordi MGH. 2010. Cara Gampang Membudidayakan Teripang, Edisi 1. Yogyakarta: Penerbit ANDI. H. 14-1.
10. Nimah S, Ma'ruf WD, dan Trianto A. 2012. Uji Bioaktivitas Ekstrak Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus cereus*. Skripsi. Jurusan Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro. H. 8-1.
11. Sendih. 2006. Keajaiban Teripang Penyembuh Mujarab dari Laut. Jakarta : Agromedia Pustaka. Vol 11(2). H. 54-23.
12. 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. H. 46-9.
13. Dinita TB. 2008. Daya Hambat Ekstrak *Holothuria atra* terhadap Pertumbuhan Bakteri *Mixed periodontopathogen*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah, Surabaya. H. 4-1.
14. Muttaqien Wildan. 2007. Daya Hambat Ekstrak Teripang Emas (*Srichopus hermannii*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Mixed periodontopathogen*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah, Surabaya. H. 40-1.
15. Aras TR. 2013. Uji Toksisitas Ekstrak Teripang *Holothuria scabra* terhadap *Artemia salina*. Skripsi Universitas Hasanuddin, Makassar. H. 39-1.
16. Rizhwan B.H, Leong T.C and Idid S.Z. 2003. The Antinociceptive effects of water extract from sea cucumber *Holothuria leucospilota brandt*, *Bohadschia marmorata vitiensis jaeger* and *coelomic fluid from Stichopus hermannii*. Available from <http://www.docsdrive.com/pdfs/2003/20689-2072.pdf>. Diakses 15 Mei 2013.
17. Mamahit. 2009. Satu Senyawa Steroid dari Daun Gedi (*Abelmoschus manihot* L. Medik). Sulawesi Utara. Ejournal Universitas Sam Ratulangi 2(1): 38-33. Available from <http://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/chemprog/article/download/61/5> 7. Diakses 25 Mei 2013.
18. Harjati RS. 2008. Pemungutan Kurkumin dari Kunyit (*Curcuma domestica* val.) dan Pemakaiannya sebagai Indikator Analisis Volumetri. *Jurnal Rekayasa Proses*, 2008, 2(2): 54-49. Available from <http://journal.ugm.ac.id/index.php/jrekpro/article/view/557/376>. Diakses 24 Mei 2013.
19. Manson J D,M Soory, B M Elley.2010.*Periodontics* 6th ed. P. 175-89.
20. Basyir H. 2012. Pemeriksaan Bakteri Penyebab Periodontitis Kronis dengan Menggunakan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR). Skripsi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin Makassar, Indonesia. Available from <http://222.124.222.229/handle/123456789/1106>. Diakses 4 April 2013.
21. Herliana P, 2010. Potensi Khitosan Sebagai Anti Bakteri Penyebab Periodontitis. *Jurnal UI Untuk Bangsa Seri Kesehatan, Sains, dan teknologi*, 1: 24-12. Available from <http://uiuntukbangsa.files.wordpress.com/2011/06/potensikhitosan-sebagai-anti-bakteri-penyebab-periodontitis-putriherliana.pdf>. Diakses 7 April 2013.
22. Brook I. 2003. Microbiology and management of periodontal infections. *Gen Dent*, 51(5): 428-424. Diakses 10 Mei 2013.
23. Patel JD, Anshu KS, Vipin K. 2009. Wvaluation of Some Medicinal Plants Used in Traditional Wound Healing Preparations of Antibacterial Property Againts Some Pathogenic Bacteria. *Journal of Clinical Immunology and Immunopathology Research*, 1 (1) : 012-007.
24. Jawet, et al. 2005. Mikrobiologi Kedokteran. Jakarta: Salemba Medika. H. 120-26.

25. Sembiring BB. 2009. Pengaruh Konsentrasi Bahan Pengisi dan Cara Pengeringan terhadap Mutu Ekstrak Kering Sambiloto. *Bul. Littro*, 20(2): 181-173. Available from <http://balittro.litbang.deptan.go.id/ind/images/stories/Bulletin/20092/10-sambiloto.pdf>. Diakses 25 Mei 2013.
26. Bauman RW. 2004. Mikrobiologi. Intenational Edition: Person: Benyamin Education, Inc. P 179-178.
27. 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*). *Jurnal Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Muhammadiyah*. Semarang, 2 (2): 69-1.
28. Jaya AM. 2010. Isolasi dan Uji Efektivitas Antibakteri Senyawa Saponin dari Akar Putri Malu (*Mimosa pudica*). Skripsi. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negri, Malang. H. 9-7.
29. Citra DA, dkk. 2009. Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) sebagai Agen Antibakterial terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*, 2 (3): 7-1.
30. Ambarasari L. 2011. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Flavonoid Daun Gambir (*Uncaria gambir* Roxb). *Institut Pertanian Bogor*. H. 4-2.
31. Gunawan SG, Setiabudy R, Nafrialdi, Elysabeth. 2009. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 5. Jakarta. Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. H. 585.