

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI ETANOL SPONS LAUT
(*Calyspongia sp*) TERHADAP *Streptococcus mutans*
PENYEBAB KARIES GIGI**

Puspa Sari¹, Ika Nur Fajri Mentari², Edy Kurniawan³

^{1,2,3}Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik “Medica Farma Husada” Mataram

puspasari1997@gmail.com

ABSTRAK

Spons adalah salah satu biota laut yang menghasilkan senyawa bioaktif. Senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh spons laut telah banyak diketahui manfaatnya. Spons juga merupakan sumber berbagai macam produk alami seperti senyawa sitotoksin, agen antifouling, antibiotik, antiinflamasi dan antivirus. Tujuan penelitian untuk mengetahui daya hambat ekstrak etanol spons laut (*Calyspongia sp*) dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* penyebab karies gigi. Metode yang digunakan adalah metode difusi sumuran. Hasil penelitian ini menunjukkan ekstrak etanol Spons laut (*Calyspongia sp*) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dengan melihat rata-rata diameter yang terbentuk mulai dari konsentrasi 25% dengan luas zona hambat 11,75 dengan katagori sensitifitas rendah mm sedangkan konsentrasi 50% dapat menghambat sebesar 17,25 mm dengan katagori sensitifitas tinggi, konsentrasi 75% dapat menghambat sebesar 16,75 mm dengan katagori sensitifitas tinggi dan konsentrasi 100% dapat menghambat sebesar 18,5 mm dengan katagori sensitifitas tinggi. Dengan artinya semakin tinggi konsentrasi digunakan semakin besar zona hambat yang terbentuk. Untuk menentukan data berdistribusi normal atau tidak dilakukan uji statistik dengan uji *Kolmogorov smirnov* Berdasarkan uji statistik *Kolmogorov-Smirnov* dengan hasil 0,964 lebih dari ($\text{sig} > 0,05$) dari hasil tersebut dapat dinyatakan bahwa data tersebut terdistribusi normal. Untuk penentuan variabel penelitian homogen atau tidak maka dilakukan uji statistik *Levent Test* dari hasil pengujian menunjukkan hasil uji homogenitas varians adalah homogen, hal ini dibundari hasil uji yaitu nilai signifikan $(0,869) > \alpha 0,05$ maka dari data tersebut dapat disimpulkan bahwa data berdistribusi normal dan homogen maka dilanjutkan menggunakan uji *one way anova* hasil uji *one way anova* diperoleh hasil signifikan $0,000 < \alpha = 0,05$, artinya ada perbedaan bermakna antara konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100% terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

Kata kunci : Antibakteri ekstrak etanol, *Calyspongiasp*, *Streptococcus mutans*, karies gigi.

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Karies gigi merupakan salah satu penyakit rongga mulut yang sering terjadi di dunia dan menjadi masalah besar bagi penyedia layanan kesehatan. Peningkatan pemahaman tentang peran mikroorganisme pada penyakit gigi dan mulut sangat diperlukan untuk menurunkan prevalensi karies (Forssten, 2010). Menurut *World Health Organization* (WHO) tahun 2003 menyatakan bahwa angka kejadian karies pada anak mencapai 60-90%. Menurut Laporan Riset Kesehatan Dasar 2007 menyatakan bahwa prevalensi karies gigi atau gigi berlubang di Indonesia mencapai 72,1% dan hanya 29,6% yang mencari dan mendapatkan perawatan dari tenaga kesehatan. Hal ini membuktikan bahwa kurangnya kesadaran masyarakat terhadap pelayanan tenaga medis kesehatan gigi (Adi, 2011).

Kariesgigi disebabkan karena ketidakseimbangan ekologi mikroorganisme di dalam mulut. Mikroorganisme yang bersarang di dalam mulut awalnya membentuk kompleks biofilm yang kemudian menjadi plak gigi di permukaan gigi, plak gigi ini yang kemudian menyebabkan gigi menjadi berlubang (Struzycka, 2014).

Plak gigi merupakan penyebab kompleks yang melibatkan kerusakan pada email, dentin dan sementum oleh bakteri. Kondisi yang asam oleh bakteri kariogenik seperti *Streptococcus mutans* bakteri ini termasuk bakteri flora normal yang ada di dalam mulut yang mendorong rusaknya kalsium dan fosfat pada struktur hidroksiapatit. Dekalsifikasi oleh asam dari bakteri tergantung pada berbagai faktor termasuk konsentrasi sumber karbon, jumlah dan aktivitas mikroflora plak, laju aliran saliva dan sifat permukaan gigi (Nishimura, 2012). Akumulasi plak dapat dihambat dengan dua

cara, yaitu secara mekanik dan kimiawi. Secara mekanik plak dapat dicegah menggunakan metode konvensional seperti menyikat gigi, sedangkan secara kimiawi seperti menggunakan obat kumur (Newman, 2006).

Penambahan bahan aktif herbal ke dalam pasta gigi diharapkan dapat menghambat perkembangan plak gigi. Pasta gigi yang memiliki aktivitas antiplak dan antimikroba sangat dibutuhkan untuk mencegah pertumbuhan mikroorganisme pembentuk plak (Priya *et al.*, 2012). Metode mekanik merupakan metode yang paling sederhana untuk membersihkan plak gigi, metode ini menggunakan sikat gigi untuk pengaplikasiannya (Struzycka, 2014). Selain menggunakan sikat gigi, juga diperlukan pasta gigi. Pasta gigi merupakan sediaan semi padat yang terdiri dari bahan penggosok, pembersih, dan zat aktif lain. Pasta gigi mengandung bahan aktif maupun aditif yang memiliki fungsi tertentu. Bahan aktif kimia yang umum terkandung di dalam pasta gigi yaitu triklosan dan flourida (Strassler, 2013). Selain bahan aktif kimia, pasta gigi yang mengandung bahan aktif herbal juga terbukti memiliki aktifitas antimikroba (Shubhra, 2013).

Obat kumur yang banyak digunakan mengandung alkohol sudah terbukti memiliki aktivitas antimikroba dan antiplak, misalnya *chlorhexidine digluconate* 0,2%. Efek samping yang dimiliki obat kumur yang mengandung alkohol yaitu menyebabkan mulut terasa kering, rasa terbakar dan berbahaya apabila tertelan (Pizzo, 2006).

Komposisi mikroflora rongga mulut manusia mengalami keseimbangan dinamis dalam kondisi normal. Bila keseimbangan ini terganggu, flora normal rongga mulut mengarah ke pembentuk plak gigi. Asupan karbohidrat tinggi menyebabkan akumulasi metabolit asam dalam plak, yang mengarah ke lingkungan pH rendah. Jumlah bakteri dengan potensi kariogenik akan meningkat secara signifikan dalam kondisi asam. Plak nonkariogenik akan berubah menjadi plak kariogenik dan menghasilkan

sejumlah besar zat patogen yang dapat menyebabkan perkembangan karies gigi. Agen penyebab produksi asam tidak terbatas pada *Streptococcus mutans*, tetapi juga termasuk bakteri lain dalam plak gigi diantaranya *Streptococcus sanguis* dan *Streptococcus oralis* (Nishimura, 2012).

Permukaan gigi yang ditutupi oleh lapisan biofilm yaitu lapisan lendir yang terdiri dari jutaan bakteri, polimer saliva dan sisa-sisa makanan. Lapisan biofilm yang terbentuk ini disebut plak. Bakteri flora normal rongga mulut dalam bentuk plak merupakan syarat utama terbentuknya karies. Pencegahan karies dan penyakit periodontal didasarkan pada pengendalian bakteri pada plak. Salah satu bakteri yang secara umum dianggap sebagai agen penyebab utama karies gigi adalah *Streptococcus mutans*. *Streptococcus mutans* yang menghidrolisis sukrosa menjadi komponen monosakarida, fruktosa, dan glukosa. Bakteri *streptococcus mutans* ini menghasilkan dua enzim, yaitu *glucosyltransferase* (GTF) dan *fructoyltransferase* (FTF). Enzim-enzim ini bersifat spesifik sebagai substrat sukrosa yang digunakan untuk sintesa glukukan dan fruktan. Enzim *glucosyltransferase* (GTF) selanjutnya merakit glukosa menjadi dektran. Residu fruktosa adalah gula utama yang difermentasi menjadi asam laktat. Akumulasi bakteri dan dektran menempel pada permukaan gigi dan membentuk plak gigi. (Adi, 2011).

Mikroorganisme utama penyebab gigi berlubang yaitu *Streptococcus mutans*. *Streptococcus mutans* ditemukan pada tahap awal pembentukan plak gigi. Mikroorganisme ini memiliki kemampuan untuk menghasilkan asam. Kebersihan gigi sangat diperlukan untuk mencegah pembentukan plak gigi. Oleh karena itu diperlukan teknik-teknik untuk membersihkan plak pada permukaan gigi, salah satunya yaitu dengan metode mekanik (Struzycka, 2014).

Terdapat berberapa jenis bioata laut yang diduga memiliki kemampnan menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* salah satunya yaitu spons laut. Spons merupakan salah satu komponen biota penyusun terumbu

karang yang mempunyai potensi metabolit sekunder yang belum banyak dimanfaatkan. Hewan laut ini mengandung senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas lebih tinggi dibandingkan dengan senyawa-senyawa yang dihasilkan oleh tumbuhan darat (Muniarsih dan Rachmaniar, 2009).

Salah satu senyawa bioaktif unik yang dihasilkan oleh mikroba simbiosis spons laut (*Callyspongia sp*) adalah protein aktif (enzim) yang menghidrolisis ikatan peptida pada protein menjadi fragmen-fragmen besar dan membantu untuk menghambat suatu enzim yang diperoleh suatu bakteri dan mengandung senyawa alkaloid dan tanin yang dapat menghambat pertumbuhan suatu bakteri patogen. Karena kondisi lingkungan laut yang sangat berbeda dengan daratan, organisme laut mampu menghasilkan berbagai tipe antibiotik. Sebagai contoh, senyawa *Cephalosporin C* yang dihasilkan oleh fungi laut *Cephalosporium acremonium* sudah diaplikasikan sebagai antibiotik untuk mengatasi berbagai macam penyakit dari bakteri patogen. (Suriani dkk, 2012).

Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat ekstrak etanol spons laut (*Callyspongia sp*) dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* penyebab karies gigi.

METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan dalam penelitian ini merupakan penelitian yang berupa eksperimental laboratoris dengan menggunakan *post test only control group design* yaitu mengungkapkan hubungan sebab akibat dengan cara melibatkan satu kelompok subjek. Kelompok subjek diobservasi sebelum dilakukan intervensi, kemudian diobservasi lagi setelah intervensi (Nursalam, 2011).

Penelitian ini akan dilakukan untuk mengetahui Aktivitas Ekstrak Spons Laut (*Callyspongia sp*) terhadap *Streptococcus mutans* penyebab Karies Gigi.

Tempat dan Waktu Penelitian

Sampel penelitian diperoleh dari Laboratorium Politeknik “Medica Farma Husada” Mataram uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol spons laut *Callyspongia sp* terhadap *Streptococcus mutans* penyebab karies gigi dilakukan di laboratorium biologi Politeknik “Medica Farma Husada” Mataram pada Bulan April 2018

Besaran Unit Eksprimen

Besaran unit eksperimen yang dilakukan dalam penelitian ini didapatkan dengan cara: Menghitung jumlah replikasi dengan rumus Federeer (Hanafiah 2010):

1. Menurut jumlah replikasi

$$(t-1)(r-1) \geq 15$$

$$(4-1)(r-1) \geq 15 \quad \text{Keterangan:}$$

$$3(r-1) \geq 15 \quad t : \text{Perlakuan}$$

$$3r-3 \geq 15 \quad r : \text{Replikasi}$$

$$3r \geq 15+3$$

$$r \geq 18:3$$

$$r \geq 6$$

2. Menurut unit percobaan

$$N=t \times r$$

$$=4 \times 6$$

$$=24$$

Keterangan:

N : Jumlah unit percobaan

T : Perlakuan

r : Replikasi

Teknik Pengumpulan data

Data yang di kumpulkan dalam penelitian ini adalah data primer. Data primer adalah data yang diperoleh secara langsung oleh penulis yaitu dilakukan dengan mengukur zona hambat ekstrak etanol spons laut (*Callyspongia sp*) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* penyebab karies gigi.

Populasi dan sampel

Populasi adalah menyangkut keseluruhan dari variabel yang diteliti (Nursalam, 2008). Populasi yang dijadikan objek adalah spons laut yang diambil dari Pantai Mentigi Lombok Utara dengan sampel yang diteliti adalah spons laut sebanyak 14,83 gram dan larutan etanol 96% sebanyak 250 ml.

Instrumen penelitian

Instrumen penelitian merupakan alat yang di laboratorium. Analisis yang digunakan pada penelitian ini adalah analisis

kualitatif metode difusi. Digunakan untuk mengukur fenomena alam maupun sosial yang diamati (Notoatmodjo, 2010).

Prosedur penelitian

1. Sterilisasi Alat, ekstraksi spons laut *Callyspongia sp* dan pengambilan bakteri

- a. Sterilisasi Alat-alat yang digunakan
Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini disterilkan terlebih dahulu. Alat-alat gelas disterilkan dalam oven pada suhu 170⁰C selama ± 1 jam (sterilisasi kering). Media disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121⁰C selama 15 menit (sterilisasi basah)
- b. Pengeringan sampel
Pengeringan dilakukan dengan menggunakan kering angin (air drying) tanpa penyinaran matahari secara langsung untuk menghindari berubah atau rusaknya komponen senyawa bioaktif yang terdapat dalam sampel (Harbone, 1987).
- c. Ekstraksi spons laut *Callyspongia sp*.
Sampel spons ditimbang, dipotong-potong kemudian dimaserasi dengan etanol 96% selama 24 jam dengan perbandingan 1:2 (w/v). Setelah itu, sampel disaring sehingga diperoleh debris I dan filtrat I. Filtrat I dikumpulkan dalam wadah, sedangkan debris I dimaserasi lagi dengan etanol 96% selama 24 jam lalu disaring, sehingga memperoleh debris II dan filtrat II. Debris II diberikan perlakuan yang sama dengan sebelumnya hingga diperoleh debris III dan filtrat III. Filtrat III yang diperoleh digabungkan dengan filtrat I dan II, lalu disaring. Sebagian filtrat yang telah disaring diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* pada temperatur 40⁰C sampai etanol menguap. Filtrat lainnya dievaporasi di dalam oven. Bagian sisa dari penguapan etanol disebut ekstrak pekat. Ekstrak pekat disimpan dalam referigenerator dengan suhu 40⁰C.
- d. Prosedur pengambilan bakteri

Bakteri *Streptococcus mutans* yang digunakan dalam penelitian ini merupakan stok bakteri murni yang diisolasi dari pus dalam rongga mulut, berasal dari Laboratorium Politeknik Medica Farma Husada Mataram. Bakteri ini disimpan pada agar miring kemudian dimasukkan ke dalam wadah steril yang berada dalam suasana anaerob dan ditutup sehingga sterilisasi tetap terjaga, untuk dibawa ke daerah tempat penelitian. Bakteri yang sudah tersedia dalam botol wadah steril di simpan. Bakteri dimasukkan ke referigenerator dengan suhu -20⁰C. Jika sudah mendekati waktu untuk digunakan, bakteri diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37⁰C.

e. Pembuatan Medium

1) Nutrien Agar (NA)

Pada pembiakan bakteri media yang digunakan Nutrien Agar (NA). Serbuk NA sebanyak 24 gram dilarutkan dalam 1 liter aquades dan dipanaskan sampai mendidih sehingga semuanya larut. Lalu disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit. Setelah agak dingin dapat disimpan dalam lemari pendingin dan dapat digunakan jika diperlukan dengan memanaskannya kembali dalam water bath.

2) Mueller Hinton Agar (MHA)

Medium Mueller Hinton Agar digunakan untuk penentuan diameter zona hambat dengan cara difusi. Serbuk MHA sebanyak 38 gram dilarutkan dalam 1 liter aquadest dan dipanaskan sampai mendidih sehingga larut. Kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit.

f. Pembuatan Kultur Kerja

Stok bakteri *Streptococcus mutans* dalam nutrien agar

diremajakan kembali pada MHA miring dengan menggunakan ose yang telah disterilkan dengan cara memijarkan pada api bunsen. Kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 18-24 jam.

g. Pembuatan kontrol positif
Kontrol positif dengan menggunakan cakram disk antibiotik Ciprofloxacin 0,006 mg.

h. Pembuatan Larutan Uji
Larutan uji dibuat dengan cara melarutkan ekstrak dengan Aquades. Untuk pengujian aktivitas antibakteri daya hambat dibuat konsentrasi 100 mg/ml dan 50 mg/ml yang kemudian diteteskan ke dalam sumuran sebanyak 50 µl. Untuk penentuan konsentrasi hambat minimum dibuat seri konsentrasi 10 mg/ml sampai dengan 45 mg/ml dengan interval 5 mg/ml.

i. Pembuatan suspensi mikroorganisme uji

Dibuat suspensi mikroba dari koloni yang tumbuh pada medium pembiakan. Cara pembuatan suspensi yaitu satu ose bakteri dari medium pembiakan diambil lalu dimasukkan ke dalam tabung berisi larutan NaCl 0,9% add 10 ml (tabung sudah diberi tanda batasan 10 ml). suspensi bakteri uji yang telah disiapkan diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 atau 625 nm. Tujuannya agar kekeruhan suspensi disesuaikan dengan absorban standar 0,5 McFarland.

Bila suspensi tersebut tidak sesuai dengan kekeruhan larutan standar maka ditambahkan koloni mikroba pada suspensi jika absorban dibawah absorban standar atau suspensi tersebut diencerkan dengan penambahan NaCl 0,9% sampai kekeruhan suspensi sesuai dengan standar 0,5 McFarland.

2. Pengujian Aktivitas Bakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi

sumuran. Metode ini dilakukan dengan meneteskan larutan uji sebanyak 50 µl dalam lubang sumuran. Lubang sumuran yang sudah ditetesi kemudian diletakkan pada media agar padat yang telah disuspensikan bakteri uji sebanyak 0,1 ml yang diratakan dengan batang spreader dan didiamkan selama 15 menit. Kemudian inkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37⁰C dan diameter daerah hambat yang terbentuk diukur.

Cara pembuatan konsentrasi ekstrak sbb:

1. Konsentrasi 25%. Sebanyak 2ml. Menggunakan rumus pengenceran $C1 \cdot V1 = C2 \cdot V2$.

$C1 \cdot 50\% = 2\text{ml} \cdot 25\%$

$$C1 \text{ ml} = \frac{50\% \cdot 2\text{ml}}{50\%}$$

$C1 = 0,6$ Jadi ambil sebanyak 0,6 ml ekstrak pekat 50% kemudian tambahkan aquades sebanyak 0,6ml.

2. Konsentrasi 50%. Sebanyak 2ml. Menggunakan rumus pengenceran

$$C1 \cdot V1 = C2 \cdot V2$$

$$C1 \cdot 100\% = 2\text{ml} \cdot 50\%$$

$$C1 \text{ ml} = \frac{100\% \cdot 2\text{ml}}{100\%}$$

$C1 = 1$ jadi ambil sebanyak 1µl ekstrak pekat 100% kemudian tambahkan aquades sebanyak 1µl

1. Konsentrasi 75% . Sebanyak 1,5 µl. Menggunakan rumus pengenceran

$$C1 \cdot V1 = C2 \cdot V2$$

$$100\% \cdot V1 = 100\% \cdot 1,5 \mu\text{l}$$

$$V1 \text{ ml} = \frac{150\% \mu\text{l}}{100\%} = 1,5 \mu\text{l}$$

Jadi diambil. 150 µl ekstrak pekat dari konsentrasi 100% kemudian tambahkan aquades sebanyak 0,5µl.

2. Konsentrasi 100%. Sebanyak 2,5 µl. Menggunakan rumus pengenceran

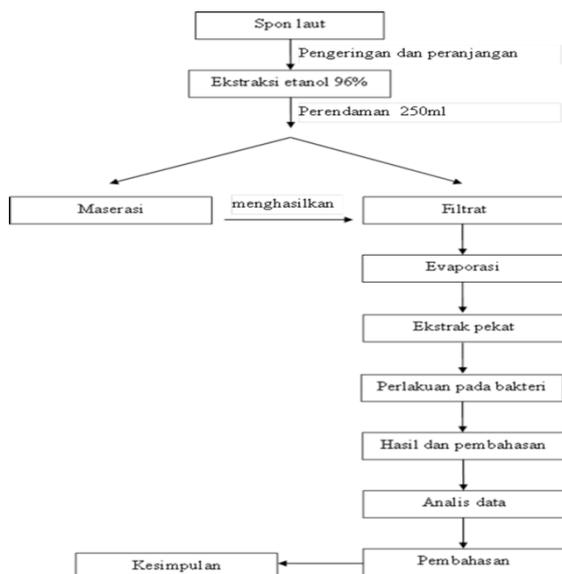
$$C1 \cdot V1 = C2 \cdot V2$$

$$100\% \cdot V1 = 100\% \cdot 2,5 \mu\text{l}$$

$$V1 = \frac{250 \mu\text{l}}{100\%} = 2,5 \mu\text{l}$$

Jadi ambil sebanyak 250 µl ekstrak pekat 100% ditambahkan 250 µl aquadest steril

Alur Kerja



Analisis Data

Untuk mengetahui katagori zona hambat yang terbentuk maka dilakukan analisis berdasarkan ketentuan Arora dan B' dudwaj, (1997)

Tabel 4.1 Katagori Zona Hambat

No	Diameter zona hambat	Katagori
1	< 9 mm	Katagori resisten
2	9-12 mm	Katagori rendah
3	12-15 mm	Katagori sensitifitas sedang
4	> 15	Katagori sensitifitas tinggi

Sedangkan untuk mengetahui adanya aktivitas antibakteri maka dilakukan uji statistik dengan menggunakan program SPSS dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). Zona hambat yang terbentuk dianalisis dengan menggunakan uji statistik *Kolmogorov-Smirnov* untuk mengetahui data berdistribusi normal atau tidak. Sedangkan untuk mengetahui homogenitas suatu data dilakukan uji *Levent Test* untuk mengetahui data homogeny atau tidak. Apabila data ho berdistribusi normal dan homogen maka akan dilanjutkan dengan uji *One Way Anova*. Apabila data tidak berdistribusi normal dan tidak homogen maka dilakukan uji statistik dengan *Kruskal-wallis*.

Tabel 3.2 Pengolahan Statistik *One Way Anova*

	<i>Sum of squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean squares</i>	<i>F</i>	<i>Sig</i>
<i>Between Gorups</i>					
<i>Whitin Groups</i>					
Total					

Keterangan :

DF : Derajat Bebas

SS : Jumlah Kuadrat (*Sum of Squares*)

MS : Kuadrat rata-rata (*Mean of Squares*)

Apabila hasil uji ternyata $p < \alpha (0,05)$ berarti terdapat perbedaan ada pengaruh signifikan dari masing-masing konsentrasi ekstrak etanol spons laut terhadap pertumbuhan bakteri *S. mutans* (Ha diterima), sedangkan nilai $p > \alpha (0,05)$, berarti tidak terdapat perbedaan pengaruh signifikan dari masing-masing kosentrasi ekstrak etanol spons laut terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

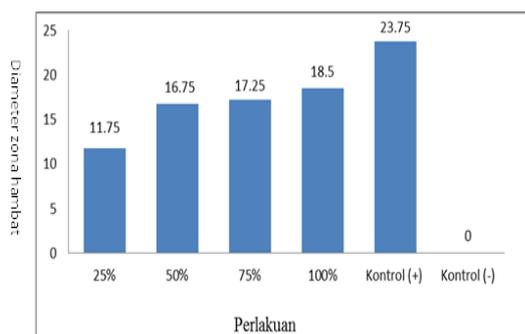
Hasil penelitian menunjukkan bahwa uji daya hambat ekstrak *Spons Laut (Callyspongia sp)* dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji *Streptococcus mutans* penyebab karies gigi. Sedangkan pada kontrol positif dapat pula menghambat bakteri uji, pada kontrol negatif tidak memperlihatkan daya hambat bakteri *Streptococcus mutans*.

Tabel 4.1 Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak *Spons Laut (Callyspongia SP)* Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*

Perlakuan	Replikasi Luas Zona Hambat (mm)				Total Hasil	Rata-rata Hasil Uji
	1	2	3	4		
25%	13	12	12	10	47	11.75
50%	15	15	22	15	67	16.75
75%	16	23	15	15	69	17.25

100%	17	15	25	17	74	18.5
Kontrol (+) <i>ciprofloxacin</i>	20	20	20	20	95	20
Kontrol (-) aquades	0	0	0	0	0	0

Berdasarkan hasil penelitian pada tabel 4.1 rata-rata zona hambat yang terbentuk baik pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% secara berturut-turut masing-masing sebesar 11,75 mm, 16,75 mm, 17,25 mm, dan 18,5 mm. Hasil menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak spons *Callyspongiasp* maka semakin besar zona hambat yang terbentuk. Sedangkan pada k+ (Ciprofloxacin) rata-rata zona hambat yang terbentuk sebesar 20 mm.



Hasil penelitian yang terlihat pada Tabel 4.1 dan diagram 4.1 di atas menunjukkan bahwa setelah diberi perlakuan sesuai dengan kelompoknya, terbentuk zona hambat dalam koloni bakteri. Rata-rata zona hambat yang terbentuk pada masing-masing konsentrasi yaitu konsentrasi 25% sebesar 11,75 mm, konsentrasi 50% sebesar 16,75 mm, konsentrasi 75% sebesar 17,25 mm dan konsentrasi 100% sebesar 18,5 mm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak *Spons Laut (Callyspongia sp)* maka semakin besar pula zona hambat yang terbentuk.

Utuk mengetahui data berdistribusi normal atau tidak maka dilakukan uji statistik dengan uji Kormogrov Smirnov. Hasil uji kolmogrov Smirnov dapat dilihat pada tabel 4.2

Tabel 4.2 Hasil Uji Distribusi Normalitas.

Uji <i>Kolmogrov – Smirnov</i>	Hasil
Asymp. Sig. (2-tailed)	0.964

Berdasarkan hasil uji *KolmogrovSmirnov* diketahui bahwa nilai signifikannya lebih besar dari $\alpha = 0,05$ ($0,964 > 0,05$) yang berarti bahwa data berdistribusi normal.

Untuk mengetahui homogenitas data, maka dilakukan uji statistik dengan uji *Leventttest*. Hasil uji homogenitas dapat dilihat pada tabel 4.3 :

Tabel 4.3 Hasil pengujian statistik dan homogenitas

VAR0003			
Levens Statistic	Df1	Df2	Sig.
.019	1	6	.096

Berdasarkan hasil uji homogenitas pada tabel 4.3 diketahui bahwa nilai signifikan lebih besar dari $\alpha = 0,05$ ($0,096 > 0,05$) yang berarti bahwa data adalah homogen.

Berdasarkan uji statistik *KolmogrovSmirnov* dan *Leventttest* diketahui bahwa data berdistribusi normal dan homogen sehingga untuk mengetahui adanya aktivitas ekstrak spons laut *calyspongia sp* terhadap bakteri *streptococcus mutans* maka dilanjutkan ke uji *One Way Anova*. Hasil uji *OneWayAnova* dapat dilihat pada table 4.3 dibawah ini:

Tabel 4.3 Hasil uji perbedaan zona hambat ekstrak etanol Spons laut (*Callyspongia sp*) terhadap *Streptococcus Mutans* penyebab karies gigi.

ANOVA

VAR0000	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
3					
Between Groups	3280.500	1	3280.500	60.101	.000
Within Groups	327.500	6	54.583		
Total	3608.0	7			

	00				
--	----	--	--	--	--

Berdasarkan uji *one way anova* diperoleh hasil signifikan $0,000 < \alpha = 0,05$, artinya ada perbedaan bermakna antara konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100% terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Berdasarkan hasil tersebut maka H_a diterima hal ini menunjukkan hipotesis diterima sehingga dapat disimpulkan bahwa bahwa ekstra *Spons Laut (Callyspongia sp)* memiliki daya hambat terhadap bakteri *Streptococcus mutans*

Pembahasan

Hasil penelitian uji daya hambat ekstrak *Spons Laut (Callyspongia sp)* dengan konsentrasi dapat menghambat bakteri *Streptococcus mutans* yang merupakan penyebab karies gigi dapat dilihat dari terbentuknya zona bening sekitar sumuran. Ekstrak *Spons Laut (Callyspongia sp)* memiliki kandungan senyawa yang bersifat toksik. Kandungan senyawa bioaktif antara lain streoit flavonoid, alkaloid, stereroid, tanin (Suriani dkk, 2012). Namun paling menunjukkan daya hambatnya yaitu golongan stereroid/triterpenoid, senyawa tersebut memiliki aktivitas antibakteri yang rendah terhadap *Streptococcus mutans*.

Berdasarkan hasil pengukuran rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk (Tabel 4.1) diketahui bahwa konsentrasi 25% sebesar 11,75 mm dtermasuk dalam katagori rendah, konsentrasi 50% sebesar 16,25 dengan katagori sensitifitas tinggi, konsentrasi 75% sebesar 17,25 mm dengan katagori sensitifitas tinggi, konsetrasi 100% sebesar 18,5 mm dengan katagori sensitifitas tinggi. Hal ini sesuai dengan kreteria. Arora dan Bhadwaj. (1997), yang dinyatakan bahwa terdapat 3 katagori daerah hambatan zona hambat yaitu katagori resisten diameter zona hambat < 9 mm, katagori sensitifitasnya rendah 9-12mm, katagori sensitifitas sedang yaitu 12-15 mm dan katagori sensitifitas tinggi yaitu > 15mm. Dari hasil penelitian ini terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak spons laut *Calyspongia sp* maka zona hambat yang terbentuk semakin besar. Hal ini

ini di sebabkan karena spons laut *Calyspongia sp* memiliki zat aktif steroid dimana menurut Suriani dkk , (2012) senyawa steroid merupakan komponen senyawa aktif yang berasal dari golongan terpenoid. Secara umum golongan senyawa yang berasal dari golongan terpenoid bersifat mudah larut dalam lemak. Rosyidah ,*et al.*, (2010) menyatakan bahwa komponen ini lebih mudah menembus dinding sel bakteri dengan cara menghambat sistesis protein sehingga menyebabkan perubahan komponen-komponen penyusun sel bakteri. Selain itu juga *Calispongiasp* juga mengandung senyawa aktif berupa flavonoid, dimana mekanisme flavonoid menghambat fungsi membran sel dengan cara mengganggu permentabilitas membrane sel dan menghambat ikatan enzim seperti ATPase dan phospholipase menurut Rika Pratiwi.,(2010)

Berdasarkan tabel 4.1 diketahui bahwa zona hambat yang terbentuk pada kontrol positif adalah sebesar 20 mm. Zona hambat yang terbentuk pada kontrol positif lebih besar dibandingkan dengan kelompok perlakuan, baik pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%. Hal ini disebabkan kontrol positif ini memiliki senyawa tunggal yaitu golongan fluroqiunolon yang memiliki spektrum yang sangat luas. Kontrol positif (+) yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Ciprofloxacin*. *Ciprofloxacin* merupakan suatu antibiotik sintetik golongan *flouroquinolin* dengan spektrum luas terhadap bakteri gram positif dan gram negatif. Efek antibakteri *ciprofloxacin* disebabkan oleh gangguan terhadap enzim DNA topoisomerase atau biasa disebut DNA-gyrase yang dibutuhkan untuk sintesa DNA bakteri. Penghambatan terhadap enzim yang terlibat dalam replikasi, rekomendasi dan reparasi DNA tersebut mengakibatkan penghambatan terhadap pertumbuhan sel bakteri (Sweetman, 2007). Luas zona hambat yang dihasilkan oleh *ciprofloxacin* dalam penelitian ini yaitu sebesar 18,5 mm, berarti ini menunjukkan bahwa isolate *Streptococcus mutans* yang digunakan masih sensitif terhadap antibiotik *ciprofloxacin*. Sedangkan pada kelompok

perlakuan dengan menggunakan ekstrak spons laut (*Calyspongia sp*) yang berupa steroid, flavonoid, tanin, dimana kemungkinan senyawa-senyawa tersebut bersifat antagonis satu sama lainnya.

Hasil pengukuran zona hambat yang ditampilkan pada tabel 4.1 selanjutnya di analisis menggunakan uji statistik *Kolmogrov-Smirnov* untuk mengetahui normalitas data, dan uji statistik *Levent Tests* untuk mengetahui homogenitas data. Dari hasil uji normalitas didapat nilai signifikan $0,964 > 0,05$, artinya data berdistribusi normal. Untuk mengetahui homogenitas data dilakukan uji statistik *Levenes Test*, menunjukkan bahwa data homogen dengan nilai signifikan $0,096 > 0,05$, maka dilanjutkan uji statistik *One way Anova*.

Berdasarkan hasil analisis data statistik *One Way Anova* tabel 4.3 bahwa nilai signifikan $0,000 < 0,05$ berarti ada perbedaan bermakna pada semua kelompok perlakuan yang berarti bahwa ekstrak spons laut *Calyspongia sp* memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa *Calyspongia sp* memiliki aktivitas antibakteri. Menurut Abubakar *et al.*, (2011), bakteri yang bersimbiosis dengan spons laut memiliki metabolit sekunder yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Staphylococcus aureus*, *Vibrio harveyii*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aerogenosa*, *Candida albicans*, dan *Candida tropicalis*, dari data tersebut penelitian membuktikan bahwa Spons laut (*Calyspongia sp*) berpotensi sebagai antimikroba alami. Maka dari data tersebut dapat memperkuat penelitian ini tentang ekstrak spons laut *Calyspongia sp* terhadap bakteri *Streptococcus mutans*.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak spons laut (*Calyspongia sp*) memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans*

2. Rata-rata zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 25% sebesar 11,75 mm dengan kategori rendah, sedangkan konsentrasi 50%, 75% dan 100% masing-masing sebesar 16,25 mm, 17,25 mm dan 18,5 mm, termasuk ke dalam kategori sensitifitas tinggi.
3. Terdapat perbedaan signifikan zona hambat pada tiap-tiap konsentrasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abubakar *et al.*, 2001 *Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*. Jakarta : Departemen Kesehatan, Republik Indonesia.
- Adi, 2011. *Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bawang Putih (Allium sativum) Terhadap Pertumbuhan Streptococcus mutans Penyebab Karies Secara In Vitro*. Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
- Arvin, 2010. *Karies Gigi Pada Anak Dengan Berbagai Faktor Etiologi*. Jakarta : EGC.
- Bruck *et al.*, 2008. *Biologi kelautan* Jakarta : Erlangga.
- Budiardjo , 2005. *Manajemen Keperawatan. edisi 3*. Jakarta : Salemba Medika
- Cobasito , 2005. *Biologi untuk SMA Kelas XII*. Jakarta: Erlangga.
- Delta ,2012 *Manajemen Keperawatan gigi. edisi 3*. Jakarta : Salemba Medika
- Forssten, 2010. *Staphylococcus mutans, Caries and Simulation Models, Nutrients*, 2, 290-298.
- Hamsafir, 2010. *Karies gigi, "kesehatan edisi 4* .Yogyakarta: Ilmu biologi.
- Hamsafir, Evan. 2010. *Panduan Menyikat Gigi Pagi Dan Malam Berdasarkan Umur*. <http://www.sikatgigipagimala.com>

- Kidd , 2002. *Clinical Periodontology, 9th ed.*, WB. Saunders. Philadelphia.
- Maksum, 2009, *Fiber Reinforcing Materials for Dental Resins*, Insd.Dentistry., 4(5).
- MentonI.2009. *KontrolPlak*. Artikel. <http://iqbalsandira.blogspot.com/2009/03/kontrol-plak.html> (05/11/2017).
- Murniasih, T dan Rachmaniar, 1999. *Isolasi Substansi Bioaktif Antimikroba dari Spons Asal Pulau Pari Kepulauan Seribu. Prosidings Seminar Bioteknologi Kelautan Indonesia*. Jakarta : Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia Jakarta.
- Nasution, 2012. *Buku Pintar Asuhan Keperawatan Kesehatan Jiwa*. Yogyakarta: Cakrawala Ilmu.
- Newman, 2002. *Clinical Periodontology, 9th ed.*, WB. Saunders. Philadelphia.
- Nishimura, 2012. *Buku pintar tentang Karies*. Yogyakarta: Cakrawala ilmu.
- Notoatmodjo, S. 2010. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta : Rineka Cipta
- Notoatmodjo, S. 2010. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta :Rineka Cipta
- Nursalam, 2011. *Manajemen Keperawatan. edisi 3*. Jakarta :Salemba Medika
- Pratiwi, dkk. 2007. *Biologi untuk SMA Kelas XII*. Jakarta: Erlangga.
- Priya et.,al 2012 *Manajemen Keperawatan gigi. edisi 3*. Jakarta : Salemba Medika
- Priya, 2005. *Low Cost Positioning Devise for Nesting Preterm and Low Birth Weight Neonates. Practical On Call Child Health Care 5 (3) on* <http://www.pediatriconcall.com/fordocor/conference>
- Ramadhan , 2010 *.Low Cost Positioning Devise for Nesting Preterm and Low Birth Weight Neonates. Practical On Call Child Health Care 5 (3) on* <http://www.pediatriconcall.com/fordocor/conference>
- Regina, 2007. *The Effect of Mouthwash Containing Cetylpyridinium Chloride on Salivary Level of Staphylococcus mutans*, J PDGI, 57(1), page 19-24.
- Riskesdas, 2007. *Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*. Jakarta :Departemen Kesehatan, Republik Indonesia.
- Rizzo, 2006. *Streptococcus mutans, Caries and Simulation Models, Nutrients*, 2, 290-298.
- Sandira I. 2009. *Kontrol Plak*. Artikel. <http://iqbalsandira.blogspot.com/2009/03/kontrol-plak.html> (05/11/2017).
- Schurs ,2007. *Buku pintar tentang Karies*. Yogyakarta: Cakrawala ilmu.
- Strassler, 2008, *Fiber Reinforcing Materials for Dental Resins*, Insd.Dentistry., 4(5).
- Struzycka, 20114. *Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bawang Putih (Allium sativum) Terhadap Pertumbuhan Streptococcus mutans Penyebab Karies Secara In Vitro*. Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
- Suhubhr.,2013. *Biologi Kelautan* Jakarta: Erlangga.
- Suriadi dkk, 2012. *Karies gigi, "kesehatan edisi 4* . Yogyakarta: Ilmu biologi.
- Suwelo, 1992. *Karies Gigi Pada Anak Dengan Berbagai Faktor Etiologi*. Jakarta :EGC.

Thiel *et al*, 2007. *The Effect of Mouthwash Containing Cetylpyridinium Chloride on Salivary Level of Streptococcus mutans*, J PDGI, 57(1), page 19-24.

Warni , 2009. *Buku Pintar Asuhan Keperawatan Kesehatan Jiwa*. Yogyakarta: Cakrawala Ilmu.

Harbone. J. B. 1997. *Metode Fitokimia edisi ke-2*. Bandung: Institut Teknologi Bandung. 243 hal.