

Aktivitas Antibakteri Bahan Cetak Berbasis Ekstrak Natrium Alginat dari Alga Merah (*Kappaphycus alvarezii*) terhadap *Lactobacillus acidophilus*

(Antibacterial Activity of Impression Material Based on Sodium Alginate Extract from Red Algae (*Kappaphycus alvarezii*) against *Lactobacillus acidophilus*)

Putu Sadaka Putri Rahayu¹, Depi Praharani², Niken Probosari³, Didin Erma Indahyani⁴, Izzata Barid⁴

¹ Faculty of Dentistry, Universitas Jember, Indonesia

² Periodontics Department, Faculty of Dentistry, Universitas Jember, Indonesia

³ Pedodontics Department, Faculty of Dentistry, Universitas Jember, Indonesia

⁴ Oral Biology Department, Faculty of Dentistry, Universitas Jember, Indonesia

Abstrak

Bahan cetak alginat adalah bahan yang sering digunakan untuk mencetak jaringan di rongga mulut, dan dapat menjadi salah satu agen penularan infeksi pada praktik dokter gigi. Pada hasil cetakan dapat menempel mikroorganisme seperti bakteri *Lactobacillus acidophilus* (*L. acidophilus*). *L. acidophilus* terisolasi dari karies aktif dan dianggap sebagai penginvansi sekunder dalam proses invasi karies gigi. Pengembangan bahan cetak yang mempunyai kemampuan antibakteri perlu dilakukan, salah satunya dengan menggunakan bahan yang berasal dari alga merah (*Kappaphycus alvarezii*). Tanaman ini banyak mengandung alginat yang merupakan komponen utama penyusun dinding sel, terdiri atas garam-garam kalsium, magnesium, natrium dan kalium alginat. Mengekstrak natrium alginat dari alga merah dan menganalisis aktivitas antibakteri bahan cetak berbasis natrium alginat dari alga merah terhadap *L. acidophilus*. Ekstraksi alginat dari alga merah dengan metode asam dan konversi asam alginat menjadi natrium alginat dengan penambahan NaOH. Selanjutnya dibuat bahan cetak dengan penambahan natrium alginat. Uji aktivitas antibakteri dengan metode *well diffusion*. Penelitian ini terdiri dari 3 kelompok yaitu bahan cetak komersial sebagai kontrol (K), ekstrak natrium alginat alga merah (P1), dan bahan cetak dengan ekstrak natrium alginat alga merah (P2). Kelompok K, P1, dan P2 berturut-turut memiliki rata-rata zona hambat 0 mm, 15,56 mm, 17,22 mm. Uji Kruskal Wallis dan Mann Whitney menunjukkan perbedaan yang bermakna antar kelompok. Bahan cetak berbasis ekstrak natrium alginat dari alga merah mempunyai aktivitas antibakteri yang kuat terhadap *L. acidophilus*.

Kata kunci: alga merah, antibakteri, asam alginat, *L. acidophilus*, natrium alginat

Abstract

Alginate impression material is a material that is often used for impression tissue in the oral cavity, and can be one of the agents of infection transmission in dental practice. Microorganisms can adhere to the mold such as *Lactobacillus acidophilus* bacteria. *L. acidophilus* were isolated from active caries and were considered as secondary invaders in the dental caries invasion process. The development of impression materials that have antibacterial capabilities needs to be done, one of which is by using materials derived from red algae (*Kappaphycus alvarezii*). This plant contains a lot of alginate which is the main components of the cell wall, consisting of calcium, magnesium, sodium and potassium alginate salts. Synthesizing sodium alginate from red algae and analyzing the antibacterial activity of sodium alginate-based impression materials from red algae against *L. acidophilus*. Extraction of alginate from red algae using the acid method and conversion of alginic acid to sodium alginate by adding NaOH. The impression material is made with the addition of sodium alginate. Antibacterial activity test by *well diffusion* method. This study consisted of 3 groups, namely control (K), red algae sodium alginate extract (P1), and impression material with red algae sodium alginate extract (P2). Groups K, P1 and P2 had an average inhibition zone of 0 mm, 15.56 mm, 17.22 mm, respectively. Kruskal Wallis and Mann Whitney test showed significant differences between groups. Impression material based on sodium alginate extract from red algae has strong antibacterial activity against *L. acidophilus*.

Keywords: alginic acid, antibacterial, *L. acidophilus*, red algae, sodium hydroxide

Korespondensi (Correspondence) : Depi Praharani, Periodontics Department, Faculty of Dentistry, Universitas Jember, Jl. Kalimantan 37, Jember, Indonesia, Email: praharanidepi.fkg@unej.ac.id

Pencetakan merupakan salah satu prosedur yang dilakukan di kedokteran gigi untuk menduplikasi jaringan keras dan jaringan lunak dalam rongga mulut. Bahan cetak yang sering digunakan adalah bahan cetak alginat yang merupakan bahan cetak elastis tipe irreversible hydrocolloid. Alginat dipilih karena keakuratannya dalam membuat replika bentuk gigi dan jaringan sekitar rongga mulut, kenyamanan pasien, serta pencampuran dan modifikasi yang mudah dengan peralatan yang sederhana.^{1,2}

Pada saat melakukan proses mencetak di dalam rongga mulut, bahan cetak akan terkontaminasi saliva dan darah pasien. Cairan tersebut dapat mengandung virus dan

bakteri patogen yang akan menjadi sumber penularan infeksi pada mereka yang menangani hasil cetakan. Salah satu bakteri rongga mulut yang paling patogen terhadap karies gigi adalah *Lactobacillus acidophilus*. Bakteri ini merupakan produsen asam laktat yang produktif dan bersifat toleran terhadap asam. *L. acidophilus* secara rutin dan konsisten terisolasi dari karies aktif dan dianggap sebagai penginvansi sekunder dalam proses invasi karies gigi karena terlibat setelah lesi karies terbentuk.^{3,4}

The American Dental Association (ADA) memberikan anjuran untuk mencuci dan melakukan desinfeksi pada hasil cetakan sebelum dikirim ke laboratorium untuk

mencegah terjadinya penyebaran patogen. Tetapi prosedur ini dapat mempengaruhi dimensi dan ketidakakuratan hasil cetakan dikarenakan sifat bahan cetak alginat yang mudah menyerap air sehingga bentuknya lebih mudah mengembang.^{5,6} Oleh karena itu penting untuk mengembangkan bahan cetak yang juga mempunyai daya antimikrobal sehingga bisa mengendalikan infeksi silang.

Alginat dari bahan alam dapat digunakan sebagai alternatif pembuatan bahan cetak. Alga merupakan tumbuhan laut yang mengandung alginat; dan alga merah (*Kappaphycus alvarezii*) adalah jenis alga yang memiliki kandungan alginat cukup tinggi. Alginat dalam alga merah diketahui memiliki sifat sebagai penstabil, pengemulsi, viskositas yang tinggi dan kemampuan membentuk gel, biokompatibel, tidak beracun, serta dapat terurai secara hayati.^{7,8,9}

Alginat merupakan jenis polisakarida yang dapat disintesis menjadi natrium alginat. Hasil beberapa penelitian menunjukkan natrium alginat mempunyai aktivitas antibakteri, antivirus dan antijamur. Natrium alginat diketahui mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* dan *Salmonella enteritidis*.^{10,11}

Hal-hal tersebut yang mendasari penulis untuk mengekstrak natrium alginat dari alga merah dan menganalisis aktivitas antibakteri bahan cetak berbasis ekstrak natrium alginat dari alga merah (*K. alvarezii*) terhadap *L. acidophilus*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KPEK) Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember No. 1434/UN25.8/KPEK/DL/2022. Jenis penelitian yang dilakukan adalah eksperimental laboratoris dengan the post test only control group design untuk mengetahui perbedaan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Penelitian terdiri dari 3 kelompok yaitu bahan cetak komersial sebagai kontrol (K), ekstrak natrium alginat alga merah (P1), dan bahan cetak dengan ekstrak natrium alginat alga merah (P2). Setiap kelompok dilakukan 8 kali pengulangan.

Ekstraksi alginat dan sintesis natrium alginat

Alga merah (*K. alvarezii*) yang diambil dari perairan Desa Andelan, Kecamatan Wongsorejo, Kabupaten Banyuwangi telah diidentifikasi di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Jember. Alga merah dicuci menggunakan air mengalir, kemudian direndam dengan larutan KOH 0,1% dalam waktu 1 jam. Mencuci kembali alga merah di air mengalir dan dikeringkan dengan oven bersuhu 60°C selama 96 jam sampai kadar airnya <15%. Alga merah yang sudah kering dihaluskan dengan blender sampai menjadi bubuk. 100 gram bubuk alga merah direndam dalam larutan HCl 1% rasio 1:30 (b/v) selama 1

jam, kemudian dicuci bersih hingga pH netral. Ekstraksi dilakukan menggunakan larutan Na₂CO₃ 2% (1:30; b/v) dengan alat waterbath shaker bersuhu 60-70°C selama 2 jam. Filtrat diambil dengan cara disaring menggunakan saringan ukuran 150 mesh. Selanjutnya filtrat dipucatkan dengan larutan NaOCl 10% sebanyak 4% dari volume filtrat sampai berwarna kuning gading selama 30 menit. Filtrat dititrasi menggunakan HCl 10% hingga pH mencapai 2,8-3,2. Endapan asam alginat yang diperoleh, dipisahkan dan dicuci bersih, kemudian dikonversi menjadi natrium alginat dengan larutan Na₂CO₃ 10% hingga pH netral. Tuang sedikit demi sedikit endapan ke dalam isopropil alkohol (1:2, v/v) sambil diaduk dan dibiarkan 30 menit. Natrium alginat dikeringkan dalam oven selama 72 jam pada suhu 60°C, dihaluskan dengan blender dan disaring menggunakan saringan ukuran 60 mesh. Identifikasi natrium alginat dilakukan dengan spektrofotometer FTIR (*Fourier Transform Infra Red*).¹²

Pembuatan bahan cetak dengan ekstrak natrium alginat alga merah

Kalsium sulfat 14%, potassium sulfat 10%, tanah diatom (filler) 50%, trisodium fosfat atau trinatrium fosfat 2%, HMPC (*hidroxy propyl methyl cellulose*) 6% dan 18% natrium alginat dari alga merah dicampur menggunakan mortar dan pestle. Semua bahan yang telah dicampur, kemudian dihaluskan dengan blender dan disaring sampai homogen.

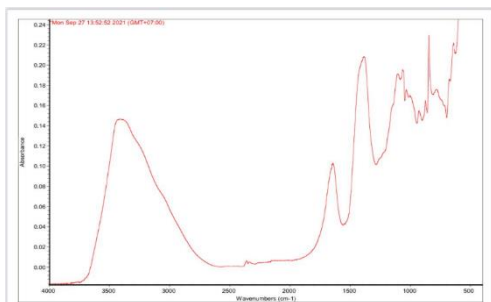
Uji aktivitas antibakteri terhadap *L. acidophilus*

Metode yang digunakan untuk uji aktivitas bakteri adalah well diffusion. Pada setiap media lempeng MHA yang telah diinokulasi *L. acidophilus* dibuat 4 sumuran dengan diameter 6 mm dan tebal 4 mm. Jarak sumuran antara satu dengan yang lainnya yaitu 3 cm dan dari tepi media sebesar 2 cm supaya tidak terjadi tumpang tindih zona hambat yang terbentuk.¹³ Setiap sumuran diisi bahan sesuai kelompoknya, yaitu: kelompok K (kontrol) diisi bahan cetak Hygedent®, kelompok P1 diisi ekstrak natrium alginat alga merah, kelompok P2 diisi bahan cetak yang mengandung ekstrak natrium alginat alga merah. Seluruh media dimasukkan ke dalam desiccator dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah 24 jam dilakukan pengukuran diameter zona hambat dengan menggunakan jangka sorong oleh 3 orang berbeda yang sudah dikalibrasi.

HASIL

Hasil FTIR untuk identifikasi komponen natrium alginat dari alga merah dapat dilihat pada Gambar 1. Hasil uji FTIR dalam bentuk absorben, dimana senyawa-senyawa yang terkandung didalamnya ditunjukkan oleh puncak-puncak serapan gugus fungsi. Menurut Pavia et al (2001) puncak serapan 3.650 cm⁻¹ - 3200 cm⁻¹ adalah spesifik untuk kelompok hidroksil (-H), puncak serapan 1.850 cm⁻¹-1.650 cm⁻¹ untuk kelompok karbonil

(C=O) dan puncak serapan antara 1.000 cm⁻¹ - 1.300 cm⁻¹ untuk kelompok karboksil (C-O), serta puncak serapan antara 2.840 cm⁻¹ - 3.000 cm⁻¹ untuk kelompok alkil (C-H).¹⁴ Sedangkan menurut Chandia dalam Soares (2004), spektrum FTIR alginat memiliki puncak sekitar 800-700 cm⁻¹, menunjukkan ikatan dengan asam manuronat dan guluronat. Berdasarkan puncak-puncak yang terbentuk, bubuk yang dihasilkan dari ekstraksi alga merah (*K. alvarezii*) adalah bubuk natrium alginat.

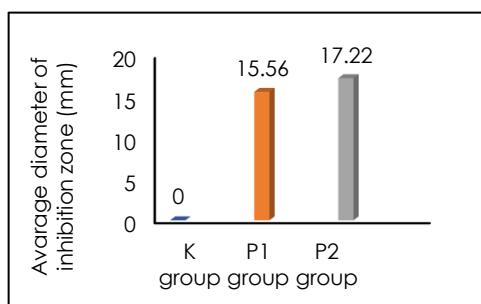


Gambar 1. Hasil uji identifikasi komponen natrium alginat dari alga merah (*K. alvarezii*) dengan FTIR.

Hasil pengukuran rata-rata diameter zona hambat dari masing masing kelompok 2 dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 2. Diantara ketiga kelompok hanya kelompok kontrol yang tidak tampak adanya zona hambat dengan hasil pengukuran 0 mm.

Tabel 1. Rata-rata diameter zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *L. acidophilus*

No	Kelompok	N	\bar{X} (mm)	SD
1	Kelompok K (kontrol)	8	0,00	0,00
2	Kelompok P1 (ekstrak Na-alginat alga merah)	8	15,56	0,28
3	Kelompok P2 (bahan cetak ekstrak Na-alginat alga merah)	8	17,22	0,34



Gambar 2. Histogram rata-rata diameter zona hambat (mm) terhadap pertumbuhan bakteri *L. acidophilus*.

Data yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisis secara statistik menggunakan program statistik SPSS for window 22.0. Hasil uji

Kruskal Wallis didapatkan nilai signifikansi yaitu <0,05 yang artinya terdapat perbedaan yang signifikan pada semua kelompok. Selanjutnya dilakukan uji Mann Whitney yang hasilnya menunjukkan nilai signifikansi <0,05 yang artinya terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok. Hasil analisis tersebut dapat diinterpretasikan bahwa kelompok kontrol tidak mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *L. acidophilus*. Sedangkan, kelompok ekstrak natrium alginat alga merah dan bahan cetak ekstrak natrium alginat alga merah mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *L. acidophilus*, tetapi bahan cetak ekstrak natrium alginat alga merah aktivitasnya lebih besar dibandingkan dengan ekstrak natrium alginat alga merah.

PEMBAHASAN

Uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini menggunakan metode *well diffusion*. Kelebihan metode ini adalah proses osmolaritas terjadi secara menyeluruh dan lebih homogen. Selain itu dengan metode ini akan terjadi kontak langsung antara bahan uji/ekstrak senyawa antibakteri dengan media agar yang sudah diinokulasi bakteri, sehingga bahan uji secara langsung terserap.¹⁵

Aktivitas antibakteri ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat yaitu zona jernih yang terlihat di sekeliling sumuran yang mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan bakteri oleh senyawa antibakteri. Kriteria kekuatan dari daya hambat dibagi menjadi beberapa kategori, yaitu diameter zona hambat ≤5 mm dikategorikan lemah, zona hambat 5-10 mm dikategorikan sedang, zona hambat 10-20 mm dikategorikan kuat dan zona hambat ≥20 mm dikategorikan sangat kuat.¹⁶ Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak natrium alginat alga merah dan bahan cetak ekstrak natrium alginat alga merah mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *L. acidophilus* dan kemampuannya termasuk dalam kategori kuat.

Hasil tersebut sama dengan hasil beberapa penelitian yang mendapatkan bahwa natrium alginat mempunyai aktivitas antibakteri terhadap berbagai spesies. Hasil penelitian dari Khan et al (2012) diketahui bahwa alginat mempunyai aktivitas bakteriostatik terhadap *Pseudomonas*, *Acinetobacter* dan *Burkholderia spp.*¹⁷ Polimer alginat juga mempunyai aktivitas antimikrobal terhadap *E. coli* dan *S. aureus*.^{18,19}

Mekanisme antibakteri natrium alginat dimungkinkan karena natrium alginat yang bermuatan negatif berinteraksi dengan permukaan luar sel bakteri yang menyebabkan gangguan dan kebocoran substansi intraselular. Penurunan fungsi membran dengan pembentukan lapisan natrium alginat yang kental di sekitar sel bakteri yang mencegah transport nutrisi. Selain itu kemampuan antibakteri dapat dikaitkan dengan kapasitas khelasi yang bertanggung

jawab untuk memodulasi produksi racun, pertumbuhan mikroba dan faktor penting untuk stabilitas mikroorganismenya.²⁰

Kuatnya kemampuan ekstrak natrium alginat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *L. acidophilus* kemungkinan juga disebabkan kandungan gugus aktifnya yaitu ion hidroksil. Ion ini merupakan radikal bebas reaktif yang bereaksi dengan komponen seperti membran sel dan mitokondria, menyebabkan perubahan irreversible dalam struktur bakteri. Akibatnya aktivitas biologis enzim hilang dan terjadi gangguan metabolisme sel.^{21,22}

Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahan cetak natrium alginat alga merah mempunyai aktivitas antibakteri yang lebih besar terhadap *L. acidophilus*. Hal ini kemungkinan dikarenakan adanya komposisi bahan cetak yang memiliki sifat antibakteri, seperti trisodium fosfat, potassium fosfat, dan kalsium fosfat. Trisodium fosfat dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara merusak membran sel bakteri yang menyebabkan makromolekul dan ion dari sel keluar.²³ Potassium fosfat bekerja dengan cara mengoptimalkan sifat antibakteri dan memperkuat sifat antimikrobialnya. Sedangkan kalsium sulfat terbukti efektif dalam menghambat bakteri dengan cara pelepasan ion hidroksil yang meningkatkan sifat antibakteri.²⁴

Kesimpulan dari hasil penelitian ini bahwa natrium alginat dapat disintesis dari alga merah (*K. alvarezii*) dan bahan cetak berbasis ekstrak natrium alginat dari alga merah mempunyai aktivitas antibakteri yang kuat terhadap *L. acidophilus*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Febriani M. Alginate impression vs alginate impression plus cassava starch: analisis gambaran mikroskopik. *Stomatognatic (J.K.G Unej)*. 2011;8(2):67-73.
2. Manar J. Alginate as impression material. *International Journal of Applied Dental Sciences*. 2018;4(3):300-3.
3. Samaranayake L. Lactobacilli, corinebacteria and propionibacteria. In *Essential Microbiology for Dentistry*. Fourth Edition. 2012. p. 129.
4. Sukaton, Kunarti S., Nathania N. The number of Lactobacillus acidophilus after using chlorhexidine 2%, laser diode (405 nm), and combination of chlorhexidine 2% with laser diode (405 nm). *Conservative Dentistry Journal*. 2019;9(2):77-81.
5. Zulkarnain M., Harchan Singh JK. Pengaruh penambahan pati ubi kayu pada bahan cetak alginat terhadap stabilitas dimensi model gigi tiruan. *Jurnal Material Kedokteran Gigi*. 2018;3(2):54-61.
6. Divya Dharsini A., Jayalakshmi S., Muralidhara N.P. Role of disinfectants on alginate impression materials. *Palarch's Journal of Archaeology of Egypt/Egyptology*. 2020;17(7):397-409.
7. Indahyani D.E., Praharani D., Barid I., Handayani A.T.W. Aktivitas antioksidan dan total polisakarida ekstrak rumput laut merah, hijau dan coklat dari Pantai Jangkar Situbondo. *Stomatognati Jurnal Kedokteran Gigi*. 2019;16(2):64-9.
8. Gamero-Vega G., Palacios-Palacios M., Quitaral V. Nutritional composition and bioactive compounds of red seaweed: a mini-review. *Journal of Food and Nutrition Research*. 2020;8(4):431-40.
9. Carpena M., Caleja C., Pereira E. et al. Red seaweeds as a source of nutrients and bioactive compounds: optimization of the extraction. *Chemosensors*. 2021;9(6):1-20.
10. Benavides S., Villalobos-Carvajal R., Reyes J.E. Physical, mechanical and antibacterial properties of alginate film: effect of the cross linking degree and oregano essential oil concentration. *Journal of Food Engineering*. 2012;110(2):232-9.
11. Karbassi E., Asadinezhad A., Lehocky M. et al. Antibacterial performance of alginate acid coating on polyethylene film. *International Journal of Molecular Science*. 2014;15(8):14684-96.
12. Husni A., Subaryono, Pranoto Y. et al. Pengembangan metode ekstraksi alginat dari rumput laut Sargassum sp. Sebagai bahan pengental. *Agritech*. 2012;32(1):1-8.
13. Jahangirian H., Haron M. J., Shah M. H. et al. Metode difusi sumur untuk evaluasi aktivitas antibakteri tembaga fenil lemak hidroksamata yang disintesis dari minyak kanola dan inti sawit. *Jurnal Intisari Nanomaterial & Biostruktur*. 2013;8(3): 263-70.
14. Soares JP, Santos JE, Chierice GO, Cavaleiro ETG. Thermal behavior of alginate acid and its sodium salt. *Ecl. Sao Paulo*. 2004;29(2):57- 63.
15. Nurhayati LS, Yahdiyani N, Hidayatulloh A. Perbandingan pengujian aktivitas antibakteri starter yogurt dengan metode difusi sumuran dan metode difusi cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*. 2020;1(2):41-6.

16. Rastina R., Sudarwanto M., Wientarsih I. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kari (*Murraya koenigii*) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas sp.* *Jurnal Kedokteran Hewan-Indonesian Journal of Veterinary Sciences*. 2015;9(2):185-8.
17. Khan S, Tøndervik A, Sletta H. et al. Overcoming drug resistance with alginate oligosaccharides able to potentiate the action of selected antibiotics. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2012;56(10):5134-41.
18. Kumar L., Brice J., Toberer L. et al. Antimicrobial biopolymer formation from sodium alginate and algae extract using aminoglycosides. *PLoS ONE*. 2019;14(3):1-17.
19. Król Z, Marycz K, Kulig D. Cytotoxicity, bactericidal, and antioxidant activity of sodium alginate hydrosols treated with direct electric current. *International Journal of Molecular Science*. 2017;18(3):1-19.
20. Szekalska M, Puciłowska A, Szymańska E. et al. Alginate: current use and future perspectives in pharmaceutical and biomedical applications. *International Journal of Polymer Science*. 2016:1-19.
21. Aprilisna M, Ramadhany CA, Sunendar B, Widodo HB. Karakteristik dan Aktivitas Antibakteri Scaffold Membran Cangkang Telur yang Diaktivasi Karbonat Apatit. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*. 2015;1(1):59-67.
22. Kubyshkin A, Chegodar D, Katsev A, Petrosyan A, Krivorutchenko Y, Postnikova O. Antimicrobial effects of silver nanoparticles stabilized in solution by sodium alginate. *Biochemistry & molecular biology journal*. 2016;2(2): 1-7.
23. Sarjit A, Dykes GA. Antimicrobial activity of trisodium phosphate and sodium hypochlorite against *Salmonella* biofilms on abiotic surfaces with and without soiling with chicken juice. *Food Control*. 2017;1(73):1016-22.
24. Ducheyne P. *Comprehensive Biomaterials II*. 2nd ed. Philadelphia: Elsevier; 2017.p. 289-313.