

Telaah Golongan Senyawa Antibakteri Karies Gigi (*Streptococcus Mutans*) Dari Ekstrak Bertingkat Teripang Dada Merah (*Holothuria Atra Jaeger*) Menggunakan Metode Klt Bioautografi

The Research of the Antibacterial compounds of Dental caries (*Streptococcus mutans*) from extracts Lollyfish (*Holothuria atra Jaeger*) using Thin-Layer-Chromatography with Bioautography

¹Devika Inten Malinda, ² Indra Topik Maulana, ³ Livia Syafnir

^{1,2,3}Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Jl.Tamansari No.1 Bandung 40116

e-mail : ¹devikaim26@gmail.com, ²indra.topik@gmail.com, ³livia.syafnir@gmail.com

Abstract. Sea cucumbers are one of the marine biotas that contain secondary metabolites such as alkaloids, flavonoids, saponins, and terpenoids. Dental Caries is an infection that occurs in the structure of dental tissues. One of the causes is the *Streptococcus mutans* bacteria that can stick around the teeth and gums. The research is aim to know the compound classes that have the potential as an antibacterial. Sea cucumbers were extracted using the reflux method at 50° C using three types of different solvent with a gradient of the polarity begin from n-hexane, ethyl acetate and methanol. The antibacterial activity was tested using the diffuse method and to determine the compounds classes acting as an antibacterial against *Streptococcus mutans* used the TLC method. Bioautography. From the results of the research has been obtained that Lollyfish extract has a weak antibacterial activity, can be seen from the inhibition zone formed in hexane extract with concentrations ranging from 2000 ppm, 1000 ppm, 800 ppm, and 600 ppm, giving successive results also 8.6 mm, 8.7 mm, 8.3 mm and 7.7 mm. Meanwhile, the methanol extracts with a concentration of 2000 ppm, 1000 ppm, 800 ppm, and 600 ppm give results of 10.5 mm, 10.6 mm, 8.5 mm, and 10.8 mm respectively. The results of the Bioautography TLC Test showed clear zones in the n-hexane extract which is an alkaloid compound.

Keywords: Alkaloids , Bioautography TLC , Dental Caries, *Sea cucumbers*

Abstrak. Teripang merupakan salah satu biota laut yang mengandung senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, saponin, dan terpenoid. Karies gigi merupakan infeksi yang terjadi pada struktur jaringan gigi. Yang disebabkan oleh bakteri *Streptococcus mutans* yang menempel disekitar gigi dan gusi. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui golongan senyawa pada ekstrak bertingkat teripang dada merah yang berpotensi sebagai antibakteri. Teripang diekstraksi dengan metode refluks pada suhu 50° C menggunakan tiga jenis pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda-beda yaitu n-heksana, etil asetat, dan metanol. Uji aktivitas antibakteri ekstrak dilakukan menggunakan metode difusi sumuran dan untuk mengetahui golongan senyawa aktif antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* digunakan metode KLT Bioautografi. Dari hasil penelitian yang telah diperoleh ekstrak bertingkat teripang dada merah memiliki aktivitas antibakteri yang lemah, dapat terlihat dari zona hambat yang terbentuk pada ekstrak n-heksana dengan konsentrasi mulai dari 2000 ppm, 1000 ppm, 800 ppm, dan 600 ppm, memberikan hasil berturut-turut 8,6 mm, 8,7 mm, 8,3 mm dan 7,7 mm. Sementara itu pada ekstrak metanol dengan konsentrasi 2000 ppm, 1000 ppm, 800 ppm, dan 600 ppm memberikan hasil berturut-turut 10,5 mm, 10,6 mm, 8,5 mm, dan 10,8 mm. Hasil Uji KLT Bioautografi menunjukkan zona bening pada ekstrak nheksana yang merupakan senyawa alkaloid.

Kata kunci : Alkaloid, Karies gigi, KLT Bioautografi, Teripang

A. Pendahuluan

Teripang merupakan hewan laut yang berkulit duri atau berbintil, secara tradisional sering dimanfaatkan oleh para nelayan untuk mempercepat proses penyembuhan luka (Edyson, dkk, 2017). Metode ini sudah digunakan sejak lama.

Karies gigi atau gigi berlubang merupakan penyakit infeksi pada struktur jaringan gigi yang sering dialami anak-anak maupun orang dewasa. Penyebab karies gigi salah satunya, bisa disebabkan karena bakteri yang melekat disekitar gigi dan gusi.

Streptococcus mutans merupakan kuman yang katogenik, yang dapat menempel pada permukaan gigi.

Pemanfaatan bahan alam sebagai antibakteri khusus di mulut, saat ini masih terbatas hanya pada daun sirih saja. Teripang yang diketahui memiliki aktivitas sebagai antijamur dan antibakteri, kemungkinan besar memiliki potensi juga terhadap bakteri penyebab karies gigi. Teripang diketahui mengandung senyawa bioaktif berupa alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid dan saponin.

Berdasarkan uraian diatas maka rumusan masalah dari penelitian ini adalah Apakah ekstrak teripang dada merah memiliki aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*, berapa zona hambat yang terbentuk dan golongan senyawa apa yang berperan sebagai antibakteri pada ekstrak teripang dada merah.

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan pengujian aktivitas antibakteri dari ekstrak teripang dada merah, menentukan zona hambat terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dan mengetahui golongan senyawa yang berperan sebagai antibakteri.

B. Landasan Teori

Teripang jenis atra mempunyai bentuk tubuh silindris, memanjang, dengan kedua ujung berbentuk bundar, warna tubuhnya hitam dan memiliki tentakel-tentakel berwarna kekuning-kuningan. mudah ditemukan disubstrat pasir kasar dan tubuhnya diselimuti oleh pasir halus. Reproduksi teripang ini yaitu aseksual (Martoyo, Joko, 1996 : 11). Selain itu, teripang mempunyai kandungan nutrisi yang sangat tinggi, yaitu 1,7% kadar air, karbohidrat 4,8 %, 82 % lemak, dan 8,9 % kadar abu (Martoyo, Joko, 1996 : 5).

Streptococcus mutans berbentuk menyerupai kapsul yang mengandung polisakarida dengan sub unit struktural glukosa (dextran). *Streptococcus mutans* termasuk kedalam bakteri yang berbentuk kokus, Jenis bakteri gram-positif. dapat ditemukan pada sekitar rongga mulut, dan salah satu penyebab utama kerusakan gigi. *Streptococcus mutans* dapat tumbuh pada suhu antara 18-40°C disebut juga dengan mesofilik (Audies, Annisa, 2015 : 15).

Karies gigi adalah kerusakan yang terjadi pada jaringan gigi, penyebab utamanya berasal dari asam yang terdapat dalam karbohidrat melalui perantara mikroorganisme yang ada dalam saliva (Julianti, dkk, 2008).

Metode bioautografi yakni metode yang digunakan untuk mengetahui adanya aktivitas antibakteri dari suatu golongan metabolit sekunder yang terkandung dalam suatu sampel. Prinsip Bioautografi didasarkan pada teknik difusi agar, dimana senyawa antibakteri dipindahkan dari lapisan kromatografi ke medium agar yang telah mengandung bakteri uji. (Kusumaningtyas et al., 2008). Terdapat 3 jenis bioautografi diantaranya Bioautografi Kontak, Bioautografi Imersi atau agar overlay dan Bioautografi Langsung (Choma,2005).

C. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah teripang segar sebanyak 2 kg. Dilakukan determinasi bahan terlebih dahulu untuk memastikan kebenaran bahan. Kemudian dilakukan uji Penapisan fitokimia terhadap simplisia dan ekstrak teripang. Hal ini bertujuan untuk mengetahui metabolit sekunder yang terkandung dalam sampel. Pada Penapisan Fitokimia dilakukan pemeriksaan terhadap senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, polifenolat, antrakuinon, monoterpen,

seskuiterpen, triterpenoid serta steroid. Tabel hasil penafisan fitokimia dapat dilihat dibawah ini.

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Simplisia dan Ekstrak

Golongan Senyawa	Teripang dada merah			
	Simplisia	Ekstrak n-heksana	Ekstrak Etil asetat	Ekstrak metanol
Alkaloid	+	+	+	+
Tanin	-	-	-	-
Flavonoid	+	-	-	-
Kuinon	-	-	-	-
Saponin	+	+	-	+
Triterpenoid dan steroid	-	-	+	+
Monoterpen dan sesquiterpen	+	+	+	+
Polifenol	-	-	-	-

Keterangan :

(+) = Ada (-) = Tidak ada

Selanjutnya simplisia Teripang dada merah dikarakterisasi dengan beberapa pengujian seperti penetapan kadar air, susut pengeringan, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, kadar sari dan organoleptis. Hal ini bertujuan untuk menjamin mutu, keamanan dan efek farmakologis yang dapat ditimbulkan dari sampel yang akan digunakan.

Tabel 2. Hasil Penetapan Parameter Standar

No	Parameter Standar Simplisia	Hasil
1.	Kadar Air	5,75 %
2.	Susut Pengeringan	10,34 %
3.	Kadar Abu Total	43,61 %
4.	Kadar Abu tidak larut asam	0,04 %
5.	Kadar sari larut air	47,10 %
6.	Kadar sari larut etanol	28,19 %
7.	Organoleptis	Berbentuk silindris memanjang, warna hitam mengkilat, bau khas

Penetapan kadar air dilakukan untuk penentuan batasan serta rentang kandungan air dalam simplisia, dimana bila kandungan air nya >10% maka mutu bahan yang digunakan termasuk dalam kategori buruk, Karena dapat memicu timbulnya mikroba. (Depkes RI, 2000: 14). Jika dilihat dari habitat teripang yang berada diperairan, Seharusnya kadar air teripang cukup tinggi, karena tubuh teripang dapat menyerap air. Namun Kadar air yang diperoleh pada penelitian ini berada pada rentang yang sesuai yakni kurang dari 10%.

Teripang mengandung zat- zat mineral seperti kalsium, fosfor, zat besi, kalium dan Seng (Kementerian Kelautan dan Perikanan, 2015 : 18). Sehingga pada saat penetapan kadar abu total persentasenya cukup tinggi yakni sebesar 43,61%. Sementara itu, pada penetapan kadar abu larut asam yang telah diperoleh persentasenya sangat rendah yakni sebesar 0,04%. Hal ini menunjukkan bahwa sampel bebas dari kontaminasi baik itu berupa tanah, pasir

maupun logam berat.

Penetapan Kadar Sari dilakukan untuk menggambarkan jumlah senyawa yang terkandung dalam simplisia (Depkes RI, 2000: 13). Berdasarkan tabel diatas, persentase kadar sari larut air lebih tinggi dibandingkan kadar sari larut etanol. Hal ini menunjukkan bahwa lebih banyak senyawa kimia yang larut dalam air. Artinya senyawa yang terkandung dalam sampel dominan bersifat polar.

Pembuatan ekstrak teripang dilakukan dengan metode ekstraksi. Ekstraksi bertujuan untuk menarik kandungan kimia yang berasal dari simplisia sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut pada pelarut yang digunakan (Depkes RI, 2000:1). Metode ekstraksi yang dipilih yaitu refluks. Dari hasil ekstraksi diperoleh rendemen pada masing-masing ekstrak sebesar 2,38% ekstrak nheksana, 0,34% ekstrak etil asetat dan 0,44% ekstrak metanol.

Pengujian aktivitas antibakteri hanya dilakukan pada ekstrak nheksana dan metanol. Hal ini dikarenakan rendemen yang diperoleh pada ekstrak etil asetat sangat rendah. Metode yang digunakan berupa metode difusi sumuran, pemilihan metode ini karena mudah dilakukan dan dapat menampung konsentrasi yang lebih tinggi dibandingkan cakram. Pada pengujian aktivitas antibakteri ini kedua ekstrak dibuat dalam larutan seri mulai dari konsentrasi 2000 ppm, 1000 ppm, 800 ppm dan 600 ppm. Bakteri yang diuji yaitu *Streptococcus mutans*. Kontrol Positif yang digunakan Chlorhexidine gluconate dan kontrol negatif yang digunakan etanol 96%.

Tabel 3. Hasil Uji aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*

Sampel	Konsentrasi	Diameter Hambat ± SD
		<i>Streptococcus mutans</i>
Ekstrak n-heksana	2000 ppm	8,6 ± 0,070
	1000 ppm	8,7 ± 0,424
	800 ppm	8,3 ± 0,282
	600 ppm	7,7 ± 0,035
Chlorhexidine gluconate	0,2 %	11,3 ± 0,141
Etanol	96 %	-
Ekstrak metanol	2000 ppm	10,5 ± 0,092
	1000 ppm	10,6 ± 0,565
	800 ppm	8,5 ± 0,126
	600 ppm	10,8 ± 0,355
Chlorhexidine gluconate	0,2 %	11,8 ± 0,111
Etanol	96 %	-

Keterangan :

Kontrol Positif : Chlorhexidine gluconate

Kontrol negatif : Etanol 96%

Berdasarkan tabel diatas diameter hambatan yang terbentuk pada ekstrak metanol lebih besar dibandingkan dengan ekstrak nheksana. Hal ini sudah dapat terlihat dari pengujian parameter standar spesifik dimana teripang atau sampel cenderung mengandung lebih banyak senyawa polar. Menurut CLSI, 2015 Daya antibakteri dari kedua ekstrak tergolong lemah, karena diameter yang terbentuk

<14 mm. klasifikasi respon hambatannya dapat dilihat pada tabel dibawah ini.

Tabel 4. Klasifikasi Respon Hambatan Pertumbuhan bakteri

Respon Hambatan Pertumbuhan	Diameter zona bening (mm)
Kuat	≥ 20
Sedang	15 s/d 19
Lemah	≤14

Kemudian ekstrak terpilih yang diperoleh dari pengujian antibakteri selanjutnya diuji dengan metode KLT bioautografi sehingga dapat di deteksi golongan senyawa aktif yang berperan sebagai antibakteri. KLT bioautografi dilakukan pada semua ekstrak yakni ekstrak nheksana, ekstrak etil asetat dan ekstrak metanol. dilakukan dengan cara menempelkan plat KLT yang telah dielusi dengan fase gerak yang sesuai, kemudian di tempelkan pada media agar darah merah yang sudah berisi bakteri *Streptococcus mutans*. Dibiarkan menempel selama 30 menit, kemudian plat KLT diangkat hati-hati dan diinkubasi serta diamati zona bening yang terbentuk. Hasil dari pengujian ini ekstrak nheksana memiliki zona bening yang lebih

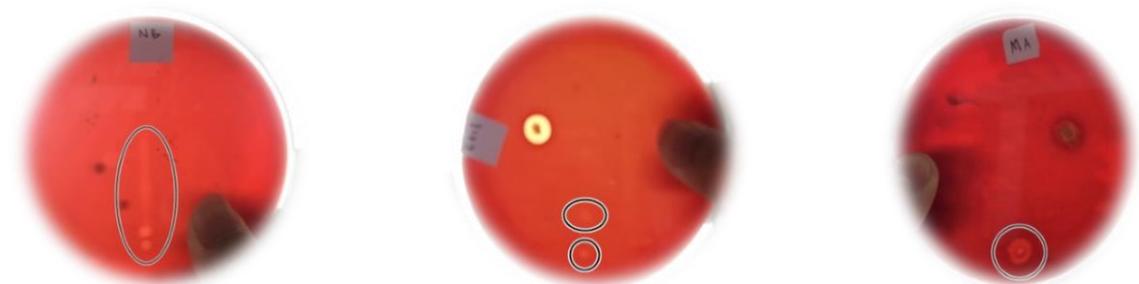
panjang dibandingkan ekstrak etil asetat dan metanol. Dapat terlihat pada gambar di bawah ini.

Selanjutnya dilakukan penyemprotan menggunakan pereaksi spesifik seperti alkaloid, FeCl₃ dan AlCl₃. Hal ini bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa apa yang berperan sebagai antibakteri pada ekstrak bertingkat teripang dada merah.

Tabel 5. Hasil Golongan metabolit sekunder dengan penampak bercak

Deteksi	Keterangan warna	Hasil		
		Ekstrak n-heksana	Ekstrak etil asetat	Ekstrak metanol
Alkaloid	Oranye hingga merah	Oranye	Ungu	Biru
Flavonoid	Kuning	Biru	Ungu	Biru
Fenol	Biru hingga hitam	Oranye	Oranye	Oranye

Dari tabel diatas dapat dikatakan ekstrak yang menghasilkan reaksi positif hanya pada ekstrak nheksana. Ekstrak nheksana positif. mengandung senyawa alkaloid. Sementara itu, kedua ekstrak lain menghasilkan reaksi negatif



(A)

(B)

(C)

Hasil KLT Bioautografi (A) Ekstrak nheksana 1 bercak bening (B) Ekstrak etil asetat 2 bercak bening (C) Ekstrak metanol 1 bercak bening

terhadap ketiga penampak bercak spesifik.

D. Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan

Berdasarkan hasil yang telah diperoleh pada pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* menggunakan metode sumuran, ekstrak nheksana dan ekstrak metanol dari teripang dada merah memiliki aktivitas antibakteri, dapat terlihat pada zona hambat yang terbentuk pada ekstrak nheksana dengan konsentrasi mulai dari 2000 ppm, 1000 ppm, 800 ppm, dan 600 ppm, memberikan hasil berturut-turut 8,6 mm, 8,7 mm, 8,3 mm dan 7,7 mm. Sementara itu pada ekstrak metanol dengan konsentrasi 2000 ppm, 1000 ppm, 800 ppm dan 600 ppm memberikan hasil berturut-turut 10,5 mm, 10,6 mm, 8,5 mm dan 10,8 mm. Setelah dilakukan pengujian KLT Bioautografi ekstrak nheksana memiliki aktivitas yang paling baik. Diduga senyawa yang berperan dalam penghambatan aktivitas antibakteri adalah senyawa alkaloid.

Saran

Disarankan untuk melakukan Uji KLT Bioautografi dengan menggunakan penampak bercak spesifik yang lain dan disarankan pula untuk melanjutkan penelitian ke tahap isolasi senyawa yang berperan sebagai antibakteri pada Teripang dada merah.

Daftar Pustaka

- Annisa Audies. (2015). Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Nanas (Ananas Comosus. L) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus Mutans* Penyebab Karies Gigi. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Andalas, Padang.
- Choma I. (2005). *The Use of Thin-*

Layer-Chromatography with Direct

Bioautography for Antimicrobial Analysis. LCGC Europe.

Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). (2015). *Performance*

Standards For Antimicrobial susceptibility Testing : Seventeenth Informational Supplement. USA.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2000). *Parameter Standar Umum*

Ekstrak Tumbuhan Obat. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.

Edyson, dkk. (2017). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Teripang *Holothuria Edulis*

Yang diperoleh Dari Teluk Manado, Jurnal ilmiah Farmasi, November , Vol.6, No.4.

Julianti, dkk. (2008). *Gigi dan Mulut*. Universitas Riau.

Kementrian Kelautan dan Perikanan. (2015). *Pedoman Umum Identifikasi dan*

Monitoring

Populasi Teripang. Jakarta

Kusumaningtyas, E., Astuti, E., & Darmono.(2008). *Sensitivitas Metode*

Bioautografi Kontak dan Agar Overlay dalam Penentuan Senyawa Antikapang, Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia.

Martoyo, Joko.(1996). *Budi daya teripang*. Niaga Swadaya