

Aktivitas Biologis Asap Cair Batang Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Terhadap Viabilitas *Streptococcus* sp. (L.10.3)

Lilis Susanti¹, Elvi Rusmiyanto P.W¹, Rikhsan Kurniatuhadi¹

Program Studi Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura, Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Pontianak,
Email korespondensi: lilissusanty123@gmail.com

Abstract

The wood vinegar of the stem of mangosteen (*G. mangostana* L.) is the result of pyrolysis of the stem which is condensed into steam. Wood vinegar contains acid and phenol compounds that have antibacterial activities. This research aims to determine the biological activities of the wood vinegar of the stem of mangosteen (*G. mangostana* L.) on the viability of *Streptococcus* sp. (L.10.3) and determine the concentration of wood vinegar of the stem of mangosteen (*G. mangostana* L.) which is effective in inhibiting the growth of *Streptococcus* sp. (L.10.3). This research used a completely randomized design (CRD) with 6 treatments consisting of wood vinegar with a concentration of 0.1 (T1); 0.5 (T2); 1 (T3) and 1.5% (T4), negative controls namely sterile distilled water (T5), and positive control namely chlorhexidine of 0.2% (T6). The viability test used the dilution method and calculation of the number of colonies using the total plate count (TPC) method, each treatment was repeated four times. The results showed the increasing concentration of wood vinegar of the stem of mangosteen (*G. mangostana* L.) and the decreasing amount of *Streptococcus* sp. (L.10.3). Wood vinegar at concentration 1.5% showed bacterial growth of 6.9×10^5 CFU / ml which was very different from sterile distilled water by 2.5×10^7 CFU / ml with inhibition up to 96.9% and not significantly different from chlorhexidine of 0.2%.

Keywords : *Garcinia mangostana*, Inhibition, Wood vinegar, *Streptococcus* sp., Viability.

PENDAHULUAN

Permasalahan gigi dan mulut yang dialami oleh sebagian besar masyarakat Indonesia adalah karies gigi (Wardani, 2012). Hasil survey kesehatan rumah tangga oleh Departemen Kesehatan RI tahun 2004 menyatakan bahwa prevalensi karies gigi penduduk Indonesia mencapai 90,05%. Sedangkan menurut Departemen Kesehatan RI tahun 2012 prevalensi karies gigi terbesar terjadi pada anak usia 12 tahun yaitu 43,4%. Proses pembentukan karies diketahui akibat adanya aktivitas golongan bakteri *oral Streptococci* (Wardani, 2012).

Golongan bakteri *Streptococcus* sebagian besar merupakan bakteri gram positif yang berperan dalam pembentukan plak gigi. Beberapa bakteri golongan *Streptococcus* dapat memfermentasi karbohidrat menjadi glukosa dari sisa makanan yang melekat di gigi. Plak gigi menjadi media pertumbuhan bakteri golongan *Streptococcus*. Selain menghasilkan glukosa, bakteri golongan *Oral Streptococci* seperti *S. mutans* dapat memfermentasi gula menjadi asam. Asam yang dihasilkan secara terus menerus mengakibatkan demineralisasi permukaan email gigi sehingga terjadi karies gigi (Nahak, 2013). Karies gigi dapat dicegah dengan mengontrol pertumbuhan bakteri penyebab plak dengan senyawa antibakteri pada tumbuhan (Newman, 2006).

Menurut Judoamidjojo *et al.*, (1989) tumbuhan manggis (*Garcinia mangostana* L.) terutama pada bagian batang mengandung senyawa lignin, sukrosa dan hemiselulosa. Senyawa-senyawa tersebut dapat didegradasi menjadi beberapa senyawa fenol dan senyawa asam dari proses piritolisis yang memiliki aktivitas antibakteri, karena menurut penelitian Yefrida *et al.*, (2009) senyawa asam dan fenol pada asap cair dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif pada konsentrasi 10%.

Batang manggis dalam masyarakat dimanfaatkan oleh pengrajin mebel untuk pembuatan kusen. Proses pembuatan kusen tersebut menghasilkan limbah yang dapat dimanfaatkan kembali sebagai bahan untuk pembuatan asap cair. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Ginayati *et al.*, 2015, memanfaatkan asap cair cangkang kelapa sawit sebagai pengawet tahu dengan konsentrasi 0,5%. Kemampuan asap cair sebagai pengawet bahan makanan karena asap cair dapat menghambat pertumbuhan bakteri sehingga memperlambat pembusukan (Ginayati *et al.*, 2015). Berdasarkan hal tersebut perlu dilakukan penelitian mengenai aktivitas biologis asap cair batang manggis (*G. mangostana* L.) terhadap viabilitas *Streptococcus* sp. (L.10.3).

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari hingga Maret 2018. Isolasi bakteri serta uji aktivitas biologis asap cair batang manggis (*G. mangostana* L.) terhadap viabilitas *Streptococcus* sp. (L.10.3) dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura Pontianak.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu asap cair batang manggis (*G. mangostana* L.) koleksi di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas MIPA Universitas Tanjungpura Pontianak, aquades, *alpha naphthol*, agar, *chlorhexidine* 0,2%, etanol 95 %, indikator *phenol red*, iodium, isolat *Streptococcus* sp. (L.10.3), KOH 40%, *krystal viole*, larutan standard Mcfarland 0,5%, larutan H₂O₂ 3%. Media *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Broth* (NB), pepton dan medium uji biokimia yaitu media gula-gula manitol, sorbitol, *Motility Indole Ornithine Agar* (MIO), *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) dan MR-VP (*methyl red* dan *voges proskauer*) dan safranin.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *real eksperiment* menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan enam taraf perlakuan dan empat kali ulangan yaitu: T1 Konsentrasi asap cair 0,1%, T2 0,5%, T3 1%, T4 1,5%, T5 Aquades steril. T6 Konsentrasi *clorhexidine* 0,2 %.

Prosedur Kerja

Preparasi alat dan bahan

Alat-alat yang terbuat dari kaca dicuci bersih menggunakan detergen dan dikeringkan kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf selama 20 menit pada suhu 121 °C.

Media *Nutrient Agar* (NA) dan *Nutrient Broth* (NB) dibuat sebanyak 1 liter. Media pengujian biokimia seperti *Motility Indole Ornithine* (MIO), *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), dan MR-VP (*methyl red* dan *voges proskauer*), Manitol dan Sorbitol masing-masing dibuat sebanyak 100 ml. Selanjutnya media disterilisasi dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C.

Pengenceran Asap Cair

Asap cair 100% diencarkan menjadi 10% menggunakan aquades steril. Pengenceran setiap konsentrasi dibuat sebanyak 5 ml, konsentrasi 1,5% dibuat dengan cara melarutkan 0,75 ml asap cair 10% ke dalam 4,25 ml aquades. Konsentrasi 1%

dibuat dengan melarutkan 0,5 ml asap cair 10% ke dalam 4,5 ml aquades, dan konsentrasi 0,5% dibuat dengan melarutkan 0,25 ml asap cair 10% kedalam 4,75 ml aquades steril serta konsentrasi 0,1% dibuat dengan melarutkan 0,05 ml asap cair 10% ke dalam 4,95 ml aquades steril.

Pengambilan Sampel Bakteri

Bakteri *Streptococcus* sp.(L.10.3) diisolasi dari plak gigi dengan cara mengoleskan *cotton bud* steril pada gigi. Sampel kemudian dikultur dengan cara diapus pada media *Nutrien Agar* (NA) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri dilakukan dengan mengamati bentuk, elevasi, dan tepian koloni, dilanjutkan dengan mengamati bentuk, formasi, dan gram dari sel bakteri, kemudian dilakukan uji fisiologis (Uji motilitas) dan uji biokimia (Uji voges poskauer, citrat, manitol, sorbitol, glukosa, sukrosa, laktosa, pembentukan gas H₂S, CO₂ dan katalase) kemudian karakter-karakter bakteri tersebut dibandingkan dengan *Streptococcus* berdasarkan buku *Bergey's Manual Of Determinative Bacteriology* oleh Holt *et al.*,(1995) dan *Manual for the Identification Of Medical Bacteria (Second Edition)* oleh Cowan and Steel`s (1974).

Uji Pewarnaan Gram

Uji pewarnaan gram dilakukan dengan mengapus isolat bakteri di atas kaca objek, dan ditetesi kristal violet selama 1 menit kemudian dibilas dengan aquades steril. Kaca objek dikeringanginkan dan ditetesi larutan iodine selama satu menit kemudian bilas dengan aquades teril. Perlakuan dilanjutkan dengan meneteskan etanol 95 % selama 30 detik dan dibilas dengan aquades steril. Selanjutnya ditetesi safranin selama 30 detik dan dibilas dengan aquades kemudian kaca objek dikeringkan. Preparat diamati di bawah mikroskop dengan melihat warna, bentuk bakteri dan formasi sel bakteri. Bakteri yang menunjukkan warna merah merupakan gram negatif dan warna ungu merupakan gram positif (Waluyo, 2008).

Uji Motilitas

Uji motilitas dilakukan untuk mengetahui adanya pergerakan (*motilitas*) bakteri. Isolat bakteri diambil menggunakan ose lurus yang ditusukan secara vertikal pada media *Motility Indole Ornithine Agar* (MIO) dan diinkubasi selama 24 jam. Hasil positif ditandai dengan adanya penyebaran koloni bakteri dari garis tusukan (Budiarso, 2014).

Uji Biokimia

Uji Fermentasi Karbohidrat, Pembentukan CO₂ dan H₂S

Uji fermentasi karbohidrat dilakukan dengan menggunakan media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) dengan cara menusukkan inokulum bakteri secara vertikal sedalam $\frac{3}{4}$ pada media miring dan digores pada bagian *slant* media kemudian diinkubasi selama 24 jam. Hasil positif bakteri memfermentasi glukosa ditandai dengan bagian dasar (*butt*) media akan berwarna kuning bagian *slant* tetap berwarna merah, sedangkan jika mikroorganisme memfermentasi laktosa dan sukrosa ditandai dengan bagian *slant* dan *butt* media berubah berwarna kuning. Media TSIA juga dapat digunakan untuk pengujian produksi gas H₂S dan CO₂ oleh bakteri. Hasil positif H₂S ditandai dengan adanya endapan hitam pada dasar media dan Uji CO₂ positif ditandai dengan terangkatnya media (Hold *et al.*, 1995).

Uji VP (Voges Proskauer)

Uji VP (*Voges Proskauer*) dilakukan untuk mengetahui adanya fermentasi asam campuran (butanadiol). Uji ini dilakukan dengan cara mengambil satu ose isolat bakteri kemudian diinokulasikan ke dalam media MR-VP (*methyl red* dan *voges proskauer*) dan diinkubasi pada suhu 28°C selama 24 jam. Media ditetesi *oe-naphtol* dan ditambah $\frac{1}{4}$ tabung KOH 40 % kemudian media dikocok selama 15 menit, hasil positif ditandai dengan perubahan warna media menjadi merah muda (Hold *et al.*, 1995).

Uji Fermentasi Manitol dan Sorbitol

Uji dilakukan dengan cara menginokulasikan isolat bakteri menggunakan ose steril kemudian dicelupkan pada media manitol dan sorbitol pada tabung reaksi kemudian diinkubasi selama 24 jam. Hasil positif ditandai dengan terjadinya perubahan warna media menjadi kuning (Hold *et al.*, 1995).

Uji Katalase

Uji katalase dilakukan dengan meneteskan hidrogen peroksida (H₂O₂) 3% pada glass objek steril. Biakan bakteri dioleskan pada glass objek yang sudah ditetesi hidrogen peroksida (H₂O₂). Hasil positif ditandai dengan terbentuknya gelembung udara (Budiarso, 2014).

Pembuatan Suspensi Bakteri

Isolat *Streptococcus* sp. (L.10.3) yang berumur 24 jam dimasukkan ke dalam larutan NaCl 0,95% sebanyak 9 ml di dalam cawan petri sampai kekeruhannya setara dengan standar McFarland 0,5. Standar McFarland 0,5 setara dengan 1,5 X 10⁸ CFU/ml jumlah bakteri. Larutan ini dibuat dengan

mencampurkan 0,5 ml larutan 1,175 % BaCl₂ dan 9,95 ml larutan 1 % H₂SO₄ di dalam tabung reaksi (Soelama *et al.*, 2015).

Uji Viabilitas

Uji viabilitas dilakukan dengan menyiapkan tabung reaksi T1, T2, T3, T4, T5 dan T6. Tabung T1 dimasukan 1 ml asap cair dengan konsentrasi 0,1% dan tabung T2 diisi 1 ml asap cair 0,5%. Tabung T3 dimasukan 1 ml asap cair dengan konsentrasi 1% dan T4 dimasukan 1 ml asap cair dengan konsentrasi 1,5%. Tabung T5 dimasukan 1 ml akuades steril dan T6 dimasukan 1 ml *clorhexidine* 0,2 %. Masing-masing tabung T1, T2, T3, T4, T5, T6 dimasukan 5 ml media NB dan 1 ml suspensi bakteri kemudian diinkubasi selama 24 jam.

Sampel uji (T1 sampai T6) selanjutnya dilakukan perhitungan jumlah koloni dengan metode *total plate count* (TPC) dengan pengenceran lima seri yaitu 10⁻¹, T₁10⁻², 10³, 10⁴ dan 10⁵, masing-masing tabung diisi 5 ml garam fisiologis. tabung T1 yang sudah diinkubasi diambil sebanyak 1 ml di masukan ke tabung T₁10⁻¹ kemudian divortex, selanjutnya dari tabung T₁10⁻¹ diambil 1 ml dan dimasukan ke tabung T₁10⁻², perlakuan dilanjutkan dengan cara yang sama sampai tabung ke- T₁10⁻⁴ dan tabung T₁10⁻⁵. Pengenceran pampel uji T2, T3, T4, T5 dan T6 dilakukan cara yang sama dengan perlakuan T1.

Pengujian dilanjutkan dengan menanam 1 ml sampel uji pada media NA 20 ml pada pengenceran ke 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵ dari masing-masing tabung uji T1, T2, T3, T4, T5 dan T6. Masing-masing perlakuan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan dilakukan perhitung jumlah bakteri (Soelama *et al.*, 2015).

Perhitungan Jumlah Bakteri

Jumlah koloni bakteri yang tumbuh setelah perlakuan dihitung menggunakan metode hitung cawan petri *total plate count* (TPC), yaitu penghitungan secara tidak langsung dan hanya mengetahui jumlah bakteri yang hidup (*viable count*). Metode ini memiliki standard perhitungan yaitu *standard plate count* (SPC). SPC merupakan teknik perhitungan bakteri dengan *range* 30-300 CFU (*colony forming unit*)/ml dari pengenceran 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵ (Yunita *et al.*, 2015).

Analisis Data

Data dianalisis dengan ANOVA satu jalur menggunakan program SPSS 18. Jika terdapat pengaruh asap cair batang manggis (*G. mangostana* L.) terhadap viabilitas *Streptococcus* sp.(L.10.3), dilakukan uji lanjut menggunakan uji Tukey untuk melihat konsentrasi efektif dalam menghambat

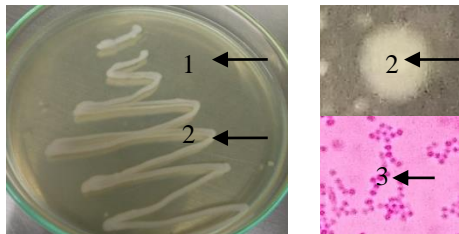
pertumbuhan *Streptococcus* sp. (L.10.3) pada taraf kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Hasil Karakterisasi dan Identifikasi Streptococcus sp. (L.10.3)

Isolasi bakteri plak gigi yang diinkubasi selama 24 jam pada media NA (*Nutrient Agar*) menunjukkan beberapa karakter morfologis *Streptococcus* yang dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1 Morfologi bakteri *Streptococcus* sp. (L.10.3); 1. Media Nutrient Agar, 2. Koloni *Streptococcus* sp. (L.10.3) 3. Sel *Streptococcus* sp. (L.10.3) (perbesaran 1000 \times)

Analisis karakter morfologis koloni bakteri (L.10.3) berbentuk bulat, tepian rata, elevasi cembung, berwarna putih susu dan transparan. Karakter morfologis sel menunjukkan bakteri berbentuk *Coccus* (bulat), gram positif dengan formasi rantai. Identifikasi dilanjutkan dengan uji biokimia yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 Hasil Uji Biokimia Bakteri L.10.3

No	Jenis Uji	reaksi
1.	Voges poskauer	+
2.	Manitol	+
3.	Sorbitol	+
4.	Glukosa	+
5.	Sukrosa	+
6.	Laktosa	+
7.	CO ₂	-
8.	H ₂ S	-
9.	Katalase	-
10.	Motilitas	-

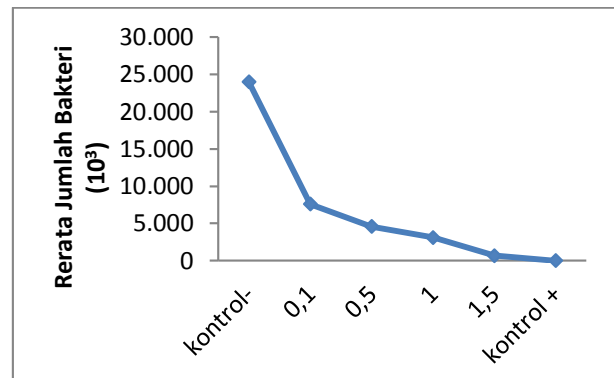
Keterangan: + = Positif dan - = Negatif

Uji biokimia isolat L.10.3 menunjukkan positif memfermentasi karbohidrat, positif uji voges poskauer dan negatif katalase, tidak memproduksi gas CO₂ dan H₂S, serta tidak bergerak (*nonmotil*).

Hasil Viabilitas Streptococcus sp. (L.10.3)

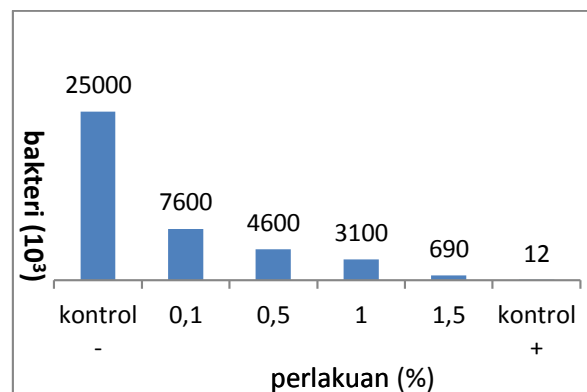
Viabilitas bakteri diukur dengan menghitung jumlah bakteri menggunakan jumlah koloni yang tumbuh dan berkembang dalam media NA (*Nutrient*

Agar) menggunakan metode SPC. Viabilitas *Streptococcus* sp. (L.10.3) terhadap perbedaan konsentrasi asap cair batang manggis dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2 Grafik Viabilitas *Streptococcus* sp. (L.10.3) terhadap perbedaan konsentrasi asap cair batang manggis (*Garcinia mangostana* L.) dalam waktu 24 jam.

Berdasarkan Gambar 2 Viabilitas *Streptococcus* sp. semakin menurun dengan bertambahnya konsentrasi asap cair batang manggis (*G. mangostana* L.). Viabilitas bakteri dipengaruhi oleh jumlah bakteri yang berbeda akibat aktivitas antibakteri dari asap cair batang manggis. Hasil perhitungan jumlah *Streptococcus* sp. (L.10.3) dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3 Diagram Rerata jumlah *Streptococcus* sp. (L.10.3) terhadap perlakuan pemberian asap cair batang manggis (*G. mangostana* L.).

Jumlah *Streptococcus* sp. (L.10.3) semakin menurun dengan bertambahnya konsentrasi asap cair batang manggis (*G. mangostana* L.). Masing-masing konsentrasi menunjukkan jumlah yang berbeda dengan kontrol positif dan kontrol negatif. Hasil analisis ANOVA menunjukkan asap cair batang manggis (*G. mangostana* L.) berpengaruh nyata terhadap viabilitas *Streptococcus* sp. (L.10.3) ($F_{5, 23} = 821,321$, $P = 0,00$ ANOVA) yang dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Viabilitas *Streptococcus* sp. (L.10.3) Terhadap Perlakuan Pemberian Asap Cair Batang Manggis (*Garcinia mangostana* L.)

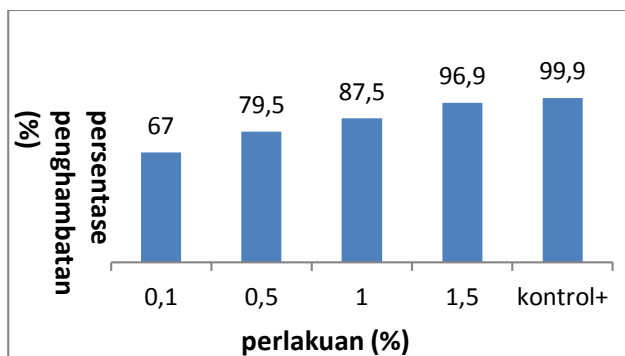
No	Perlakuan (%)	Hasil Analisis
1	Kontrol -	7,5±0,066 ^a
2	0,1	6,9±0,042 ^b
3	0,5	6,7±0,033 ^c
4	1	6,5±0,123 ^d
5	1,5	5,8±0,120 ^e
6	kontrol +	4,0±,057 ^f

Keterangan; Angka-angka pada kolom yang diikuti huruf yang tidak sama menunjukkan pengaruh berbeda nyata menurut uji Tukey pada signifikansi 5%.

Analisis viabilitas *Streptococcus* sp. (L.10.3) terhadap perlakuan konsentrasi yang bervariasi pada uji lanjut Tukey menunjukkan hasil yang berbeda nyata pada setiap konsentrasi dan perlakuan kontrol positif yaitu *chlorhexidine* 0,2% dan kontrol negatif yaitu akuades steril. Tabel 2 menunjukkan jumlah sel paling kecil ditunjukkan pada konsentrasi 1,5% yang berbeda nyata dengan *chlorhexidine* 0,2% dan data jumlah bakteri terendah pada konsentrasi 0,1% menunjukkan hasil berbeda nyata dengan akuades steril.

Hasil Persentase Penghambatan Asap Cair Batang Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Terhadap *Streptococcus* sp. (L.10.3).

Persentase penghambatan menunjukkan kemampuan asap cair batang manggis (*G. mangostana* L.) dalam mengurangi jumlah *Streptococcus* sp. (L.10.3). Hasil perhitungan persentase penghambatan asap cair batang manggis (*G. mangostana* L.) dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Diagram Persentase penghambatan asap cair batang manggis (*G. mangostana* L.) terhadap *Streptococcus* sp. (L.10.3).

Berdasarkan Gambar 4 persentase penghambatan asap cair berbanding lurus dengan pertambahan konsentrasi asap cair, artinya semakin tinggi konsentrasi asap cair maka persentase penghambatan juga semakin tinggi. Analisis ANOVA dengan uji lanjut Tukey menunjukkan

persentase penghambatan asap cair sangat berbeda nyata dari setiap konsentrasi ($F_{4, 19} = 117,318$, $P = 0,000$ ANOVA). Hasil analisis dapat dilihat dalam tabel berikut.

Tabel 3. Perhitungan Persentase Penghambatan *Streptococcus* sp.(L.10.3) Berdasarkan Perbedaan Konsentrasi Asap Cair Batang Manggis (*G. mangostana* L.) Selama 24 Jam

No	Perlakuan (%)	Persentase Penghambatan (%)
1	0,1	1,82±0,021 ^a
2	0,5	1,897±0,016 ^b
3	1	1,939±0,009 ^c
4	1,5	1,986±0,006 ^d
5	Kontrol+	1,999±0,00 ^d

Keterangan; Angka-angka pada kolom yang diikuti huruf yang tidak sama menunjukkan pengaruh berbeda nyata menurut uji Tukey pada signifikansi 5%.

Hasil analisis menunjukkan bahwa persentase penghambatan berbeda nyata pada setiap konsentrasi dan pada konsentrasi 1,5% tidak berbeda nyata dengan control + yaitu 1,986±0,006^d dan 1,999±0,00^d. Berdasarkan hal ini asap cair batang manggis (*G. mangostana* L.) pada konsentrasi 1,5% efektif dalam menghambat *Streptococcus* sp.(L.10.3).

PEMBAHASAN

Kelompok bakteri *Oral Streptococci* merupakan bakteri yang hidup di lingkungan rongga mulut, baik pada plak, saliva maupun gigi. Bakteri golongan tersebut berkaitan dengan pembentukan plak dan karies gigi (Wardani 2012). Isolat bakteri L.10.3 diambil dari plak gigi karena pada plak terdapat berbagai mikroorganisme yang berkembang biak termasuk bakteri golongan *Streptococcus* (Nahak, 2013).

Berdasarkan hasil inkubasi selama 24 jam, isolat bakteri L.10.3 menunjukkan koloni berbentuk bulat, berwarna putih, tepian rata, serta elevasi cembung dan tembus cahaya (Gambar 1). Berdasarkan buku *Bergey's Manual Of Determinative Bacteriology* oleh Holt *et al.*, (1995), koloni tersebut diyakini sebagai *Streptococcus* sp.. Pernyataan ini diperkuat oleh penelitian Heriandi dan Yuke, (2004) yang mengidentifikasi bentuk morfologi koloni bakteri *Streptococcus* pada plak gigi anak, menyatakan permukaan koloni *Streptococcus* cembung (konveks) dan transparan (tembus cahaya).

Hasil tersebut juga diperkuat dengan bentuk koloni dan formasi sel bakteri yang menunjukkan hasil berbentuk kokus dengan formasi sel berbentuk rantai (*strepto*) serta gram positif. Menurut Holt *et al.*, (1995) dan Cowan and Steels, (1974) bakteri

tersebut merupakan *Streptococcus* sp.. Hal ini juga didasari oleh hasil uji biokimia dan uji fisiologis yang sudah dilakukan. Hasil tersebut menunjukkan positif uji voges poskauer (VP), uji fermentasi karbohidrat manitol, sorbitol, glukosa, sukrosa, dan laktosa, serta negatif uji pembentukan gas CO₂ dan H₂S, serta negatif uji katalase. Uji fisiologis yang dilakukan yaitu uji motilitas yang menunjukkan bahwa bakteri bersifat nonmotil (tidak bergerak).

Menurut Holt *et al.*, (1995) terdapat empat jenis bakteri Genus *Oral Streptococci* yang positif uji voges poskauer (VP) yaitu *S. mutans*, *S. rattus*, *S. salivarius* dan *sanguis*. Uji VP merupakan uji untuk mengidentifikasi bakteri yang dapat memfermentasi karbohidrat menjadi 2,3-Butanadiol, dalam uji penambahan 40% KOH dan 5% larutan α -naphthol dapat menentukan adanya asetolin (asetilmethylkarbinol) yaitu senyawa sintetis 2,3-butanadiol. Hasil uji fermentasi karbohidrat yaitu manitol, sorbitol, glukosa, sukrosa dan laktosa dan uji motilitas bakteri *S. mutans*, *S. rattus* menunjukkan karakter yang sama dengan hasil pengujian (Tabel 1) (Holt *et al.*, 1995 dan Cowan and Steels, 1974).

Uji fermentasi karbohidrat glukosa, sukrosa, laktosa dilakukan pada media TSA bersama-sama dengan uji pembentukan Gas CO₂ dan H₂S. Sedangkan pada uji manitol dan sorbitol dilakukan pada media manitol dan sorbitol yang di buat terpisah. Menurut Holt *et al.*, 1995 dan Cowan and Steels, 1974 bakteri Genus *Streptococcus* tidak menghasilkan gas dalam proses metabolisme dan tidak menghasilkan enzim katalase serta bersifat nonmotil (tidak bergerak). Menurut Budiarmo, (2014) bakteri nonmotil (tidak bergerak) disebabkan karena bakteri tersebut tidak memiliki flagela.

Uji katalase merupakan uji yang dilakukan untuk membedakan Genus *Staphylococcus* dan *Streptococcus*. Hasil positif ditunjukkan oleh semua Genus *Staphylococcus* dan semua Genus *Streptococcus* tidak menghasilkan enzim katalase (Toelle & Viktor, 2014). Bakteri yang memiliki enzim katalase yang dapat menguraikan H₂O₂ menjadi H₂O dan O₂ sehingga hasil positif ditunjukkan dengan adanya reaksi bergelembung (Budiarmo, 2014).

Berdasarkan uji morfologi koloni (bentuk, elevasi dan tepian), uji morfologi sel (bentuk, formasi, dan gram), uji fisiologis (uji motilitas), isolat L.10.3 menunjukkan karakter bakteri dari golongan *Streptococcus*. Setelah dilakukan uji biokimia (Uji manitol, sorbitol, glukosa, sukrosa, laktosa, voges poskauer, dan katalase), isolat L.10.3 menunjukkan

karakter yang dimiliki oleh *S. mutans* dan *S. rattus* (Holt *et al.*, 1995)

Uji viabilitas yang dilakukan pada penelitian ini dilakukan dengan perlakuan konsentrasi 0,1; 0,5; 1; dan 1,5%, serta kontrol negatif yaitu akuades steril dan kontrol positif yaitu *chlorhexidine* 0,2%. Berdasarkan Grafik pada Gambar 2 menunjukkan pada waktu 24 jam viabilitas bakteri menurun seiring dengan pertambahan jumlah konsentrasi dan konsentrasi 1,5% menunjukkan viabilitas bakteri paling rendah. Berdasarkan hasil penelitian pada konsentrasi 1,5% menunjukkan jumlah bakteri sebanyak $6,9 \times 10^5$ CFU/ml. Tingkat viabilitas bakteri berbanding terbalik dengan pertambahan jumlah konsentrasi asap cair, semakin besar konsentrasi asap cair batang manggis (*G. mangostana* L) maka tingkat viabilitas bakteri semakin kecil. Hal ini terjadi karena semakin besar konsentrasi asap cair maka semakin besar kandungan senyawa fenol, sehingga mempengaruhi tingkat pertumbuhan dan viabilitas bakteri (Arizona *et al.*, 2011).

Berdasarkan uji lanjut Tukey menunjukkan bahwa viabilitas *Streptococcus* sp. (L.10.3) menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan kontrol negatif dan kontrol positif. Hal ini diduga karena pada perlakuan kontrol negatif menggunakan akuades steril yang tidak mengandung senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Menurut Moat, (1979) air berperan sebagai pelarut serta alat pengangkut pada proses metabolisme, sehingga air tidak menghambat pertumbuhan bakteri tetapi mendukung pertumbuhan bakteri.

Kontrol positif dalam penelitian ini menggunakan *chlorhexidine* 0,2% sebagai zat antibakteri. *Chlorhexidine* 0,2% mempunyai persentase penghambatan hingga 99,9% terhadap *Streptococcus* sp. (L.10.3). Kandungan bahan dasar *chlorine* merupakan desinfektan tingkat tinggi karena sangat aktif pada semua bakteri, virus, fungi, parasit, dan beberapa spora (Priyanto, 1996). Menurut penelitian Mervrayano (2015), obat kumur yang mengandung *chlorhexidine* 0,2% lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri golongan *Streptococcus* dibandingkan dengan *povidone iodine* yang menunjukkan perbedaan zona hambat sebesar 11,8 mm. *Chlorhexidine* bekerja dengan cara merusak lapisan luar sel, melintasi dinding sel dan menyerang sitoplasmik bakteri. Hal tersebut mengakibatkan keluarnya kandungan intraseluler sel bakteri dan mengakibatkan kematian pada bakteri (Priyanto, 1996).

Jumlah bakteri *Streptococcus* sp. (L.10.3) setelah diinkubasi dengan asap cair batang manggis (*G. mangostana* L.) paling tinggi terjadi pada konsentrasi 0,1% sebesar $2,5 \times 10^7$ CFU/ml dan jumlah bakteri paling kecil terjadi pada konsentrasi 1,5% sebesar $6,9 \times 10^5$ CFU/ml. Menurut penelitian Luthfi *et al.*, (2015) jumlah bakteri golongan *Streptococcus* pada gigi yang bebas karies yaitu sebesar $5,1 \times 10^5$ CFU/ml dan lebih rendah dari jumlah bakteri golongan *Streptococcus* pada gigi karies sebesar $9,8 \times 10^7$ CFU/ml. Berdasarkan hal ini asap cair batang manggis pada konsentrasi 1,5% efektif dalam mengontrol pertumbuhan *Streptococcus* sp. (L.10.3) sehingga dapat mencegah terjadinya karies gigi.

Perbedaan jumlah bakteri berbanding terbalik dengan persentase penghambatan, yang ditunjukkan semakin tinggi jumlah bakteri (viabilitas bakteri) maka persentase penghambatan semakin rendah. Hal ini karena asap cair batang manggis mengandung senyawa fenol yang menghambat pertumbuhan bakteri, sehingga mempengaruhi tingkat persentase penghambatan. Hasil penelitian menunjukkan penghambatan paling efektif terjadi pada konsentrasi 1,5%. Konsentrasi 1,5% dinyatakan efektif karena menunjukkan nilai viabilitas yang rendah dengan nilai penghambatan sebesar 96,9%. Selain itu berdasarkan hasil uji lanjut Tukey asap cair batang manggis (*G. mangostana* L.) pada konsentrasi 0,5% menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata dengan *chlorhexidine* 0,2%.

Perbedaan jumlah *Streptococcus* sp. (L.10.3) serta persentase penghambatan masing-masing konsentrasi dipengaruhi kandungan senyawa asap cair yang memiliki aktivitas antibakteri. Asap cair mengandung senyawa fenol dan asam seperti asam asetat, propionat, butirat, dan valerat (Fachraniah *et al.*, 2009). Menurut Akbar *et al.*, (2013) asap cair juga mengandung senyawa formaldehid, dimana Menurut Girrard (1992), kombinasi senyawa fenol, formaldehid serta senyawa asam di dalam asap cair mampu membunuh bakteri.

Fenol dapat melarutkan lipid pada dinding sel, sehingga fenol akan berdifusi ke dalam sel dan mengganggu kinerja membran sitoplasma serta menghambat ikatan ATP-ase yang menyebabkan sel menjadi lisis sehingga pertumbuhan bakteri terhambat (Turgis *et al.*, 2009). Soekardjo, (1995) juga menyatakan bahwa fenol dapat merusak sulfhidril dari protein, dan DNA sehingga efektif membunuh bakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbar, A, Paindoan, R & Coniwanti, P, 2013, 'Pengaruh Variabel Waktu dan Temperatur *Yanometra couliflora*', *Jurnal Teknik Kimia*, Vol.1, No.18
- Arizona, R, Edi, S & Yuny, E, 2011, 'Pengaruh Konsentrasi Asap Cair Tempurung Kenari Dan Lama Penyimpanan Terhadap Kualitas Kimia Dan Fisik Daging', *Jurnal Buletin Peternakan*, Vol. 35 No.1, hal. 50-56
- Budiarso, F & Ronald, IO, 2014, 'Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Resisten Merkuri Dalam Urine, Feses, Dan Karang Gigi Pada Individu Di Daerah Pesisir Pantai Desa Wineru Kecamatan Likupang Timur Kabupaten Minahasa Utara', *Bagian Ilmu Kedokteran Pencegahan Fakultas Kedokteran Unsrat*, Vol.1, No.1
- Cowan, ST & Steel's, K., J, 1974, *Manual For The Identification Of Medical Bacteria (Second Edition)*, Cambridge University Press, London
- Departemen Kesehatan RI, 2004, *Pedoman Penyelenggaraan Usaha Kesehatan Gigi Dan Sekolah*, Jakarta
- Departemen Kesehatan RI, 2012, *Rencana Program Pelayanan Kesehatan Gigi dan Mulut*, Direktur Jendral Bina Upaya Kesehatan, Jakarta
- Fachraniah, Zahra, F & Zahratur, R, 2009, 'Peningkatan Kualitas Asap Cair Dengan Distilasi', *Teknik Kimia Politeknik Negri Lhoksaumawe*, Vol.7, No.14
- Ginayati, LM, Faisal & Suhendra, Y, 2015, 'Pemanfaatan Asap Cair Dari Pirolisis Cangkang Kelapa Sawit Sebagai Pengawet Alami Tahu', *Teknik Kimia USU*, Vol.4, No.3
- Girrard, JP, 1992, *Tecnology Of Meat and Meat Product*, Ellis Horwood, New York
- Heriandi, S, & Yuke, H, 2004, 'Identifikasi *Streptococcus mutans* dan *Streptococcus Sobrinus* dengan Morfologi Koloni dan Analisa Biokimia', *Jurnal IJD*, Vol.11, No.3, hal. 106-10
- Holt, JG, Noel R, Krieg, Peter, HA, Sneth, James T & Staley T, Williams, 1995, *Burgety's Manual Of Determinative Bacteriology Edition Ke 9*, Lippincott Williams And Wilkins, New York
- Judoamidjojo, RM, Said, EG & Liesbetini, H, 1989, *Biokonversi*, Pusat Universitas Bioteknologi Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Luthfi, M, Retno I, Ira, A & Yoes, PD, 2015, 'Korelasi Jumlah *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) dan Level Ekspresi Interlukin 8 (IL-8) pada *Severe Early Childhood Caries*', *Artikel Penelitian*, Vol.1, No.2, hal. 142 - 148

- Mervrayano, J, Rahmatini & Elizabeth, B, 2015, 'Perbandingan Efektivitas Obat Kumur yang Mengandung *Chlorhexidine* dengan Povidone Iodine terhadap *Streptococcus mutans*', *Jurnal Kesehatan Andalas*, Vol.4, No.1, hal. 168-171
- Moat, AG, 1979, *Microbial Physiologi*, Jhon Wiley and Sons, New York.
- Nahak, MM, 2013, 'Ekstrak Etanol Daun Beluntas (*Pluchea indica*, L) Dapat Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans*', *Jurnal Kesehatan Gigi*, Vol.1, No.1
- Newman, MG, Carranza, FA., Bulkasez, J, Quiryne, M, Teughels, W & Haake, SK., 2006, *Microbiology of Periodontal Disease in Carranza's Clinical Periodontology*, Saunders Elseviers, Los Angeles.
- Prijantojo, 1996, *Antiseptik Sebagai Obat Kumur dan Peranannya Terhadap Pembentukan Plak Gigi dan Radang Gusi*, Cermin Dunia Kedokteran, Jakarta
- Soekardjo, B & Siswandono, 1995, *Kimia Medisinal*, Surabaya, Airlangga University Press, Surabaya
- Soelama, H, J, Billy, J, Kepel & Krista, S, 2015, 'Uji Minimum Inhibitory, Concentration (Mic) Ekstrak Rumput Laut (*Eucheuma cottonii*) Sebagai Antibakteri Terhadap *Streptococcus mutans*', *Jurnal e-Gigi (eG)*, Vol.3, No.2
- Toelle, N & Viktor, L, 2014, 'Identifikasi dan Karakteristik *Staphylococcus Sp.* dan *Streptococcus Sp.* dari Infeksi Ovarium Pada Ayam Petelur Komersial', *Jurnal Ilmu Ternak*, Vol.1, No.7, hal. 32-37
- Turgis, M, Han J, Caillet S & Lacroix M, 2009, 'Antimicrobial Activity Of Mustard Essential Oil Against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhi*', *jurnal Food Control*, Vol.1, No.20, hal. 1073-1079
- Wardani, AP, 2012, Pengaruh Pemberian Ekstrak Siwak (*Salvadora persica*) Pada Berbagai Konsentrasi Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*, *Skripsi*, Universitas Diponegoro, Semarang
- Waluyo L, 2008, *Teknik dan Metode Dasar dalam Mikrobiologi*. Universitas Muhammadiyah, Malang
- Yefrida, Farrah, A, Indri, TL, Refilda, & Marniati, S, 2009, 'Uji Aktivitas Anti Bakteri Asap Cair Yang Berasal Dari Batang Kayu Manis Dan Kulit Kacang Tanah', *Jurnal Riset Kimia*, Vol.2, No.2
- Yunita, M, Yusuf, H & Rini, Y, 2015, 'Analisis Kuantitatif Mikrobiologi Pada Makanan Penerbangan (*Aerofood Acs*) Garuda Indonesia Berdasarkan Tpc (*Total Plate Count*) Dengan Metode *Pour Plate*', *Jurnal Keteknik Pertanian Tropis dan Biosistem*, Vol.3, No.3, hal. 237-248