

**EVALUASI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI FORMULASI OBAT KUMUR  
BERBASIS EKSTRAK SARGASSUM BINDERI TERHADAP BAKTERI  
STREPTOCOCCUS MUTANS DAN STAPHYLOCOCCUS AUREUS**



**ANDI MUH AYODHYA CHANDRA DIRAWAN  
J011211008**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2024**

**EVALUASI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI FORMULASI OBAT KUMUR  
BERBASIS EKSTRAK SARGASSUM BINDERI TERHADAP BAKTERI  
STREPTOCOCCUS MUTANS DAN STAPHYLOCOCCUS AUREUS**

**ANDI MUH AYODHYA CHANDRA DIRAWAN  
J011211008**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2024**



Optimized using  
trial version  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)

**EVALUASI AKTIVITAS ANTIBAKTERI SEDIAAN OBAT KUMUR BERBASIS  
EKSTRAK ALGA COKLAT (SARGASSUM BINDERI) TERHADAP BAKTERI  
STREPTOCOCCUS MUTANS DAN STAPHYLOCOCCUS AUREUS**

**ANDI MUH AYODHYA CHANDRA DIRAWAN  
J011211008**

**SKRIPSI**

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana

Program Studi Pendidikan Dokter Gigi

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2024**



## SKRIPSI

**EVALUASI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI FORMULASI OBAT KUMUR  
BERBASIS EKSTRAK SARGASSUM BINDERI TERHADAP BAKTERI  
STREPTOCOCCUS MUTANS DAN STAPHYLOCOCCUS AUREUS****ANDI MUH AYODHYA CHANDRA DIRAWAN****J011211008**

Skripsi

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana Pendidikan Dokter  
Gigi pada 27 Desember 2023 dan dinyatakan telah memenuhi syarat

kelulusan

pada

Program Studi Pendidikan Dokter Gigi  
Fakultas Kedokteran Gigi  
Universitas Hasanuddin  
Makassar

Mengesahkan:

Pembimbing tugas akhir,



Prof. Muhammad Ruslin, drg., M. Kes.,  
Subsp. Ortognat-D(K),  
J01121001



Mengetahui

Ketua Program Studi,



drg. Muhammad Ikbal, Ph.D  
Sp. Pros. Subsp. PKIKG(K)  
NIP.198001022009121002

## PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul "Evaluasi Aktivitas Antibakteri Dari Formulasi Obat Kumur Berbasis Ekstrak Sargassum Bineri Terhadap Bakteri Streptococcus Mutans Dan Staphylococcus Aureus" adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing Prof. Muhammad Ruslin, drg., M. Kes., Ph.D., Sp.BM.M Subsp.Ortogmat-D(K). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka skripsi ini. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa skripsi ini kepada Universitas Hasanuddin.



Hasan, 27 Desember 2023

Andi Muhammad Ayodhya Chandra Dirawan  
NIM J011211008



## UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji bagi Allah Shubahanahu Wa Ta'ala yang maha pengasih lagi maha penyayang, atas izin dan ridha-Nya telah memberikan kemudahan untuk berpikir dalam setiap proses penelitian. Terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Allah atas nikmat dalam bentuk keluarga yang selalu memberikan doa dan motivasi kepada penulis sehingga skripsi yang berjudul "Evaluasi Aktivitas Antibakteri dari Formulasi Obat Kumur Berbasis Ekstrak Sargassum Bineri Terhadap Bakteri Streptococcus Mutans dan Staphylococcus Aureus" sebagai salah satu syarat dapat terselesaikan. Shalawat serta salam tak lupa pula penulis haturkan kepada Nabiullah Muhammad SAW yang merupakan sebaik-baiknya suri teladan.

Selama proses penyusunan skripsi ini tidak luput dari bimbingan, dukungan, dan bantuan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan banyak terima kasih kepada pihak yang telah membantu menyelesaikan skripsi ini, yaitu kepada

1. Mama dan Ayah yang selalu mendoakan dan mensupport saya dalam menyelesaikan skripsi ini. Terima kasih kepada kalian berdua yang selalu menjadi motivasi saya untuk terus menyelesaikan skripsi. Skripsi ini saya persembahkan untuk kalian.
2. Dosen pembimbing saya, yaitu Prof. Muhammad Ruslin, drg., M. Kes., ph.D., Sp.BM.M Subsp.Ortognat-D(K) yang telah meluangkan banyak waktunya untuk membimbing dan berdiskusi, serta selalu memberikan motivasi kepada saya untuk menyelesaikan skripsi ini.
3. Dosen penguji saya, yaitu Muh. Irfan Rasul, drg., Sp.B.M.M., Subsp.C.O.M (K) dan Andi Sitti Hajrah, drg., M.S. yang telah meluangkan waktunya untuk menguji dan memberikan ilmu dan kritikan yang sangat berharga .
4. Tim Matching Fund Kedaireka 2023, dokter-dokter hebat yaitu A. Tajrin, drg., M.Kes., Sp.BMM., Subsp.C.O.M(K), Yossy Yoanita Ariestiana, drg., M.KG., Sp.B.M.M., Subsp.Ortognat-D (K), Prof Dr. Nurlindah Hamrun, drg., M.Kes., drg., Nur Maghfirah, drg., M.KG., Helmiyadi drg., M.KG, M Firdaus., drg yang telah berkenan meluangkan waktu dan memberikan kesempatan untuk bergabung dalam tim dan motivasi baik dalam bentuk ilmu dan moral sehingga memberikan saya pandangan sisi lain yang sangat bermanfaat dalam bidang kedokteran gigi.
5. Dosen Penasihat Akademik saya, Dr. Ayub Irmadani Anwar, drg., M.Med.Ed., FISDPH. FISPD yang telah meluangkan waktunya dan terus memberikan saran terhadap nilai dan proses perkuliahan selama mengemban studi di program pre-klinik.
6. Teman Seperjuangan Penelitian, Imran, Devani, Sabila yang selalu menemani dan memberikan motivasi saya dalam mengerjakan skripsi dan menjadi alasan saya baik dari hari sebelumnya.



angan INKREMENTAL 2021 yang selalu memberikan motivasi  
ak terus menyelesaikan skripsi ini.

pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu atas bantuan  
n skripsi.

## ABSTRAK

ANDI MUH AYODHYA CHANDRA DIRAWAN. **EVALUASI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI FORMULASI OBAT KUMUR BERBASIS EKSTRAK SARGASSUM BINDERI TERHADAP BAKTERI STREPTOCOCCUS MUTANS DAN STAPHYLOCOCCUS AUREUS** (dibimbing oleh Prof. Muhammad Ruslin, drg., M.Kes., Ph.D., Sp.BM.M Subsp.Ortognat-D(K))

**Latar Belakang:** Masalah kesehatan gigi dan mulut, khususnya yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus*, masih menjadi perhatian di Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi dan membandingkan aktivitas antibakteri dari tiga formulasi obat kumur berbasis ekstrak florotanin dan fucoidan yang diekstraksi dari alga coklat *Sargassum binderi*. **Metode:** Sampel alga diambil dari perairan Punaga dan Puntondo, Sulawesi Selatan, kemudian dikeringkan dan diekstraksi menggunakan metode maserasi. Ekstrak yang dihasilkan dikarakterisasi melalui uji FTIR untuk mengidentifikasi senyawa aktif. Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi cakram terhadap *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus*. **Hasil:** menunjukkan bahwa semua formulasi memiliki aktivitas antibakteri yang signifikan terhadap kedua bakteri. Formulasi F1 (0,1 g fucoidan: 0,1 g florotanin) memberikan zona hambat terbesar terhadap *Staphylococcus aureus* dengan rerata  $17,8 \pm 4,85$  mm, dan juga menunjukkan hasil terbaik terhadap *Streptococcus mutans*. Berdasarkan analisis statistik, perbedaan signifikan ( $p < 0,05$ ) ditemukan antara semua formulasi dan kontrol negatif. Semakin tinggi konsentrasi fucoidan dan florotanin, semakin besar zona hambat yang terbentuk. **Kesimpulan:** kombinasi fucoidan dan florotanin dari *Sargassum binderi* memiliki potensi besar sebagai bahan alami alternatif dalam pengembangan obat kumur yang efektif, ramah lingkungan, dan aman.

**Kata kunci:** *sargassum binderi*, fucoidan, florotanin, obat kumur, antibakteri.



## ABSTRACT

ANDI MUH AYODHYA CHANDRA DIRAWAN. **Evaluation of the Antibacterial Activity of a Mouthwash Formulation Based on *Sargassum binderi* Extract Against *Streptococcus mutans* and *Staphylococcus aureus*** (supervised by Prof. Muhammad Ruslin, drg., M.Kes., Ph.D., Sp.BM.M Subsp.Ortognat-D(K))

**Background:** Oral health problems, particularly those caused by bacterial infections of *Streptococcus mutans* and *Staphylococcus aureus*, remain a concern in Indonesia. This study aims to evaluate and compare the antibacterial activity of three mouthwash formulations based on phlorotannin and fucoidan extracts derived from the brown algae *Sargassum binderi*. **Methods:** The algae samples were collected from the coastal waters of Punaga and Puntondo, South Sulawesi, dried, and extracted using the maceration method. The resulting extracts were characterized by FTIR analysis to identify active compounds. Antibacterial activity was assessed using the disc diffusion method against *Streptococcus mutans* and *Staphylococcus aureus*. **Results:** The findings revealed that all formulations exhibited significant antibacterial activity against both bacteria. Formulation F1 (0.1 g fucoidan: 0.1 g phlorotannin) produced the largest inhibition zone against *Staphylococcus aureus*, with an average of  $17.8 \pm 4.85$  mm, and also demonstrated the best results against *Streptococcus mutans*. Statistical analysis indicated a significant difference ( $p < 0.05$ ) between all formulations and the negative control. The higher the concentration of fucoidan and phlorotannin, the larger the inhibition zone observed. **Conclusion:** The combination of fucoidan and phlorotannin from *Sargassum binderi* shows great potential as a natural, eco-friendly, and safe alternative in the development of effective mouthwash formulations.

**Keywords:** *sargassum binderi*, fucoidan, phlorotannin, mouthwash, antibacterial.






## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PERNYATAAN PENGAJUAN .....	ii
HALAMAN PENGESAHAN .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
UCAPAN TERIMA KASIH .....	v
ABSTRAK.....	vi
ABSTRACT .....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.3.1 Tujuan Umum.....	2
1.3.2 Tujuan Khusus .....	2
1.4 Manfaat Penelitian.....	2
1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti .....	2
1.4.2 Manfaat bagi Institusi .....	3
1.5 Hipotesis.....	3
2.1 Jenis dan Rancangan Penelitian.....	4
2.2 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.1 Waktu Penelitian .....	4
2.2.2 Tempat Penelitian .....	4
2.2.3 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.4 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.5 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.6 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.7 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.8 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.9 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.10 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.11 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.12 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.13 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.14 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.15 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.16 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.17 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.18 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.19 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.20 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.21 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.22 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.23 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.24 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.25 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.26 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.27 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.28 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.29 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.30 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.31 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.32 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.33 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.34 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.35 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.36 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.37 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.38 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.39 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.40 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.41 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.42 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.43 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.44 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.45 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.46 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.47 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.48 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.49 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.50 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.51 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.52 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.53 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.54 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.55 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.56 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.57 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.58 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.59 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.60 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.61 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.62 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.63 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.64 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.65 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.66 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.67 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.68 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.69 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.70 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.71 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.72 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.73 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.74 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.75 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.76 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.77 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.78 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.79 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.80 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.81 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.82 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.83 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.84 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.85 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.86 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.87 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.88 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.89 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.90 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.91 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.92 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.93 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.94 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.95 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.96 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.97 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.98 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.99 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2.2.100 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4



2.3.4	Variabel tidak terkontrol .....	4
2.4	Definisi Operasional Penelitian .....	5
2.5	Teknik dan Besar Sampel dalam Penelitian .....	6
2.6	Alat dan Bahan .....	6
2.6.1	Alat .....	6
2.6.2	Bahan .....	7
2.7	Prosedur Penelitian .....	8
2.7.1	Pengambilan Sampel dan Determinasi Alga Cokelat .....	8
2.7.2	Pengolahan Ekstrak Fucoidan .....	8
2.7.3	Pembuatan Ekstrak Florotanin .....	9
2.7.4	Pengujian kemurnian sampel FTIR (Fourier-Transform Infrared Spectroscopy) .....	10
2.7.5	Rancangan formulasi dan pembuatan obat kumur .....	10
2.7.6	Prosedur Uji Aktivitas Antibakteri .....	11
2.8	Pengolahan dan Analisis Data .....	14
2.9	Alur Penelitian .....	15
BAB III HASIL PENELITIAN .....		16
3.1	Hasil Penelitian .....	16
3.1.1	Hasil Determinasi Tanaman Alga Coklat .....	16
3.1.2	Hasil Ekstraksi Tanaman Alga Coklat .....	17
3.1.3	Hasil Pengujian Kemurnian Sampel Uji FTIR (Fourier-Transform Infrared Spectroscopy) .....	17
3.1.4	Hasil Pembuatan Obat Kumur Alga Coklat (Sargassum Bideri) .....	19
3.1.5	Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan Obat Kumur Alga Coklat (Sargassum Bideri) .....	20
BAB IV PEMBAHASAN .....		31
BAB V PENUTUP .....		33
5.1	Kesimpulan .....	33
	 .....	33
	.....	34
	.....	40

## DAFTAR TABEL

No Urut	Halaman
Tabel 1. Formulasi Obat Kumur.....	10
Tabel 2. Rata-rata dan standar deviasi hasil pengukuran zona hambat bakteri staphylococcus aureus.....	21
Tabel 3. Uji Normalitas (Saphiro Wilk).....	22
Tabel 4. Uji Homogenitas (Levenes's Test).....	23
Tabel 5. Uji Non-Parametrik (Kurskal Willis).....	23
Tabel 6. Uji LSD.....	23
Tabel 7. Rata-rata dan standar deviasi hasil pengukuran zona hambat bakteri Streptococcus Mutans.....	26
Tabel 8. Uji Normalitas (Saphiro Wilk).....	27
Tabel 9. Uji Homogenitas (Levene's Test).....	28
Tabel 10. Uji Parametrik (One Way Anova).....	28
Tabel 11. Uji Post Hoc (Tukey).....	29



## DAFTAR GAMBAR

No Urut	Halaman
Gambar 1. Ilustrasi Pengukuran Zona Hambat .....	13
Gambar 2. Hasil Determinasi Alga Coklat.....	16
Gambar 3. Hasil Spektrum Uji FTIR dari bahan bioaktif fucoidan dan Florotanin (Sargassum BINDERI)(a1&b1) Ekstrak Fucoidan (Sargassum BINDERI) dan fucoidan standar; (a2) dan florotanin standar (b2).....	18
Gambar 4. Formulasi Obat Kumur Berbahan Dasar Ekstrak Alga Cokelat (F1–F3) ..	19
Gambar 5. Hasil Penelitian Uji Antibakteri <i>Staphylococcus Aureus</i> .....	20
Gambar 6. Grafik dan hasil pengukuran zona hambat terhadap bakteri <i>staphylococcus aureus</i> .....	21
Gambar 7. Hasil Penelitian Uji Antibakteri <i>Streptococcus Mutans</i> .....	25
Gambar 8. Grafik dan Hasil pengukuran zona hambat terhadap bakteri <i>Streptococcus Mutans</i> .....	26



## DAFTAR LAMPIRAN

No Urut	Halaman
Lampiran 1 Surat Izin Permohonanan Laboratorium .....	40
Lampiran 2 Hasil Identifikasi Morfologi Alga Cokelat.....	43
Lampiran 3 Surat Persetujuan Atasan .....	44
Lampiran 4 Lampiran Surat Izin Penelitian .....	45
Lampiran 5 Peta Lokasi Pengambilan Sampel .....	48
Lampiran 6 Dokumentasi Penelitian .....	49
Lampiran 7 Daftar Riwayat Hidup .....	52
Lampiran 8 Rincian Biaya Penelitian .....	53



## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Masalah kesehatan gigi dan mulut di Indonesia masih menjadi perhatian serius dengan penanganan yang belum optimal. Berdasarkan Survei Kesehatan Nasional oleh Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (2023), sekitar 56,9% populasi mengalami gangguan rongga mulut, dengan karies gigi, kerusakan gigi, dan nyeri gigi menyumbang 43,9% dari seluruh kasus (SKI, 2023). Infeksi bakteri, terutama oleh *Streptococcus mutans* dan Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), merupakan faktor utama penyebab masalah ini (Hirose et al., 2023; Matsumono et al., 2014). *S. mutans* ditemukan dalam 70-80% rongga mulut dan berperan besar dalam perkembangan karies gigi, sedangkan MRSA ditemukan sebesar 36,6-40% dan berkontribusi pada inflamasi gusi (Peng et al., 2022).

Bakteri ini berkembang biak dalam lingkungan rongga mulut yang lembap dan teroksigenasi, yang mendukung pembentukan biofilm. Biofilm adalah komunitas mikroba kompleks yang terbungkus matriks ekstraseluler yang melindungi bakteri dari faktor eksternal seperti tekanan mekanis dan agen antimikroba, sehingga sulit diatasi dan sering berkembang menjadi plak yang memperburuk karies dan inflamasi gusi (Tohid et al., 2023).

*Streptococcus mutans*, bakteri Gram positif, memiliki peran krusial dalam pembentukan biofilm dan produksi asam, yang menyebabkan demineralisasi enamel gigi (Xia et al., 2021). Patogenisitasnya disebabkan oleh kemampuan menempel pada permukaan gigi, memproduksi polisakarida ekstraseluler, dan mengubah gula menjadi asam laktat, yang menurunkan pH rongga mulut (Hudiyati, 2024; Poveda-Castillo et al., 2018). Sebaliknya, *Staphylococcus aureus* menggunakan faktor virulensi seperti asam lipoteichoic untuk merangsang respons inflamasi melalui pelepasan sitokin pro-inflamasi (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6), yang merusak jaringan periodontal (Wang et al., 2017; Mihaescu et al., 2021).

Pengendalian plak melalui penggunaan obat kumur adalah langkah pencegahan yang umum disarankan. Namun, sekitar 70% obat kumur komersial mengandung 5-26% alkohol, yang dalam konsentrasi tinggi dapat menyebabkan iritasi, sensasi terbakar, mulut kering, dan meningkatkan risiko kanker mulut (McCallough et al., 2008; Yadaf et al., 2020). Selain itu, lebih dari 90% bahan baku farmasi di Indonesia masih diimpor, yang mengakibatkan harga produk kesehatan gigi menjadi tinggi (Rokom et al., 2022). Hal ini menunjukkan pentingnya pengembangan alternatif bahan lokal yang lebih aman dan terjangkau.

Alga coklat, khususnya *Sargassum binderi*, merupakan sumber daya lokal yang sering dianggap sebagai gulma, padahal memiliki potensi terapeutik yang mengandung senyawa bioaktif yang berfungsi sebagai agen anti-inflamasi, dan antivirus (Wariz, Asfa, & Fauzi, 2016). Dua senyawa yang menarik perhatian adalah fucoidan dan phlorotantin, yang digunakan untuk mengatasi patogen oral.

Senyawa fucoidan, polisakarida sulfat berbasis fukosa, telah terbukti memiliki aktivitas antibakteri yang signifikan. Senyawa ini menghambat pembentukan biofilm



dan meredakan inflamasi yang dipicu oleh patogen oral (Fitton et al., 2019). Phlorotanin, senyawa fenolik unik yang ditemukan pada alga coklat, menunjukkan aktivitas antimikroba dan antiinflamasi dengan mengganggu fosforilasi oksidatif serta mengubah permeabilitas sel mikroba (Shannon & Abu-Ghannam, 2016). Kombinasi fucoidan dan phlorotanin menawarkan alternatif yang menjanjikan untuk obat kumur berbahan kimia, dengan kemampuan menghambat biofilm dan mengurangi resistensi bakteri.

Dengan tingginya prevalensi penyakit gigi akibat infeksi bakteri dan meningkatnya minat terhadap bahan alami yang berkelanjutan, penelitian ini bertujuan mengevaluasi efektivitas antibakteri formulasi obat kumur berbasis *Sargassum binderi* terhadap patogen oral utama. Penelitian ini merupakan yang pertama mengkaji efek sinergis fucoidan dan phlorotanin dalam sediaan obat kumur. Selain bertujuan sebagai agen antimikroba, penelitian ini juga diharapkan dapat mengurangi resistensi biofilm pada perawatan gigi, sekaligus mendukung pengurangan ketergantungan pada produk impor di Indonesia.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah yang telah di uraikan tersebut diatas, maka rumusan masalah penelitian ini yaitu:

- a) Bagaimana perbandingan aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dari sediaan obat kumur berbasis ekstrak fucoidan dan phlorotannin alga coklat (*Sargassum binderi*) sebagai bahan antiseptik?
- b) Bagaimana perbandingan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dari sediaan obat kumur berbasis ekstrak fucoidan dan phlorotannin alga coklat (*Sargassum binderi*) sebagai bahan antiseptik?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi dan membandingkan aktivitas antibakteri sediaan obat kumur berbasis ekstrak alga coklat (*Sargassum binderi*) terhadap *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus* sebagai agen antiseptik.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

Tujuan khusus dari penelitian ini adalah untuk menilai efek penghambatan berbagai konsentrasi formulasi fucoidan dan phlorotanin yang berasal dari alga coklat (*Sargassum binderi*) dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus*.

## 1.4 Manfaat Penelitian

### 1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti



menambah pengetahuan dan keterampilan dalam penelitian eksperimental.

menambah pengetahuan bahwa terdapat aktivitas antibakteri dari ekstrak alga coklat (*Sargassum Binderi*.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *streptococcus mutans*, *staphylococcus aureus*.

- c. Sebagai persyaratan tugas dalam memperoleh gelar S.K.G (sarjana kedokteran gigi) di Fakultas Kedokteran Gigi Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Universitas Hasanuddin.

#### 1.4.2 Manfaat bagi Institusi

- a. Menghasilkan hak paten (HKI) obat kumur dalam bidang kedokteran gigi yang berbahan dasar lokal yakni alga cokelat jenis *Sargassum Bideri* dari Perairan Selat Makassar.
- b. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan data atau informasi tambahan terhadap kemajuan penelitian secara *in-vitro* terhadap alga cokelat di Indonesia.
- c. Menghasilkan obat kumur dalam bidang kedokteran gigi yang berbahan dasar lokal yakni alga cokelat jenis *Sargassum Bideri* dari perairan Selat Makassar
- d. Untuk memberdayakan masyarakat petani rumput laut dengan pembudidayaan alga cokelat *Sargassum* sp.

#### 1.4.3 Manfaat Bagi Masyarakat

- a. Memberikan informasi bagi masyarakat bahwa alga cokelat mempunyai nilai ekonomis dikarenakan efek terhadap bakteri berdasarkan penelitian secara *in-vitro* di laboratorium.
- b. Penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai salah satu acuan untuk mengubah paradigma masyarakat yang menganggap alga coklat sebagai gulma agar di manfaatkan menjadu sumber komoditi dengan nilai ekonomis yang tinggi.

### 1.5 Hipotesis

**1.5.1 H0:** Formulasi obat kumur berbasis bahan alga coklat sargassum binderi) ekstrak fukoidan dan florotanin tidak memiliki daya hambat terhadap terhadap *Staphylococcus Aureus* dan *Streptococcus Mutans*

**1.5.2 H1:** Formulasi obat kumur berbasis bahan alga coklat sargassum binderi) ekstrak fukoidan dan florotanin tidak memiliki daya hambat terhadap terhadap *Staphylococcus Aureus* dan *Streptococcus Mutans*





## BAB II

### METODE PENELITIAN

#### 2.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dan didukung oleh studi pustaka. Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan dengan *the post test only control group design*, yaitu kelompok yang diberi perlakuan dan kelompok control kemudian dilakukan observasi.

#### 2.2 Waktu dan Tempat Penelitian

##### 2.2.1 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan November – Desember 2023.

##### 2.2.2 Tempat Penelitian

Pengambilan sampel alga coklat *Sargassum binderi* dilakukan di pesisir Pantai Desa Punaga, Kecamatan Mangarabombang, Kabupaten Takalar, Provinsi Sulawesi Selatan, pada koordinat 5°34'29.0"S 119°25'29.4"E. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biofarmaka dan Biofarmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, Laboratorium Ilmu Teknologi Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin, serta Laboratorium Ilmu Lingkungan dan Perikanan Departemen Biologi, Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan (FIKP)

#### 2.3 Variabel Penelitian

##### 2.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak alga coklat sediaan obat kumur dengan konsentrasi formulasi 1 (ekstrak fucoidan 0.1 g dan florotanin 0.1 g), formulasi 2 (ekstrak fucoidan 0.15 g dan florotanin 0.05 g), formulasi 3 (ekstrak fucoidan 0.05 g dan florotanin 0.15 g), kontrol negatif (aquadest), kontrol positif (betadine gargle® *povidone iodine* 1.0%)

##### 2.3.2 Variabel Terikat

Kemampuan ekstrak alga coklat dalam menghambat pertumbuhan bakteri diukur melalui diameter zona hambat (mm) pada media kultur bakteri *streptococcus mutans* dan *staphylococcus aureus*.

##### 2.3.3 Variabel Terkendali

Variabel ini terdiri dari suhu inkubasi 37°C, waktu inkubasi selama 24 jam, media bakteri menggunakan Mueller Hilton Agar (MHA), konsentrasi bakteri disesuaikan dengan standar McFarland 0.5 (sekitar  $1.5 \times 10^8$  CFU/ml), sterilisasi alat (semua alat yang digunakan untuk inokulasi dan pengujian isi sebelum digunakan)

##### tidak terkendali

ini terdiri dari usia tanaman, kondisi lingkungan selama panen sampel, dan variasi alami komposisi kimia dari alga coklat tanaman.



## 2.4 Definisi Operasional Penelitian

- 2.4.1 Alga cokelat *Sargassum binderi*  
Alga cokelat yang dimaksud dalam penelitian ini adalah alga yang tumbuh di pesisir Pantai Desa Punaga, Kecamatan Mangarabombang, Kabupaten Takalar, Provinsi Sulawesi Selatan. Alga ini digunakan sebagai bahan utama dalam pembuatan ekstrak fukoidan dan florotanin.
- 2.4.2 Ekstrak Florotanin (*Sargassum binderi*)  
Ekstrak florotanin adalah senyawa aktif yang diperoleh dari alga cokelat *Sargassum binderi* melalui proses maserasi dengan pelarut etanol 70% selama enam hari. Ekstrak ini digunakan sebagai bahan aktif dalam uji daya antibakteri.
- 2.4.3 Ekstrak Fucoidan (*Sargassum binderi*)  
Ekstrak fukoidan adalah senyawa aktif yang diperoleh dari alga cokelat *Sargassum binderi* melalui proses ekstraksi menggunakan pelarut HCl 0,1N dengan pH 4 pada suhu ruang selama enam jam. Senyawa ini diuji kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri.
- 2.4.4 Bakteri uji  
Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini terdiri atas:
- Streptococcus mutans*, bakteri gram positif yang bersifat anaerob fakultatif, didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.
  - Staphylococcus aureus*, bakteri gram positif yang bersifat anaerob fakultatif, didapatkan dari sumber yang sama. Bakteri-bakteri ini digunakan untuk menilai aktivitas antibakteri ekstrak
- 2.4.5 Daya Hambat fucoidan dan florotanin  
Daya hambat fukoidan dan florotanin diukur berdasarkan kemampuan kedua senyawa tersebut dalam menghambat pertumbuhan bakteri, yang dilihat dari diameter zona bening (mm) di sekitar cakram kertas pada media agar yang diinokulasi dengan bakteri uji.
- 2.4.6 Kontrol Positif  
Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah obat kumur (betadine gargle®) mengandung povidone iodine 1,0%, yang berfungsi sebagai pembanding dalam uji daya hambat antibakteri.
- 2.4.7 Anti bakteri  
Antibakteri adalah zat yang mampu membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri patogen target.



## 2.5 Teknik dan Besar Sampel dalam Penelitian

Penelitian ini menggunakan teknik *purposive sampling* untuk pengambilan sampel dan simple random sampling untuk pengelompokan bakteri uji. Ukuran sampel penelitian ditentukan dengan menggunakan rumus federer. Rumus federer digunakan untuk menghitung jumlah pengulangan atau jumlah sampel yang diperlukan agar data yang diperoleh vali penentuan sampel ini di rujuk dari (Soesanto et al., 2023)

Rumus Federer adalah sebagai berikut:

Keterangan:

n = besar sampel tiap kelompok

t = banyaknya kelompok, jumlah intervensi atau pengamatan.

Banyak kelompok (P= 3 + 1= 4) kelompok perlakuan, Maka besar sampel tiap kelompok:

$$\text{Rumus Federer: } (n-1) (t-1) \geq 15$$

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

$$(n-1) (5-1) \geq 15$$

$$(n-1) (4) \geq 15$$

$$4n-4 \geq 15$$

$$4n \geq 15+4$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75 \text{ (dibulatkan menjadi lima)}$$

Pembagian kelompok pengulangan perlakuan

1. Kelompok F1 (ekstrak fucoidan 0,1 g : florotanin 0,1g) = 5 sampel
2. Kelompok F2 (ekstrak fucoidan 0.15 g : florotanin 0.05 g) = 5 sampel
3. Kelompok F3 (ekstrak fucoidan 0.05 g : florotanin 0.15 g) = 5 sampel
4. Kelompok K+ (betadine gargle® (Povidone Iodine 1.0%)) = 5 sampel
5. Kelompok K- (aquadest) = 5 sampel

## 2.6 Alat dan Bahan

### 2.6.1 Alat

- Blender simplisia (Polytron)
- Bunsen



petri

| (Short-Stem Funnel 100 mm, Herma, China)

| pisah 500 ml

kimia (Iwaki CTE33 1000 ml, AGC, Thailand)

ukur kimia (Iwaki OTE33 1000 ml, Asahi Glass, Indonesia)

sorong digital

cakram (Paper disc)

- Laminary Air Flow
- Labu Erlenmeyer (Iwaki TE-32 1000 ml, Pyrex Asahi Techno Glass, Jepang)
- Magnetic stirrer (C-MAG MS 7, IKA Works GmbH & Co. KG, Jerman)
- Mesin freeze-dryer, (FT33 MKII, Armfield, Inggris)
- Ose Steril
- Oven dryer (Mettler Universal Oven UN110, Mettler GmbH + Co. KG, Jerman)
- Rotary evaporator (Rotavapor R-220, Buchi, Swiss; RV 10 digital, IKA Works GmbH & Co. KG, Jerman)
- Sentrifuge (Model MX-305, Tomy, Jepang)
- Spektrofotometer Infra-Red, (FTIR 8400S Spectrometer, Shimadzu, Jepang)
- Spidol permanen
- Stopwatch
- Timbangan analitik digital (FSR-B 1000 gram, Fujitsu, Jepang; PioneerTM Plus Analytical PA124, Ohaus, Amerika Serikat)
- Timbangan digital (SF-400, Morizt, China)
- Tiang statik
- Toples kaca sampel

### 2.6.2 Bahan

- Akuades
- Asam benzoate
- Betadine gargle® (Kimia Farma, Tbk)
- Etanol 70 %
- Etil asetat
- Ekstrak florotanin (Shaanxi Rainwood Biotech, China)
- Ekstrak Fucoidan (Shaanxi Rainwood Biotech, China)
- Handscoon
- Masker
- Kalsium laktat
- Kalsium tiosianat
- Kertas saring (Whatman Grade 125 mm Qualitative Filter Papers 11µm, GE Healthcare, Amerika Serikat)
- MHA (Mueller Hilton Agar)
- Natrium benzoat
- Oleum menthee
- 1,2-epoksi-3-hydrogenated castor oil
- 1,2-epoksi-3-hydrogenated castor oil
- n glikol
- l 70%
- rd McFarland (BaCl<sub>2</sub> 1% dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1%)
- lococcus Aureus
- coccus Mutans



## 2.7 Prosedur Penelitian

### 2.7.1 Pengambilan Sampel dan Determinasi Alga Cokelat

- 1) Pengambilan sampel, bahan ekstrak dibuat dari alga cokelat *Sargassum binderi* Alga cokelat yang digunakan adalah alga coklat yang diambil di Pantai Punaga, Kabupaten Takalar, Sulawesi Selatan. Sebelum diambil dari perairan pantai, sampel yang telah dipetik dari substrat kemudian dicuci bilas dengan air laut untuk menghilangkan kotoran dan sedimen. Sampel lalu diambil dan ditempatkan didalam box styrofoam.
- 2) Identifikasi sampel, identifikasi tumbuhan bertujuan untuk mengetahui jenis alga cokelat yang digunakan dalam penelitian adalah *Sargassum binderi* dan dilakukan di Laboratorium Biota Laut Jurusan Perikanan Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin.
- 3) Pembuatan simplisia dan ekstraksi, simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun kecuali dinyatakan lain berupa bahan yang dikeringkan. *Sargassum binderi* yang diperoleh kemudian dibilas kembali dengan air tawar sebanyak 2 kali pembilasan hingga sedimen dan kotoran yang menempel menjadi bersih. Selanjutnya sampel dibilas kembali dengan akuades untuk membersihkan sisa-sisa air tawar yang mungkin masih ada. Selanjutnya sampel *Sargassum binderi* dikering-anginkan di tempat teduh atau tidak terkena matahari secara langsung selama  $\pm 3$  hari, lalu kemudian dilanjutkan dengan oven Herbs Dryer pada suhu sekitar  $45^{\circ}\text{C}$  selama  $\pm 12$  jam.

### 2.7.2 Pengolahan Ekstrak Fucoidan

Ekstraksi fucoidan dari alga coklat dilakukan dengan menggunakan empat metode, mengacu pada prosedur yang dijelaskan oleh (Jayawardena et al. 2022), (Utami et al., 2023), dan (Hahn et al., 2012). Metode-metode tersebut adalah sebagai berikut:

- 1) Ekstraksi menggunakan HCl 0,1 N dengan pH 4 pada suhu ruang selama 6 jam, dengan beberapa modifikasi:
  - a) Rumput laut segar dibersihkan dengan air bersih untuk menghilangkan kotoran, kemudian direndam dalam etanol selama 24 jam.
  - b) Rumput laut kemudian disaring dan dikeringkan pada suhu ruang. Rumput laut yang telah kering digiling menjadi serbuk dengan ukuran partikel  $> 60$  mesh. Serbuk rumput laut direndam dalam pelarut dengan perbandingan b/v, lalu diaduk selama 6 jam pada suhu ruang.
  - c) Endapan yang dihasilkan dilarutkan dalam air dan disentrifugasi pada  $3000$  rpm selama 15 menit. Filtrat yang diperoleh didialisis dengan air dengan menggunakan aquades pada suhu  $85^{\circ}\text{C}$ . Serbuk rumput laut direndam dalam akuades (1:20) (b/v) lalu ekstraksi sambil diaduk selama 4 jam pada suhu  $85^{\circ}\text{C}$ . Campuran saring menggunakan planktonet 500 mesh, filtrat ditampung.



- b) Ke dalam filtrat ditambahkan larutan  $\text{CaCl}_2$  2% (1:20) ambal diaduk selama 30 menit pada suhu ruang lalu disentrifugasi 8.000 rpm selama 15 menit pada suhu  $5^\circ\text{C}$ .
  - c) Filtrat Ditampung dan endapan dibuang, kedalam filtrat ditambahkan etanol (1:2). Hasil endapan yang diperoleh dilarutkan dengan air sampai larut sempurna dan disentrifugasi 8.000 rpm selama 15 menit (sampai benar-benar larut). Filtrat yang diperoleh didialisis dengan 0,5 M NaCl dan akuabides kemudian dikeringbekukan dengan *freeze dried* sehingga diperoleh ekstrak fucoidan.
- 3) Ekstraksi menggunakan  $\text{CaCl}_2$  2% pada suhu  $85^\circ\text{C}$ .
- a) Tepung rumput laut direndam dalam  $\text{CaCl}_2$  2% (1:20) (b/v) lalu diekstraksi sambil diaduk selama 4 jam pada suhu  $85^\circ\text{C}$ .
  - b) Penyaringan dilakukan dengan menggunakan planktonet 500 mesh, kemudian filtrat disentrifugasi 8.000 rpm selama 15 menit. Filtrat dipisahkan dari endapannya dan ke dalam filtrat ditambah etanol (1:2).
  - c) Hasil endapan yang diperoleh dilarutkan dalam air dan disentrifugasi 8.000 rpm selama 15 menit (sampai larut). Filtrat yang diperoleh didialisis dengan 0,5 M NaCl dan akuabides sehingga diperoleh ekstrak fucoidan, lalu dikering bekukan.

### 2.7.3 Pembuatan Ekstrak Florotanin

Ekstraksi florotanin dilakukan dengan merujuk pada metode (Li et al., 2018), dengan beberapa modifikasi sebagai berikut:

- a) Ekstraksi dilakukan untuk menarik kandungan kimia yang larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak larut, menggunakan metode maserasi. Sebanyak 500 gram simplisia *Sargassum binderi* yang telah dikeringkan dimaserasi dengan pelarut etanol 70% pada perbandingan 1:5 b/v. Campuran diinkubasi dalam pengaduk magnetik (magnetic stirrer) selama 60 menit pada suhu ruang dengan kecepatan 200 rpm, kemudian dibiarkan selama 2 hari dengan pengadukan setiap hari.
- b) Simplisia yang telah dimaserasi kemudian disaring menggunakan kertas saring, dan filtratnya ditampung dalam tabung erlenmeyer. Proses maserasi pada serbuk simplisia dilakukan sebanyak dua kali (duplikat) untuk memaksimalkan hasil ekstraksi.
- c) Campuran yang diperoleh kemudian disentrifugasi (3.000 rpm, 10 menit, suhu ruang), dan supernatan diambil.
- d) Filtrat dikumpulkan dan pelarut diuapkan menggunakan rotary vacuum evaporator pada suhu  $45^\circ\text{C}$  dengan kecepatan rotasi 28 rpm selama 150

t. Ekstrak kental alga coklat *Sargassum binderi* yang diperoleh nyak 120 gram.

ak etanol kental tersebut diekstraksi kembali dengan pelarut etil it. Sebanyak 120 gram ekstrak etanol didispersikan dalam etil it dengan rasio solid/liquid 1:5 (b/v), diinkubasi menggunakan etic stirrer (30 menit, suhu ruang, 200 rpm), dan dibiarkan pada ruang selama 24 jam.



- f) Setelah diinkubasi, larutan ekstrak terbagi menjadi dua lapisan. Lapisan bawah adalah ekstrak etanol, sedangkan lapisan atas adalah fraksi etil asetat. Fraksi etil asetat diambil menggunakan corong pisah, menghasilkan 560 mL fraksi etil asetat.
- g) Filtrat dikumpulkan dan pelarut dihilangkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C dengan kecepatan 60 rpm selama 55 menit, menghasilkan ekstrak kental florotanin sebanyak 10,254 gram.
- h) Ekstrak kental florotanin kemudian disimpan di freezer pada suhu -20°C dan dikeringkan menggunakan metode *freeze-drying* sebelum digunakan.

#### 2.7.4 Pengujian kemurnian sampel FTIR (Fourier-Transform Infrared Spectroscopy)

Fourier Transform Infrared spectroscopy (FT-IR) merupakan salah satu metode pengukuran untuk mendeteksi struktur molekul senyawa melalui identifikasi gugus fungsi penyusun senyawa. Pengujian FT-IR dilakukan pertama kali untuk mengetahui informasi terkait ikatan kimia yang ada pada florotanin dan fucoidan alga cokelat *Sargassum binderi* dan dibandingkan dengan senyawa standar. Uji analisis dengan teknik FT-IR menggunakan alat spektrofotometer *Shimadzu 8400S* buatan Jepang, dengan prosedur sebagai berikut (Nandiya et al., 2019):

- a) Buka program aplikasi FT-IR 8400 pada komputer.
- b) Sampel florotanin dan fucoidan *Sargassum binderi* sejumlah 1 mg dimasukkan ke dalam sample holder mesin FT-IR.
- c) Pada menu aplikasi kemudian dilakukan scanning pada panjang gelombang ( $\lambda$ ) 765 nm.
- d) Didapatkan hasil nilai absorbansi dengan standar yang digunakan adalah
- e) asam galat, yaitu standar yang digunakan untuk mengetahui ekspresi kandungan fenolik dengan nilai equivalen asam galat (1 g asam galat/kg ekstrak).
- f) Spektrum yang diperoleh muncul pada layar beserta nilai panjang gelombang.
- g) Hasil yang didapat dilakukan analisis data berdasarkan gugus fungsi pada bilangan gelombang tertentu.

#### 2.7.5 Rancangan formulasi dan pembuatan obat kumur

##### 2.7.5.1 Formulasi obat kumur

Formulasi obat kumur dalam penelitian ini terdiri dari sediaan kumur yang mengandung perbedaan komposisi bahan kimia yang rinci pada (tabel.1) (Pratiwi et al., 2008) :

Tabel 1. Formulasi Obat Kumur

Bahan	Formula 1	Formula 2	Formula 3
Ekstrak Florotanin	0,1 g	0,05 g	0,15 g



Bahan	Formula 1	Formula 2	Formula 3
Ekstrak Fucoidan	0,1 g	0,15 g	0,05 g
Propilen glikol	1,5 ml	1,5 ml	1,5 ml
PEG-40 Hydrogenated Castor Oil	1,5 g	1,5 g	1,5 g
Oleum menthe	1 g/tetes	1 g/tetes	1 g/tetes
Asam benzoat	0,01g	0,01 g	0,01 g
Natrium benzoat	0,01g	0,01g	0,01 g
Kalsium laktat	0,5 g	0,5 g	0,5 g
Kalium tiosianat	0,5 g	0,5 g	0,5 g
Xylitol	0,5 g	0,5 g	0,5 g
Sorbitol 70 %	0,15 g	0,15 g	0,15 g
Aquadest	100 ml	100 ml	100 ml

### 2.7.5.2 Prosedur Pembuatan sediaan obat kumur

Pembuatan obat kumur sediaan alga coklat yang mengutamakan senyawa florotanin dan fucoidan ini di dasarkan pada prosedur dan penjelasan bahan tambahan oleh (Radzki et al., 2022)

sebagai berikut:

- 1) Pembuatan fase larut air yaitu dengan dilarutkannya bahan-bahan yang larut dalam air masing-masing, seperti xylitol, kalsium laktat, dan kalium tiosianat. Kemudian larutan-larutan tersebut dilarutkan bersama-sama sampai homogen.
- 2) Bahan-bahan yang kurang larut dalam air (asam benzoat, ekstrak Sargassum binderi , butil hidroksi anisol) dilarutkan dengan oleum menthe.
- 3) Kemudian, bahan (poin 2) diemulsikan dengan PEG-40 Hydrogenated Castor Oil. Kemudian propilen glikol ditambahkan sedikit demi sedikit dan diaduk hingga homogen.
- 4) Bahan (poin 1) ditambahkan sedikit demi sedikit ke dalam bahan (poin 3) sambil diaduk hingga homogen. Kemudian sorbitol 70 % ditambahkan sedikit demi sedikit ke dalam sediaan, setelah itu diaduk hingga homogen.
- 5) Natrium benzoat dilarutkan dengan air ad. larut homogen, setelah itu ditambahkan ke bahan (poin 4) hingga mencapai pH 6-7 (pH didapar dengan natrum benzoat).



#### Uji Aktivitas Antibakteri

Ujian antibakteri dalam penelitian ini dilakukan menggunakan uji cakram, yang merujuk pada pedoman dari (Jorgensen et al., Balaouiri et al.,2016).

#### Relisasi alat

Peralatan yang digunakan dicuci bersih dan disterilkan. alat-alat berbahan gelas ditutup dengan kapas steril dan dibungkus



kertas, sedangkan cawan petri dibungkus kertas steril dan dimasukkan ke dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.

#### 2.7.6.2 Persiapan media uji MHA (Muller Hilton Agar)

Bahan yang digunakan untuk membuat media MHA yaitu bubuk media MHA, dan aquadest. Cara membuatnya yaitu timbang 3,8 gram media, tambahkan 100 ml akuades. Panaskan sampai mendidih untuk melarutkan media. Sterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Media yang telah steril di dinginkan hingga mencapai 45°C- 50°C. Simpan pada suhu 2-8°C

#### 2.7.6.3 Pembuatan media agar miring

Sebanyak 5 mL media MHA dituangkan ke dalam tabung reaksi steril, ditutup dengan aluminium foil, dan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Media kemudian didinginkan pada suhu ruang selama ±30 menit hingga memadat dengan kemiringan 30°. Media ini digunakan untuk inokulasi bakteri.

#### 2.7.6.4 Inokulasi bakteri pada media agar miring

Bakteri uji diambil menggunakan jarum ose steril dan diinokulasikan pada media agar miring dengan teknik gores. Media yang telah diinokulasi diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kultur ini digunakan sebagai standar kekeruhan suspensi bakteri uji.

#### 2.7.6.5 Persiapan Suspensi Bakteri Uji

Suspensi bakteri disiapkan sesuai standar McFarland 0,5, yang memiliki kekeruhan sebanding dengan  $1,5 \times 10^8$  CFU/mL. Untuk membuat suspensi ini, 1-2 ose bakteri diambil dan disuspensi dalam 15 mL larutan salin 0,9% atau Mueller Hinton Broth (MHB). Suspensi diinkubasi selama 24 jam hingga mencapai kekeruhan sesuai standar McFarland 0,5. Suspensi bakteri kemudian diteteskan sebanyak 50 µL dan diratakan pada media MHA, kemudian dидiamkan selama 30 menit sebelum digunakan sebagai inokulum.

#### 2.7.6.6 Perendaman *paper disc* pada mouthwash dan pengukuran daya hambat

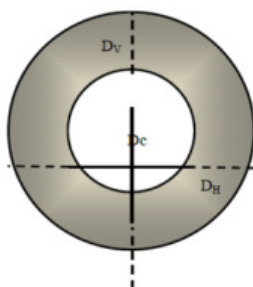
- a) Lima cawan petri disiapkan untuk proses perendaman paper disc:
- Cawan I: Formulasi 1 (ekstrak fucoidan 0,1 g : florotanin 0,1g)
  - Cawan II: Formulasi 2 (ekstrak fucoidan 0.15 g : florotanin 0.05 g)
  - Cawan III: Formulasi 3( ekstrak fucoidan 0.05g : florotanin 0.15 g)
  - Cawan IV: Kontrol positif (obat kumur betadine gargle povidone iodine 1,0%)
  - Cawan V: Kontrol negatif (aquadest)



- b) Bakteri uji sebanyak  $1,5 \times 10^8$  CFU/mL dioleskan pada permukaan media MHA menggunakan swab steril. Biarkan media mengering selama 5 menit.
- c) Kertas cakram Whatman No. 1 dengan diameter 6 mm dipotong dan masing-masing direndam dalam 10  $\mu$ L obat kumur yang mengandung fucoidan dan florotanin pada konsentrasi yang telah ditentukan. Kertas cakram dibiarkan mengering sebelum ditempatkan pada media.
- d) Cakram kontrol positif direndam dalam 10  $\mu$ L (Betadine® Povidone Iodine 1,0%) dan cakram kontrol negatif menggunakan aquadest.
- e) Setelah kering, cakram-cakram tersebut ditempatkan pada media MHA yang telah diinokulasi bakteri, dan ditekan perlahan.
- f) Cawan petri dibalik dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
- g) Setelah inkubasi, diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong digital dengan akurasi 0,05 mm. Zona hambat diukur di tujuh titik berbeda pada setiap cakram dan dirata-ratakan.
- h) Hasil diinterpretasikan berdasarkan diameter zona hambat (dalam mm), dan aktivitas antibakteri dari fucoidan dan florotanin dievaluasi berdasarkan hasil tersebut.

#### 2.7.6.7 Analisis Data Zona Hambat

Pengamatan dilakukan setelah 24 jam masa inkubasi, di mana diameter zona hambat atau zona bening di sekitar kertas cakram menunjukkan kepekaan bakteri terhadap bahan antibakteri yang diuji. Zona hambat ini diukur dalam satuan milimeter (gambar 1) menggunakan jangka sorong, dengan pengukuran dilakukan pada diameter vertikal dan horizontal.



Gambar 1. Ilustrasi Pengukuran Zona Hambat  
Sumber: Toy dkk., 2015, Journal e-GIGI (Eg)



Diameter zona hambat diukur dengan rumus berikut:

$$\text{Zona Hambat: } \frac{(\text{DV} - \text{DC}) + (\text{DH} - \text{DC})}{2}$$

Keterangan:

 : Zona hambat

DV : Diameter vertikal

DH : Diameter horizontal

DC : Diameter cakram

## 2.8 Pengolahan dan Analisis Data

Penelitian ini menerapkan uji Kruskal-Wallis sebagai uji non-parametrik dan ANOVA sebagai uji parametrik untuk mengevaluasi efektivitas daya hambat ekstrak alga coklat terhadap bakteri uji. Metode ini digunakan berdasarkan hipotesis komparatif, dengan data numerik yang terdiri dari lebih dari dua kelompok dan bersifat tidak berpasangan (Afriani, Yusmarini, dan Pato, 2017). Uji Kruskal-Wallis diterapkan ketika data tidak berdistribusi normal atau variansnya tidak homogen. Sebanyak 25 sampel digunakan untuk masing-masing bakteri uji, dibagi dalam lima kelompok data untuk menentukan zona hambat.

Uji normalitas data dilakukan menggunakan uji Shapiro-Wilk, mengingat jumlah sampel kurang dari 50, sedangkan uji homogenitas varians menggunakan Levene's test. Apabila hasil menunjukkan distribusi normal dan varians yang homogen (nilai signifikansi lebih dari 0,05 atau  $p > 0,05$ ), analisis dilanjutkan dengan One-Way ANOVA menggunakan perangkat lunak Statistical Product and Service Solutions (SPSS) versi 24.0 (Ostertagová, Ostertag, dan Kováč, 2014) dengan taraf kepercayaan 95% ( $\alpha = 0,05$ ). Namun, jika syarat uji One-Way ANOVA tidak terpenuhi, yaitu data tetap tidak berdistribusi normal atau varians tidak homogen setelah transformasi, dan menunjukkan nilai signifikansi kurang ( $p < 0,05$ ), maka analisis dilanjutkan dengan uji Kruskal-Wallis. Jika hasil uji Kruskal-Wallis menunjukkan nilai  $p < 0,05$ , selanjutnya dilakukan analisis Post Hoc untuk mengidentifikasi kelompok-kelompok yang memiliki perbedaan bermakna.

Jenis Data	: Data primer
Pengolahan data	: IBM SPSS statistics 24.00
Penyajian data	: Dalam bentuk tabel dan gambar diagram.



## 2.9 Alur Penelitian

