

PENGUJIAN ZONA INHIBISI DIFUSI CAKRAM EKSTRAK RUMPUT LAUT MERAH (*Eucheuma cottonii*) SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP *Streptococcus mutans*

DISK DIFFUSION ASSAY OF RED SEAWEED (*Eucheuma cottonii*) EXTRACT AS AN ANTIBACTERIAL AGENT AGAINST *Streptococcus mutans*

Adinda Nur Wulandari^{1*}, Desi Aulia Putri¹, Intan Mawarni¹, Bayu Aji Laksono¹, Nahla Sabrina Nurjanah¹, Iman Indra Kusuma Jaya¹, Alfath Deip Perdana¹, Dalilla Nurathifa Syam¹, Wanda Andella Putri¹, Berta Putri¹

¹Jurusan Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Lampung, Lampung, Indonesia

*email penulis korespondensi: adindanwulandari88@gmail.com

Abstrak

Penelitian bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak *Eucheuma cottonii* terhadap *Streptococcus mutans* menggunakan metode difusi cakram. *Streptococcus mutans* merupakan penyebab utama karies gigi, dan pemanfaatan bahan alam seperti alga merah dapat menjadi alternatif pengganti antibiotik sintetis. Sampel *Eucheuma cottonii* yang diperoleh dari Pesisir Desa Ruguk, Lampung Selatan, dimaserasi dengan pelarut metanol, kemudian diekstraksi menggunakan metode *rotary evaporator* dan *water bath*. Ekstrak diuji pada berbagai konsentrasi (10.000, 5.000, 1.000, 100, 10 ppm) untuk mengukur zona hambat terhadap bakteri uji. Hasil menunjukkan bahwa metode *water bath* menghasilkan zona hambat maksimal sebesar 2 mm pada konsentrasi 10.000 ppm dalam 24 jam pertama, tetapi efek antibakteri melemah seiring waktu. Metode *rotary evaporator* menunjukkan hasil yang berfluktuasi, dengan zona hambat terbesar pada konsentrasi 5.000 ppm sebesar 0,90 mm dan anomali pada konsentrasi rendah setelah inkubasi lebih lama. Secara keseluruhan, aktivitas antibakteri tergolong lemah (<5 mm), menunjukkan sifat bakteriostatik, yakni menghambat pertumbuhan tanpa membunuh bakteri secara permanen. Metode *water bath* lebih unggul dalam menghasilkan ekstrak yang stabil dengan aktivitas antibakteri konsisten dibandingkan *rotary evaporator*. Penelitian ini menyimpulkan bahwa ekstrak *Eucheuma cottonii* memiliki potensi antibakteri, tetapi optimasi lebih lanjut diperlukan untuk meningkatkan efektivitasnya terhadap *Streptococcus mutans*.

Kata Kunci: Eucheuma cottonii, Rotary evaporator, Streptococcus mutans, Water bath, Zona hambat

Abstract

The study aims to evaluate the antibacterial activity of *Eucheuma cottonii* extract against *Streptococcus mutans* using the disk diffusion method. *Streptococcus mutans* is the primary causative agent of dental caries, and the utilization of natural materials such as red algae offers a potential alternative to synthetic antibiotics. Samples of *Eucheuma cottonii* obtained from the coastal area of Ruguk Village, South Lampung, were macerated using methanol as a solvent and then extracted using rotary evaporator and water bath methods. The extract was tested at various concentrations (10,000, 5,000, 1,000, 100, 10 ppm) to measure the inhibition zones against the test bacteria. Results indicated that the water bath method produced a maximum inhibition zone of 2 mm at a concentration of 10,000 ppm within the first 24 hours, although the antibacterial effect diminished over time. The rotary evaporator method showed fluctuating results, with the largest inhibition zone observed at 5,000 ppm (0.90 mm), along with anomalies at lower concentrations after extended incubation. Overall, the antibacterial activity was categorized as weak (<5 mm), indicating bacteriostatic properties that inhibit bacterial growth without permanently killing the bacteria. The water bath method demonstrated superiority in producing a more stable extract with consistent antibacterial activity compared to the rotary evaporator method. This study concludes that *Eucheuma cottonii* extract exhibits antibacterial potential; however, further optimization is required to enhance its effectiveness against *Streptococcus mutans*.

Keywords: Eucheuma cottonii, Inhibition zone, Rotary evaporator, Streptococcus mutans, Water bath

PENDAHULUAN

Karies gigi menjadi salah satu masalah kesehatan masyarakat yang signifikan di Indonesia (Khairani *et al.*, 2017). Penyakit ini disebabkan oleh aktivitas bakteri *Streptococcus mutans*, yang memfermentasi karbohidrat menjadi asam organik sehingga menurunkan pH rongga mulut dan menyebabkan demineralisasi enamel gigi (Anggraeni *et al.*, 2005). Sebagai bakteri gram positif, *Streptococcus mutans* diketahui menghasilkan biofilm dan asam yang mempercepat kerusakan jaringan keras gigi (Kooltheat *et al.*, 2016). Pendekatan alternatif berbasis bahan alam menjadi penting untuk mengurangi risiko resistensi bakteri akibat penggunaan antibiotik sintetis.

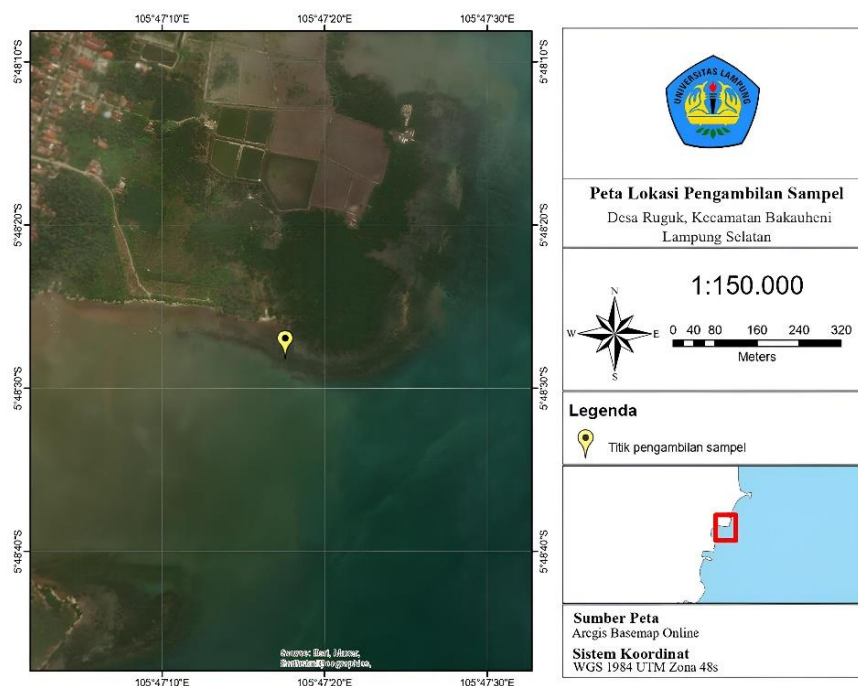
Salah satu sumber daya alami yang memiliki potensi besar adalah alga merah. *Eucheuma cottonii* dikenal sebagai salah satu organisme hayati yang kaya akan metabolit bioaktif. Kandungan kimia utama alga ini terdiri atas air (76,5%), abu (5,62%), protein (2,32%), lemak (0,11%), dan karbohidrat (15,8%) (Maharany *et al.*, 2017). Selain itu, *Eucheuma cottonii* mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, polifenol, triterpenoid, steroid, tannin, dan alkaloid yang memiliki berbagai aktivitas biologis, termasuk antibakteri, antivirus, antijamur, sitostatik, dan antioksidan (Siregar *et al.*, 2012; Andriani *et al.*, 2015; Astriani & Nurjanah, 2023). Aktivitas antibakteri alga merah berkaitan dengan metabolit sekunder yang mampu mengganggu membran sel bakteri, menghambat sintesis protein, serta menginduksi kerusakan dinding sel.

Penelitian sebelumnya mengungkapkan bahwa ekstrak *Eucheuma cottonii* memiliki kemampuan antibakteri terhadap bakteri patogen, salah satunya adalah *Streptococcus mutans*. Menurut Lestario *et al.* (2008), alga merah memiliki kemampuan antibakteri yang efektif terhadap bakteri gram negatif maupun gram positif. Menurut Dwyana & Johannes (2012) ekstrak kasar *Eucheuma cottonii* dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* secara signifikan pada konsentrasi tertentu. Namun, metode yang digunakan dalam penelitian tersebut tidak mencakup uji difusi cakram yang sederhana dan banyak digunakan untuk mengukur zona hambatan bakteri.

Uji antibakteri menggunakan metode difusi cakram merupakan teknik yang umum diterapkan untuk mengukur efektivitas agen antibakteri. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak alga merah *Eucheuma cottonii* terhadap bakteri *Streptococcus mutans* menggunakan metode difusi cakram, dengan mengamati dan mengukur zona hambat yang terbentuk pada media agar.

MATERI DAN METODE

Penelitian dilakukan dengan metode eksperimental untuk mengevaluasi efektivitas antibakteri ekstrak rumput laut *Eucheuma cottonii* terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Sampel *Eucheuma cottonii* diperoleh dari wilayah pesisir Desa Ruguk, Kecamatan Ketapang, Kabupaten Lampung Selatan (Gambar 1).



Gambar 1. Peta lokasi pengambilan sampel *Eucheuma cottonii*

Penelitian ini dilaksanakan selama bulan Oktober hingga November 2024 di Laboratorium Oseanografi serta Laboratorium Pengujian Mutu Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi blender, saringan, botol sampel berkapasitas 450 ml, corong, *rotary flask*, *water bath*, *rotary evaporator*, timbangan analitik, *spatula*, cawan petri, erlenmeyer, *hotplate*, *magnetic stirrer*, *autoclave*, tabung reaksi beserta raknya, kasa, *glass spreader*, mikropipet dengan tip, jarum ose, bunsen, inkubator, *laminar air flow*, serta jangka sorong. Selain itu, beberapa perlengkapan tambahan seperti *aluminium foil*, *plastik wrap*, dan label juga digunakan untuk kebutuhan penyimpanan dan pelabelan. Bahan-bahan yang diperlukan mencakup kertas saring, aquades, media *Tryptic Soy Broth* (TSB), media *Tryptic Soy Agar* (TSA) alkohol, dan alat tulis kantor (ATK) untuk keperluan dokumentasi dan pencatatan data selama penelitian.

Prosedur penelitian dimulai dari preparasi sampel *Eucheuma cottonii*, maserasi, ekstraksi, rekultur bakteri *Streptococcus mutans*, pembuatan media, dan pengujian aktivitas antibakteri. Tahap awal persiapan sampel dimulai dengan mencuci *Eucheuma cottonii* menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kotoran dari *thallus* dan *holdfast*. Proses pengeringan dilakukan dengan menjemur sampel di tempat terbuka yang terkena sinar matahari selama tiga hari. Sampel yang telah kering ditimbang sebanyak 500 gram, lalu dihanduk menggunakan blender hingga menjadi serbuk halus dan diayak untuk mendapatkan ukuran partikel yang merata. Serbuk alga yang telah diayak ditimbang sebanyak 50 gram, lalu disimpan dalam botol sampel berkapasitas 500 ml.

Maserasi, sebagaimana dijelaskan oleh Karina *et al.* (2016), adalah proses ekstraksi senyawa aktif dengan merendam bahan dalam pelarut organik yang dikondisikan pada suhu tertentu. Sebanyak 50 gram serbuk halus *Eucheuma cottonii* ditimbang, dimasukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian ditambahkan 150 ml metanol teknis sebagai media pelarut. Sampel kemudian didiamkan pada suhu ruang selama tujuh hari. Metode maserasi ini dipilih karena kelebihannya, yaitu prosedur yang sederhana, biaya yang ekonomis, dan efisiensi dalam isolasi senyawa bahan alam. Harborne (1987) menyatakan bahwa proses perendaman menyebabkan perbedaan tekanan antara bagian dalam dan luar sel, yang merusak dinding dan membran sel, sehingga metabolit sekunder dari sitoplasma terlarut dalam pelarut.

Setelah proses maserasi selama tujuh hari, dilakukan penyaringan menggunakan kertas

saring dua lapis untuk memperoleh filtrat. Filtrat yang diperoleh dievaporasi menggunakan dua metode, yakni *rotary evaporator* dan *water bath*. Menurut Praptiningsih (1999), prinsip evaporasi adalah memisahkan pelarut dari larutan dengan cara mendidihkan atau menguapkan pelarut sehingga menghasilkan larutan yang lebih pekat.

Pada evaporasi dengan *rotary evaporator*, 100 ml filtrat dimasukkan ke dalam alat dan dievaporasi pada suhu 40°C untuk menghilangkan sisa pelarut, menghasilkan 1,8 gram ekstrak kental yang disimpan dalam botol vial. Pada evaporasi dengan *water bath*, pelarut metanol diuapkan pada suhu 70°C selama 12 jam dengan pengadukan menggunakan *spatula* setiap 30 menit. Setelah ekstrak mengental, ekstrak tersebut disimpan dalam botol sampel dan didinginkan dalam lemari pendingin untuk menjaga kualitasnya.

Bakteri *Streptococcus mutans* dikultur menggunakan media *Tryptic Soy Broth* (TSB). Isolat murni diinokulasikan ke dalam media TSB menggunakan jarum ose yang sudah disterilkan, dan media tersebut diinkubasi selama 24 jam pada suhu ideal untuk pertumbuhan bakteri.

Pembuatan *Tryptic Soy Agar* (TSA) dan *Tryptic Soy Broth* (TSB), media yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri, dilakukan dengan melarutkan masing-masing 4 gram bubuk TSA dalam 100 ml aquades dan 1,5 gram bubuk TSB dalam 100 ml aquades. Kedua larutan dimasukkan ke dalam erlenmeyer, dipanaskan dengan *hotplate* selama ±15 menit hingga homogen, lalu menjalani proses sterilisasi pada suhu 121°C selama sekitar 15 menit menggunakan *autoclave*.

Setelah proses sterilisasi, TSA dituangkan ke dalam cawan petri steril sebanyak 10–15 ml per cawan, lalu dibiarkan memadat pada suhu ruang. Sebaliknya, TSB dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril sebanyak 1–2 ml per tabung. Media TSA digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri, sedangkan TSB digunakan sebagai medium untuk kultur bakteri.

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi cakram pada media TSA. Ekstrak *Eucheuma cottonii* dari masing-masing metode ekstraksi (*water bath* dan *rotary evaporator*) masing-masing ekstrak diambil sebanyak 50 µl dan 0,05 gram dan dilarutkan dalam 5 ml aquades untuk membuat larutan stok. Larutan ini diencerkan secara bertingkat menjadi konsentrasi 10.000 ppm, 5.000 ppm, 1.000 ppm, 100 ppm, dan 10 ppm.

Streptococcus mutans diinokulasikan ke media TSA dengan teknik *spread plate*. Kertas cakram steril direndam terlebih dahulu dalam larutan uji, kemudian diletakkan pada permukaan TSA menggunakan pinset steril. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 24–72

jam dalam kondisi aerob. Zona bening yang terbentuk di sekitar cakram diamati dan diukur menggunakan jangka sorong untuk menentukan aktivitas antibakteri berdasarkan diameter zona hambat.

HASIL

Hasil penelitian menunjukkan zona hambat antibakteri ekstrak *Eucheuma cottonii* terhadap *Streptococcus mutans* diukur dalam milimeter (mm) menggunakan metode *disk diffusion* pada berbagai konsentrasi (ppm). Data pengukuran zona hambat disajikan dalam Tabel 1 hingga Tabel 6. Dari data tersebut, terdapat variasi tingkat zona hambat berdasarkan konsentrasi ekstrak, metode ekstraksi (*water bath* dan *rotary evaporator*), serta durasi waktu inkubasi.

Water Bath

Tabel 1 menunjukkan hasil pengukuran zona hambat antibakteri pada ekstrak *Eucheuma cottonii* menggunakan metode *water bath* selama 1 × 24 jam. Konsentrasi tertinggi (10.000 ppm) menghasilkan zona hambat rata-rata terbesar, yaitu 2 mm, sedangkan konsentrasi terendah (10 ppm) menghasilkan zona hambat 0,7 mm. Hal ini menunjukkan bahwa efektivitas antibakteri meningkat seiring dengan peningkatan

konsentrasi ekstrak. Aktivitas antibakteri tergolong lemah karena semua nilai zona hambat berada di bawah 5 mm.

Pada pengukuran setelah 2 × 24 jam, hasil yang ditampilkan di Tabel 2 menunjukkan adanya penurunan zona hambat di semua konsentrasi. Konsentrasi tertinggi (10.000 ppm) menghasilkan zona hambat rata-rata 1,1 mm, yang lebih kecil dibandingkan hasil pada 1 × 24 jam. Penurunan ini mencerminkan penurunan aktivitas antibakteri seiring waktu, yang menunjukkan sifat bakteriostatik dari ekstrak. Konsentrasi lebih rendah, seperti 100 ppm dan 10 ppm, menghasilkan zona hambat rata-rata 0,83 mm dan 0,9 mm, yang masih menunjukkan aktivitas lemah.

Pada pengukuran 3 × 24 jam, Tabel 3 menunjukkan bahwa zona hambat terus menurun. Konsentrasi 10.000 ppm menghasilkan zona hambat rata-rata 1,06 mm, sedangkan konsentrasi 5.000 ppm menurun menjadi 0,76 mm. Konsentrasi terendah (10 ppm) menunjukkan nilai 0,83 mm yang serupa dengan pengukuran sebelumnya. Penurunan aktivitas ini semakin menegaskan bahwa ekstrak hanya dapat menekan pertumbuhan bakteri tanpa membunuhnya secara permanen, yang merupakan karakteristik bakteriostatik.

Tabel 1. Nilai pengukuran 1 × 24 jam zona hambat

Konsentrasi (ppm)	Horizontal (mm)	Vertikal (mm)	Diagonal (mm)	Rata - rata (mm)
10.000	2	2	2	2
5.000	1	1	1	1
1.000	0,9	0,9	0,9	0,9
100	0,7	0,7	0,7	0,7
10	0,7	0,7	0,7	0,7

Keterangan: mm = milimeter; ppm = parts per million

Tabel 2. Nilai pengukuran 2 × 24 jam zona hambat

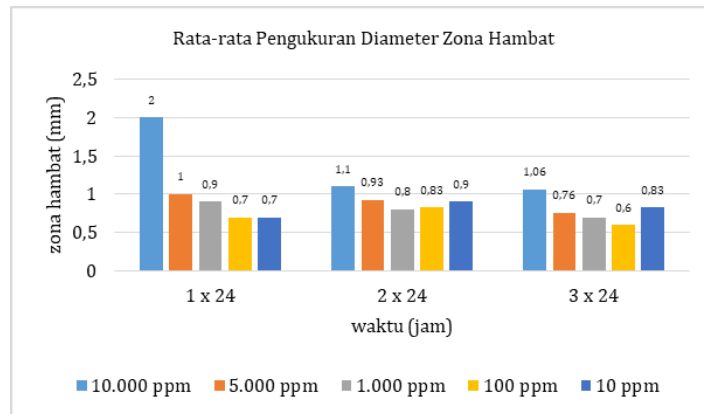
Konsentrasi (ppm)	Horizontal (mm)	Vertikal (mm)	Diagonal (mm)	Rata - rata (mm)
10.000	1,1	1,1	1,1	1,1
5.000	0,9	0,9	1	0,93
1.000	0,8	0,8	0,8	0,8
100	0,7	0,9	0,9	0,83
10	1	0,8	0,9	0,9

Keterangan: mm = milimeter; ppm = parts per million

Tabel 3. Nilai pengukuran 3 × 24 jam zona hambat

Konsentrasi (ppm)	Horizontal (mm)	Vertikal (mm)	Diagonal (mm)	Rata - rata (mm)
10.000	1	1,1	1,1	1,06
5.000	0,7	0,8	0,8	0,76
1.000	0,7	0,7	0,7	0,7
100	0,6	0,6	0,6	0,6
10	0,9	0,8	0,8	0,83

Keterangan: mm = milimeter; ppm = parts per million



Gambar 2. Rata-rata diameter hasil pengukuran zona hambat pada uji antibakteri ekstrak alga *Eucheuma cottonii* metode *water bath*

Rotary Evaporator

Tabel 4 memberikan hasil pengukuran zona hambat pada ekstrak yang diolah menggunakan metode *rotary evaporator* selama 1 × 24 jam. Konsentrasi tertinggi (10.000 ppm) menghasilkan zona hambat rata-rata 0,73 mm, lebih kecil dibandingkan hasil metode *water bath*. Konsentrasi 5.000 ppm mencatat nilai tertinggi, yaitu 0,90 mm, sedangkan konsentrasi terendah (10 ppm) hanya menghasilkan zona hambat rata-rata 0,40 mm. Hal ini menunjukkan bahwa metode *rotary evaporator* menghasilkan ekstrak dengan aktivitas antibakteri yang lebih rendah dibandingkan metode *water bath*.

Pada pengukuran setelah 2 × 24 jam, zona hambat yang dihasilkan metode *rotary evaporator* pada semua konsentrasi juga mengalami penurunan, seperti yang terlihat pada Tabel 5. Konsentrasi 10.000 ppm menghasilkan rata-rata zona hambat 0,57 mm, sementara

konsentrasi 5.000 ppm turun menjadi 0,67 mm. Nilai-nilai ini menunjukkan fluktuasi dan aktivitas antibakteri yang tidak konsisten dibandingkan metode *water bath*, yang kemungkinan disebabkan oleh distribusi senyawa aktif yang kurang merata dalam ekstrak.

Pada pengukuran 3 × 24 jam, seperti terlihat pada Tabel 6, zona hambat untuk semua konsentrasi terus menurun. Konsentrasi tertinggi (10.000 ppm) menghasilkan zona hambat rata-rata hanya 0,40 mm, sedangkan konsentrasi 5.000 ppm menurun ke 0,47 mm. Hasil ini menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak dari metode *rotary evaporator* tidak hanya lemah, tetapi juga tidak stabil, dengan penurunan lebih tajam dibandingkan metode *water bath*. Konsentrasi terendah (10 ppm), meskipun mengalami peningkatan ke 0,60 mm, tetap berada dalam kategori aktivitas lemah.

Tabel 3. Nilai pengukuran 1 x 24 jam zona hambat

Konsentrasi (ppm)	Horizontal (mm)	Vertikal (mm)	Diagonal (mm)	Rata - rata (mm)
10.000	0,8	0,6	0,8	0,73
5.000	0,8	0,9	1	0,90
1.000	0,6	0,6	0,5	0,57
100	0,3	0,3	0,1	0,23
10	0,4	0,3	0,5	0,40

Keterangan: mm = milimeter; ppm = parts per million

Tabel 4. Nilai pengukuran 2 x 24 jam zona hambat

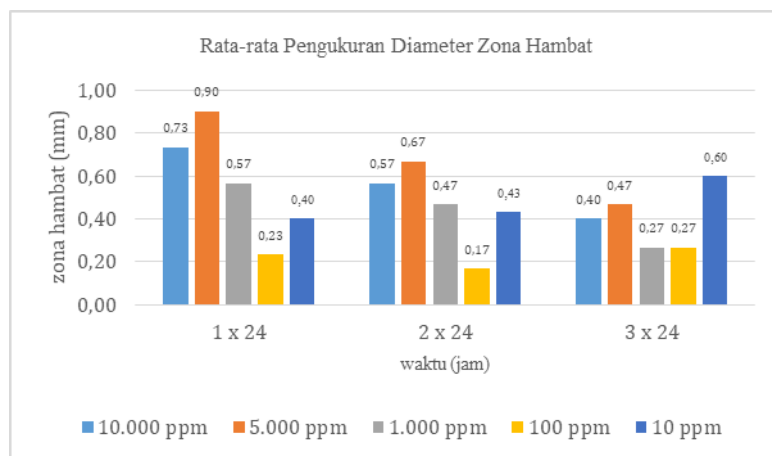
Konsentrasi (ppm)	Horizontal (mm)	Vertikal (mm)	Diagonal (mm)	Rata - rata (mm)
10.000	0,5	0,5	0,7	0,57
5.000	0,7	0,7	0,6	0,67
1.000	0,4	0,5	0,5	0,47
100	0,2	0,2	0,1	0,17
10	0,4	0,4	0,5	0,43

Keterangan: mm = milimeter; ppm = parts per million

Tabel 5. Nilai pengukuran 3 x 24 jam zona hambat

Konsentrasi (ppm)	Horizontal (mm)	Vertikal (mm)	Diagonal (mm)	Rata - rata (mm)
10.000	0,7	0,3	0,2	0,40
5.000	0,3	0,6	0,5	0,47
1.000	0,1	0,3	0,4	0,27
100	0,6	0,1	0,1	0,27
10	0,6	0,5	0,7	0,60

Keterangan: mm = milimeter; ppm = parts per million



Gambar 3. Rata-rata diameter hasil pengukuran zona hambat pada uji antibakteri ekstrak alga *Eucheuma cottonii* metode rotary evaporator

PEMBAHASAN

Berbagai metode yang dapat digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri mencakup teknik difusi cakram, pengenceran, gradien antimikroba, dan sistem instrumen otomatis (Khusuma *et al.*, 2019). Teknik difusi cakram merupakan metode kualitatif untuk mendeteksi senyawa antibakteri berdasarkan zona hambat, sedangkan pengenceran adalah pendekatan kuantitatif untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) (Dewi *et al.*, 2019).

Pengujian ekstrak antibakteri *Eucheuma cottonii* dilakukan dengan mengamati zona hambat yang terbentuk terhadap bakteri gram positif pada berbagai konsentrasi (Anggraini *et al.*, 2021). Berdasarkan diameter zona hambat, aktivitas antibakteri dikategorikan sebagai rendah (< 5 mm), sedang (6–10 mm), kuat (11–20 mm), dan sangat kuat (> 20–30 mm) (Davis & Stout, 1971; Usman & Baharuddin, 2023).

Ekstrak alga *Eucheuma cottonii* diperoleh melalui dua metode, yaitu rotary evaporator dan water bath. Rotary evaporator bekerja berdasarkan prinsip destilasi dengan penurunan tekanan dalam labu alas bulat serta pemutaran pada kecepatan tertentu untuk mempercepat penguapan pelarut. Proses ini menjaga senyawa bioaktif tidak rusak akibat suhu tinggi karena pemanasan dilakukan di bawah titik didih pelarut (Santoso *et al.*, 2021). Hasil ekstraksi menggunakan rotary evaporator menghasilkan ekstrak yang berwarna hijau pekat dengan tekstur kental.

Di sisi lain, metode water bath menggunakan pemanas air dengan suhu yang dikontrol secara konstan. Metode ini sering digunakan untuk proses pemanasan pada suhu rendah, inkubasi mikrobiologi, hingga penguapan larutan (Puspita & Juliati, 2021). Water bath menjaga kestabilan suhu melalui sensor yang memberikan umpan balik otomatis, sehingga senyawa bioaktif dalam ekstrak lebih terjaga

(Husni *et al.*, 2017). Hasil ekstraksi menggunakan water bath menghasilkan ekstrak berwarna hijau lumut dengan tekstur cair.

Berdasarkan grafik rata-rata pengukuran diameter zona hambat menggunakan metode water bath, konsentrasi ekstrak *Eucheuma cottonii* berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Pada konsentrasi 10.000 ppm, diameter zona hambat terbesar tercatat sebesar 2 mm setelah 1 × 24 jam, tetapi menurun menjadi 1,1 mm setelah 2 × 24 jam dan 1,06 mm setelah 3 × 24 jam, yang tergolong aktivitas antibakteri lemah (<5 mm). Konsentrasi yang lebih rendah, seperti 5.000 ppm, 1.000 ppm, 100 ppm, dan 10 ppm, juga menunjukkan aktivitas antibakteri lemah dengan zona hambat yang relatif kecil dan tidak signifikan.

Pada metode rotary evaporator, hasil pengukuran diameter zona hambat menunjukkan fluktuasi yang lebih signifikan. Konsentrasi 10.000 ppm menunjukkan penurunan zona hambat dari 0,73 mm (1 × 24 jam) menjadi 0,40 mm (3 × 24 jam). Hal serupa terlihat pada konsentrasi 5.000 ppm, di mana zona hambat menurun dari 0,90 mm menjadi 0,47 mm. Namun, pada konsentrasi 10 ppm, terjadi anomali berupa peningkatan zona hambat yang signifikan dari 0,40 mm (1 × 24 jam) menjadi 0,60 mm (3 × 24 jam), meskipun tetap termasuk kategori aktivitas antibakteri lemah (< 5 mm).

Ekstrak *Eucheuma cottonii* telah diketahui memiliki kemampuan bakteriostatik, yaitu kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri tanpa membunuhnya secara permanen. Sifat ini terlihat pada bakteri *Streptococcus mutans*, di mana ekstrak hanya mampu menekan pertumbuhan bakteri selama pemberian senyawa antimikroba dilakukan secara terus-menerus. Jika pemberian dihentikan, bakteri dapat kembali tumbuh, yang ditandai dengan munculnya koloni bakteri baru. Sebaliknya, suatu

senyawa dikategorikan sebagai bakterisida jika mampu membunuh bakteri secara permanen dan menghentikan aktivitas fisiologisnya. Hal ini ditandai dengan peningkatan kejernihan media selama masa inkubasi berikutnya, meskipun pemberian senyawa antimikroba telah dihentikan (Dwyana & Johannes., 2012).

Membesarnya zona hambat merupakan indikasi bahwa ekstrak *Eucheuma cottonii* mengandung senyawa aktif antibakteri yang mampu menekan pertumbuhan *Streptococcus mutans*. Aktivitas antibakteri ini meningkat seiring bertambahnya konsentrasi ekstrak *Eucheuma cottonii*. Konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi memungkinkan lebih banyak senyawa antibakteri menembus sel bakteri melalui mekanisme yang spesifik, sehingga memperluas ukuran zona hambat yang terbentuk (Tunny *et al.*, 2022). Meskipun demikian, efektivitas daya hambat ekstrak ini masih tergolong rendah terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Perbedaan dalam ukuran zona hambat antara bakteri uji dapat dijelaskan oleh variasi kemampuan atau respons tiap bakteri terhadap senyawa antibakteri yang diberikan (Magvirah *et al.*, 2019).

Nilai rata-rata diameter zona hambat pada metode *water bath* lebih konsisten dibandingkan dengan *rotary evaporator*. Stabilitas suhu pada *water bath* menjaga kandungan bioaktif lebih terjaga, menghasilkan ekstrak yang homogen dengan pola penurunan aktivitas antibakteri yang konsisten (Husni *et al.*, 2017). Sebaliknya, *rotary evaporator*, meskipun lebih efisien, cenderung menghasilkan ekstrak dengan distribusi senyawa bioaktif yang kurang merata akibat pengurangan tekanan dan pengadukan mekanis, yang menyebabkan fluktuasi hasil (Santoso *et al.*, 2021).

Dengan demikian, meskipun kedua metode memiliki keunggulan masing-masing, metode *water bath* lebih unggul dalam menghasilkan ekstrak *Eucheuma cottonii* yang stabil. Homogenitas yang lebih baik dalam ekstrak *water bath* memberikan efek antibakteri yang lebih konsisten, terutama terhadap *Streptococcus mutans*.

KESIMPULAN

Ekstrak *Eucheuma cottonii* terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* yang diuji menggunakan metode difusi cakram. Zona hambat terbesar ditemukan pada konsentrasi 10.000 ppm dengan metode *water bath*, menunjukkan aktivitas yang tergolong lemah dengan rata-rata diameter maksimal 2 mm pada pengukuran awal. Hasil ekstraksi menggunakan *rotary evaporator* menunjukkan variasi yang lebih besar dengan zona hambat yang juga lemah, meskipun terdapat

anomali peningkatan pada konsentrasi rendah setelah inkubasi lebih lama. Secara keseluruhan, ekstrak ini menunjukkan sifat bakteriostatik yang menekan pertumbuhan bakteri tanpa membunuhnya secara permanen. Metode *water bath* dinilai lebih unggul dalam menjaga stabilitas dan homogenitas kandungan bioaktif ekstrak, menghasilkan pola aktivitas antibakteri yang lebih konsisten. Meskipun demikian, daya hambat terhadap *Streptococcus mutans* tergolong rendah, sehingga dibutuhkan optimasi lebih lanjut untuk meningkatkan efektivitasnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggraeni A, Anita Y, Intan, N. 2005. Perlekatan koloni *Streptococcus mutans* pada permukaan resin komposit sinar tampak. *Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi)*. 38(1): 8-11. DOI:10.20473/j.djmk.v38.i1.p8-11.
- Anggraini M, Swantara IMD, Sukadana IM. 2021. Toksisitas ekstrak dan isolat rumput laut *Eucheuma spinosum*. *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)*. 9(1).
- Andriani Z, Fasya AG, Hanapi A. 2015. Antibacterial activity of the red algae *Eucheuma cottonii* extract from Tanjung coast, Sumenep Madura. *Alchemy: Journal of Chemistry*. 4(2): 93-100. DOI:10.18860/al.v4i2.3197.
- Astriani A, Nurjanah N. 2023. Bioactive components of seaweed *Eucheuma cottonii* potential as antibacteria. *Jurnal Biologi Tropis*. 23(2): 341-347. DOI:10.29303/jbt.v23i2.4882.
- Davis WW, Stout TR. 1971. Disc plate method of microbiological antibiotic assay. *American Society for Microbiology*. 22(4): 659-665. DOI:10.1128/am.22.4.659-665.1971.
- Dwyana Z, Johannes E. 2012. Uji efektivitas ekstrak kasar alga merah *Eucheuma cottonii* sebagai antibakteri terhadap bakteri patogen. *Jurnal Ilmu Kefarmasian*. 7(2): 1-7.
- Dewi R, Febriani A, Wenas DM. 2019. Uji aktivitas antimikroba ekstrak metanol daun sirih (*Piper betle L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* dan khamir *Malassezia furfur*. *Sainstech Farma: Jurnal Ilmu Kefarmasian*. 12(1): 32-38.
- Harbone JB. 1987. Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan Edisi ke-2. (Kosasih Padmawinata, Iwang Soediro, Terjemahan). ITB Press, Bandung.
- Husni K, Wildian W, Yusfi M. 2017. Rancang bangun shaking water bath berbasis mikrokontroler ATmega16. *Jurnal Fisika Unand*. 6(1): 9-16. DOI:10.25077/jfu.6.1.9-16.2017
- Karina, Indrayani Y, Dirhamsyah M. 2016. Kadar tanin biji pinang (*Areca catechu L*) berdasarkan lama pemanasan dan ukuran serbuk. *Jurnal Hutan Lestari*. 4(1): 119-127. DOI:10.26418/jhl.v4i1.15083.
- Khairani K, Busman B, Edrizal E. 2017. Uji aktivitas antibakteri ekstrak jamur tiram putih

- (*Pleurotus ostreatus*) terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* penyebab karies gigi. *Jurnal B-Dent*. 4(2): 110-116. DOI:10.33854/JBDjbd.102.
- Khusuma A, Safitri Y, Yuniarni A, Rizki K. 2019. Uji teknik difusi menggunakan kertas saring media tampung antibiotik dengan *Escherichia Coli* sebagai bakteri uji. *Jurnal Kesehatan Prima*. 13(2): 151-155. DOI:10.32807/jkp.v13i2.257.
- Kooltheat N, Kamuthachad L, Anthapanya M, Samakachan N, Sranujit RP, Potup P, Ferranite A, Usuwanthim K. 2016. Kaffir lime leaves extract inhibits biofilm formation by *Streptococcus mutans*. *Nutrition*. 32(4): 486-490. DOI:10.1016/j.nut.2015.10.010.
- Lestario LN, Sugiarto S, Timotius KH. 2008. Aktivitas antioksidan dan kadar feolik total dari ganggang merah (*Gracilaria verucosa*). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 19(2) :131-138.
- Magvirah T, Marwati, Ardhani F. 2019. Uji daya hambat bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan ekstrak daun tahongai (*Kleinhovia hospita L.*). *Jurnal Peternakan Lingkungan Tropis*. 2(2): 41-50. DOI:10.30872/jpltrop.v2i2.3687.
- Maharany F, Nurjanah R, Suwand E, Anwar TH. 2017. Kandungan senyawa bioaktif rumput laut *Padina australis* dan *Eucheuma cottonii* sebagai bahan baku krim tabir surya. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 2(1): 10-17. DOI:10.17844/jphpi.v20i1.16553.
- Praptiningsih Y. 1999. *Buku Ajar Teknologi Pengolahan*. FTP UNEJ: Jember.
- Puspita, Juliati. 2021. Modifikasi waterbath dan soxhlet pada analisis kadar lemak. *Prosiding 5th Seminar Nasional Penelitian & Pengabdian Kepada Masyarakat 2021*. Hal. 72-75.
- Santoso B, Imaduddin F, Sukanto H, Triyono J, Lambang RL, Widodo PJ, Siswantoro DH. 2021. Procurement and operation technical for meniran (*Phyllanthus Niruri*) extraction equipment. *Mekanika: Majalah Ilmiah Mekanika*. 20(1): 34-43. DOI:10.20961/mekanika.v20i1.45487.
- Siregar AF, Sabdono A, Pringgenies D. 2012. Potensi antibakteri ekstrak rumput laut terhadap bakteri penyakit kulit *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Micrococcus luteus*. *Journal of Marine Research*. 1(2): 152-160. DOI:10.14710/jmr.v1i2.2032.
- Tunny R, Pelu AD, Syari S. 2022. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol rumput laut hijau (*Eucheuma cottonii*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Riset Rumpun Ilmu Kedokteran*. 1(1): 39-45. DOI:10.55606/jurrike.v1i1.478.
- Usman Y, Baharuddin M. 2023. Uji stabilitas dan aktivitas sabun mandi cair ekstrak etanol daun alpukat (*Persea americana Mill.*). *Jurnal MIPA*. 12(2): 43-49. DOI:10.35799/jm.v12i2.44775.