

## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Pengertian Karies Gigi**

Karies berasal dari bahasa Latin yaitu *caries* yang artinya kebusukan. Karies gigi adalah suatu proses kronis regresif yang dimulai dengan larutnya mineral email sebagai akibat terganggunya keseimbangan antara email dan sekelilingnya yang disebabkan oleh pembentukan asam mikrobial dari substrat sehingga timbul destruksi komponen-komponen organik yang akhirnya terjadi kavitas. Dengan perkataan lain, dimana prosesnya terjadi terus berjalan ke bagian yang lebih dalam dari gigi sehingga membentuk lubang yang tidak dapat diperbaiki kembali oleh tubuh melalui proses penyembuhan, pada proses ini terjadi demineralisasi yang disebabkan oleh adanya interaksi kuman, karbohidrat yang sesuai pada permukaan gigi dan waktu (Kidd, 2012).

Perkembangan karies dapat berbeda antara satu dan lain orang dari antara populasi satu dan populasi lain. Apabila perkembangannya lambat, mungkin membutuhkan waktu bertahun-tahun lamanya sehingga karies menjadi kavitas besar. Akan tetapi proses yang sama hanya membutuhkan waktu beberapa bulan saja, kalau perkembangannya cepat.

Tanda-tanda karies gigi merupakan suatu keretakan pada email atau kavitas pada gigi, dentin di dalam kavitas lebih lunak dari pada dentin di sekelilingnya, dan merupakan suatu daerah pada email yang mempunyai warna yang berbeda dengan email sekelilingnya (Lamlanto, 2011).

Karies yang berkembang cepat biasanya berwarna agak terang, sedangkan

karies yang berkembang lambat biasanya berwarna agak gelap. Akan tetapi pit (lekukan pada email gigi) dan fisur (bentuk lekukan email gigi pada gigi molar dan pre molar) kadang-kadang berwarna tua, bukan karena karies gigi, tetapi karena noda akibat beberapa makanan.

Karbohidrat yang tertinggal di dalam mulut dan mikroorganisme, merupakan penyebab karies gigi, penyebab karies gigi yang tidak langsung adalah permukaan dan bentuk gigi tersebut. Gigi dan fisur yang dalam mengakibatkan sisa-sisa makanan mudah melekat dan bertahan, sehingga produksi asam oleh bakteri akan berlangsung dengan cepat dan menimbulkan karies gigi (Kidd, 2012).

## 2.2 *Lactobacillus acidophilus*

*Lactobacillus acidophilus* adalah salah satu dari delapan genera umum dari bakteri asam laktat. Tiap genus dan spesiesnya mempunyai karakteristik yang berbeda. Namun, secara umum mereka merupakan bakteri gram positif berbentuk kokus atau batang, bersifat non motil, dan non spora yang memproduksi asam laktat sebagai produk utama dari metabolisme fermentasi dan menggunakan laktosa sebagai sumber karbon utama dalam memproduksi energi (Newman, 2001). *Lactobacillus acidophilus* dapat tumbuh baik dengan oksigen ataupun tanpa oksigen, dan bakteri ini dapat hidup pada lingkungan yang sangat asam sekalipun, seperti pada pH 4-5 atau dibawahnya dan bakteri ini merupakan bakteri homofermentatif yaitu bakteri yang memproduksi asam laktat sebagai satu-satunya produk akhir. Bakteri ini merupakan bakteri *Lactobacillus* yang dikenal sangat baik, umumnya bakteri ini ditemukan di dalam gastro intestinal manusia, hewan, mulut, dan vagina (Byun, 2004).

### 2.2.1 Patogenesis *Lactobacillus acidophilus*

*Lactobacillus acidophilus* sebagai salah satu agen penyebab karies pada gigi manusia oleh karena *Lactobacillus* memproduksi *lactic acid* sebagai hasil akhir dari metabolisme karbohidrat yang lebih kariogenik. *Lactobacillus* bersifat asidurik yang dapat bertoleransi terhadap asam. Keadaan ini memungkinkan bakteri tersebut bertahan dalam plak gigi dan area karies serta berlanjut untuk merusak struktur gigi (Newman, 2001).

*Lactobacillus* diyakini oleh beberapa ahli sebagai penyebab dari karies gigi. Penelitian terakhir menunjukkan bahwa 2 jenis *Lactobacillus* diisolasi dari yoghurt ke enamel yaitu *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus casei* dapat melekat ke enamel chips dengan atau tanpa biofilm saliva (Ahumada et al, 2003). Penelitian lain menyebutkan *Lactobacillus* dilaporkan muncul dengan angka yang tinggi baik pada karies superfisial dan karies yang dalam, yaitu *Lactobacillus acidophilus* memiliki angka yang dominan dibandingkan strain lainnya seperti *L. paracasei*, *L. rhamnosus* dan *L. fermentum* (Byun, 2004). Bakteri *Lactobacillus* yang terdapat pada infeksi saluran akar kurang lebih terdapat sebanyak 30% dan semakin menurun pada saluran akar yang lebih dalam kurang lebih terdapat sebanyak 7-11% (Athanasias, 2007).

### 2.2.2 Metabolisme *Lactobacillus acidophilus*

Hasil penelitian mengenai bakteri penyebab infeksi saluran akar dan jaringan periapikal menyebutkan 80-90% merupakan bakteri gram positif yang sebagian besar adalah fakultatif anaerob dan obligat anaerob (Bergenholtz, 2004). *Lactobacillus acidophilus* merupakan bakteri asam laktat (LAB) homofermentatif obligat yang tumbuh pada kondisi anaerob. Jenis bakteri ini tidak memiliki

sitokrom, porphyrin dan enzim respiratori dan sebagai hasilnya tidak dapat melakukan oksidatif fosforilasi atau pernapasan. Oleh karena itu *Lactobacillus acidophilus* memanfaatkan gula (glukosa, aesculin, cellobiose, galaktosa, laktosa, maltosa, salicin, dan sukrosa) sebagai substrat untuk fermentasi.

*Lactobacillus acidophilus* merupakan flora normal rongga mulut dan tidak bersifat patogen tetapi dikaitkan sebagai bakteri penyebab karies gigi. Hal ini disebabkan bakteri ini mempunyai afinitas transport dalam pengambilan substrat walaupun pada keadaan pH rendah, keadaan ini memungkinkan dapat bertahan dalam plak dan lokasi karies gigi sehingga akan merusak struktur jaringan karies gigi. *Lactobacillus acidophilus* mempunyai kemampuan untuk memetabolisme karbohidrat menjadi asam dan menurunkan pH dan bertahan hidup dalam pH rendah serta memproduksi polisakarida ekstra seluler yang berperan dalam pembentukan matriks plak (Samarayakane, 2005).

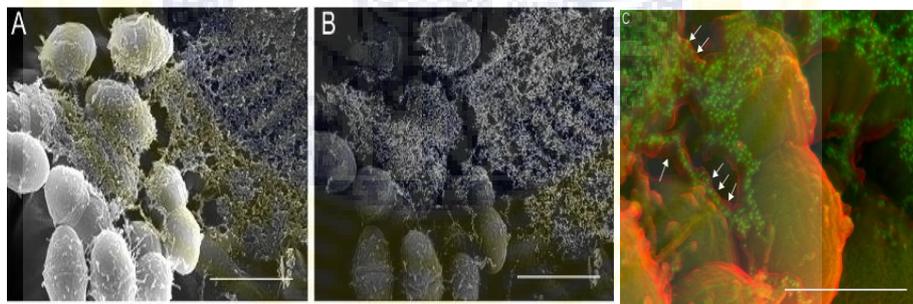
### **2.3 Biofilm**

Biofilm merupakan sekumpulan mikroba dalam suatu komunitas dinamik dalam interaksi antar sel yang melekat pada suatu substansi padat dan terlapisi suatu matriks dari substansi polimer ekstraseluler. Mikroorganisme pada komunitas biofilm harus memiliki 4 kriteria, yaitu (Narayanan, 2010) :

1. Mempunyai kemampuan untuk mengorganisir diri (autopoiesis)
2. Dapat menolak gangguan dari lingkungan (homeostasis)
3. Efektif dalam suatu asosiasi daripada saat terisolasi (sinergi)
4. Merespon perubahan lingkungan sebagai satu kesatuan (komunitas)

### 2.3.1 Struktur Biofilm

Biofilm merupakan matriks polisakarida yang menutupi populasi bakteri yang saling melekat satu sama lain atau melekat pada permukaan atau antar permukaan. Biofilm merupakan selapis tipis kondensasi mikroorganisme yang dapat terdiri atas bakteri, jamur, atau protozoa. Bakteri yang mengambang juga dikenal sebagai bakteri *planktonik*, terdapat di dalam maupun di luar biofilm. Komposisi biofilm terdiri atas sel-sel mikroorganisme, produk seluler, dentritus, polisakarida sebagai bahan pelekat, dan air yang merupakan bahan penyusun utama biofilm dengan kandungan hingga 97%. Polisakarida yang diproduksi oleh mikroba untuk membentuk biofilm termasuk *ekstraseluler polimer matriks* (EPM), merupakan polisakarida yang dikeluarkan dari dalam sel. EPM yang disintesis oleh sel mikroba berbeda komposisi serta sifat kimia fisiknya (Usha *et al.*, 2010).



Gambar 2.1 Lapisan pembungkus yang tebal dari matriks ekstraseluler menyusun biofilm

(Barnes *et al.*, 2012).

Biofilm merupakan aspek fisiologi mikroba, yang hampir semua spesies bakteri dapat membentuknya. Struktur multiseluler biofilm memungkinkan bakteri melakukan dormansi dan hibernasi, sehingga bakteri dapat bertahan hidup untuk menyebarkan genomnya (Bordi and Bentzmann, 2011). Biofilm yang dibentuk oleh spesies berbeda biasanya mudah dibedakan satu sama lain.

Demikian pula pada biofilm yang dibentuk oleh strain yang berbeda dari satu spesies. Perbedaan dalam struktur biofilm menunjukkan perbedaan dalam komposisi matriks ekstraseluler. Mikrokoloni biofilm dapat terbentuk dari populasi spesies tunggal atau beberapa spesies bakteri, hal ini tergantung pada parameter lingkungan dimana biofilm terbentuk. Kondisi lingkungan seperti permukaan perlekatan, ketersediaan nutrisi, komposisi komunitas mikroba, dan hidrodinamika dapat mempengaruhi struktur biofilm (Davey and O'toole, 2000).

### 2.3.2 Proses Pembentukan Biofilm

*Quorum-sensing* adalah proses komunikasi kimia antar bakteri, yang didefinisikan sebagai regulasi gen dalam menanggapi kepadatan sel yang mempengaruhi berbagai fungsi virulensi, toleransi asam, dan pembentukan biofilm. Bakteri dalam biofilm mencapai kepadatan sel yang tinggi, sehingga *quorum-sensing* menjadi salah satu fungsi bakteri yang penting. *Autoinducer-2* (AI-2) adalah salah satu molekul sinyal yang diketahui terkait dengan *quorum-sensing*. Sintesis AI-2 dikatalisis oleh *luxS*, yaitu enzim yang dikode oleh gen *luxS*. Gen tersebut dikonservasi dalam berbagai genom dari bakteri gram positif dan gram negatif. Banyak penelitian menunjukkan bahwa bakteri rongga mulut memiliki sistem *quorum-sensing* yang tergantung pada *luxS* atau AI-2 (Hojo *et al.*, 2009).

Pembentukan biofilm merupakan mekanisme pertahanan bakteri. Proses terbentuknya biofilm dibagi menjadi 5 tahap (Maier, 2009) :

1. Tahap pelekatan awal : pada tahap ini mikroba meleket pada permukaan benda padat dengan perantara fli (rambut halus). Contoh bakteri yang dapat melekat dan membentuk koloni adalah *Pseudomonas aeruginosa*, bakteri gram negatif

dengan molekul sinyal utama homoserin lakton. Pelekatan awal ini disebabkan oleh hydrophobik (tidak larut air, larut diminyak) dan elektrostatik (medan listrik statik).

2. Tahap pelekatan permanen : mikroba semakin menempel dengan diprakarsai oleh matriks polimer ekstraseluler dengan bantuan eksopolisakarida (EPS).  
Contoh : pada tahap 2 *P.aeruginosa* akan berubah menjadi fase flagella.
3. Maturasi I : Terjadi penarikan pada bakteri lain membentuk polisakarida ekstraseluler dan sel bakteri terus tumbuh dan berkembang. Pada tahap ini ketebalan biofilm lebih dari 10  $\mu\text{m}$ . Contoh : pada bakteri *P.aeruginosa* akan berubah menjadi Type IV pili flagella.
4. Maturasi II : Pada tahap ini ketebalan biofilm mencapai 100 mm. Bakteri yang terakumulasi membentuk beberapa lapisan. Bakteri yang ada dilapisan dalam akan lebih terlebih terlindungi dari pada bakteri yang berada pada lapisan luar. Koloni ini akan membentuk nutriennya sendiri, karena bakteri yang mati dapat menjadi nutrisi bagi yang hidup.
5. Dispersi : Pada tahap ini biofilm yang sudah terbentuk dapat mengalami pelepasan sel secara erosi atau slogging. Erosi terjadi secara berkala karena geseran dari cairan yang mengalir. Slogging adalah pelepasan banyak sel yang terjadi secara acak karena adanya perubahan dalam medium pertumbuhan.



Gambar 2.2 Tahapan Pembentukan Biofilm (Maier, 2009)

### 2.3.3 Mekanisme Pertahanan Biofilm

Bakteri rongga mulut dapat bertahan menghadapi oksigen, imunitas host, dan agen antimikroba dengan bekerja sama dengan satu sama lain, melalui pembentukan biofilm sebagai kesatuan *barrier*. Bakteri biofilm menunjukkan resistensi yang lebih tinggi terhadap antimikroba dibandingkan dengan bentuk planktonik yang bebas. Faktor-faktor yang mempengaruhi antara lain; Pertama, adanya ekstraseluler polimer matriks secara fisik membatasi difusi agen antimikroba. Kedua, pertumbuhan yang lambat dalam biofilm berperan terhadap resistensi antimikroba karena kurangnya kepekaan untuk antimikroba yang tergantung pertumbuhan. Ketiga, adanya faktor resistensi, seperti enzim penginaktif obat-obatan. Sebagai contoh,  $\beta$ -laktamase menyebabkan degradasi antibiotik  $\beta$ -laktam. Oleh karena itu, retensi enzim dalam biofilm menguatkan fungsi *barrier* (Hojo, 2009).

### 2.3.4 Fungsi biofilm bagi bakteri

Fungsi utama pembentukan biofilm oleh bakteri adalah untuk bertahan hidup dan melindungi diri dari lingkungan sehingga bakteri dapat tumbuh dengan baik (Madigan MT *et al.*, 2006).

### 1. Pertahanan

Biofilm berfungsi sebagai mekanisme pertahanan bagi bakteri dengan cara meningkatkan resistensi terhadap sel-sel yang dapat membunuh bakteri, fagositosis oleh sel-sel sistem imun tubuh, dan penetrasi dari senyawa beracun seperti antibiotik. Bakteri di dalam biofilm lebih resisten 10-1.000 kali dibandingkan bila tidak di dalam biofilm.

### 2. Pelekatan pada substrat

Dengan menggunakan biofilm, bakteri dapat melekat pada permukaan yang kaya akan nutrisi seperti jaringan sel hewan, atau permukaan substrat pada sistem yang mengalir.

### 3. Kolonisasi

Pembentukan biofilm membantu sel-sel bakteri untuk hidup berdekatan dan membentuk koloni, memfasilitasi komunikasi antar sel dengan molekul sinyal, dan meningkatkan peluang pertukaran materi genetik.

### 4. Cara hidup alami bakteri

Di alam, biofilm adalah cara hidup alami bagi beberapa bakteri tertentu dengan alasan terbatasnya nutrisi, tidak seperti medium buatan yang kaya akan nutrisi bagi bakteri (Madigan MT *et al.*, 2006).

## 2.4 Manggis

### 2.4.1 Tinjauan manggis

Manggis merupakan salah satu buah yang digemari oleh masyarakat Indonesia. Tanaman manggis berasal dari hutan tropis yang teduh di kawasan Asia Tenggara, yaitu hutan belantara Indonesia. Dari Asia Tenggara, tanaman ini menyebar ke daerah Amerika Tengah dan daerah tropis lainnya seperti Filipina,

Papua New Guinea, Kamboja, Thailand, Srilanka, Madagaskar, Honduras, Brazil dan Australia Utara. Manggis merupakan salah satu buah unggulan Indonesia yang memiliki peluang ekspor cukup menjanjikan. Permintaan manggis meningkat dari tahun ke tahun seiring dengan kebutuhan konsumen terhadap buah yang mendapat julukan ratu buah (*Queen of Fruits*). Ekspor manggis dari Indonesia mengalami peningkatan seiring dengan kebutuhan buah manggis dunia terutama Hongkong, Singapura, dan Inggris (Prihatman, 2000). Manggis mempunyai taksonomi yaitu:

Kingdom : *Plantae*  
Subkingdom : *Trachebionta*  
Superdivisi : *Spermatophyta*  
Divisi : *Magnoliophyta*  
Kelas : *Magnoliopsida*  
Subkelas : *Diileniidae*  
Ordo : *Parietales*  
Famili : *Gutiferae*  
Genus : *Garcinia*  
Spesies : *Garcinia mangostana L*

Uji sitoksisitas pada buah manggis sebelumnya pernah dilakukan oleh Torrungruang K dan Chutimaworapan S (2006), pada ekstrak kulit buah manggis dengan konsentrasi 200 µg/ml selama 48 jam ekstrak tidak toksik, akan tetapi ketika konsentrasi ekstrak 400 µg/ml selama 48 jam dan 800 µg/ml selama 24 jam menunjukkan penurunan jumlah fibroblast (Torrungruang & Chutimaworapan, 2006 *cited in* Hayyu 2013).

## 2.4.2 Kandungan Kulit Manggis

Kulit (*pericarp*) manggis akan berwarna hijau jika masih mentah, sedangkan jika sudah matang akan berwarna ungu kemerahan (Mardiana, 2012) kulit manggis dilaporkan menjadi sumber mangostin, tanin, xanthone, chrysanthemine, gartanine, Vitamin B1, B2, C dan bahan bioaktif lain (Moongkarndi, 2004). Selain itu, pada kulit manggis juga terdapat saponin, dan antosianin yang juga mempunyai manfaat bagi tubuh. Hampir semua riset menyebutkan kunci dari khasiat manggis terletak pada kehadiran senyawa aktif *xanthone*, terutama pada alpha mangostin dan gamma mangostin (Mardiana, 2012).

### a. Xanthone

Anti-oksidan yang terdapat dalam kulit buah manggis dengan kadar yang tinggi memiliki sifat yang baik dan bermanfaat bagi tubuh, seperti anti-peradangan, anti-diabetes, anti-kanker, anti-bakteri, anti-jamur, anti-plasmodial, dan mampu meningkatkan kekebalan tubuh, hepatoprotektif. Di dalam senyawa *xanthone* yang paling banyak terkandung dalam buah manggis ialah kandungan *alfa-mangostin* dan *gamma-mangostin*.

### b. Flavonoid

Flavonoid berupa senyawa yang larut dalam air, sebagian dapat di ekstraksi dengan alkohol dan tetap ada dalam lapisan air setelah di ekstrak dikocok dengan eter minyak bumi. Flavonoid mampu membentuk senyawa kompleks dengan protein melalui ikatan hidrogen sehingga struktur tersier protein terganggu dan protein tidak dapat berfungsi lagi maka terjadi denaturasi protein dan asam nukleat. Denaturasi tersebut menyebabkan koagulasi protein dan mengganggu metabolisme dan fungsi fisiologis bakteri. Metabolisme yang terganggu akan

mengakibatkan rusaknya sel secara permanen karena tidak tercukupinya kebutuhan energi (Anwari, 2013).

### **c. Alfa-mangostin**

Alfa-mangostin adalah senyawa yang sangat berkhasiat dalam pembentukan senyawa karsinogen pada kolon. Selain alfa-mangostin, senyawa xanthone juga mengandung gamma-mangostin yang juga memiliki banyak manfaat dalam memberikan proteksi atau melakukan upaya pencegahan terhadap serangan penyakit.

### **d. Tanin**

Tanin adalah senyawa lain yang terkandung dalam kulit buah manggis, memiliki aktifitas anti-oksidan.

### **e. Saponin**

Saponin adalah komponen biaktif yang utamanya diproduksi oleh tanaman, tapi juga oleh beberapa organisme laut dan serangga. Secara kimia, mereka umumnya berbentuk glikosida dari steroid atau *polycyclic triterpenes*. Karena sifat lyobipolar mereka, mereka dapat berinteraksi dengan membran sel dan juga dapat mengurangi tegangan permukaan dari cairan yang mengandung air. Aktivitas ini adalah alasan dari nama “saponin”, diambil dari bahasa Latin “sapo”, yang mengarah pada formasi dari busa stabil yang seperti sabun pada cairan yang mengandung air (Thakur et al., 2011). Secara tradisional, tanaman yang mengandung saponin digunakan untuk mencuci (T.K. Das et al., 2012).

### **f. Antosianin**

Antosianin memiliki kemampuan sebagai anti-oksidan yang baik dan memiliki peranan yang cukup penting dalam mencegah beberapa penyakit seperti

kanker, diabetes, kardiovaskuler, dan neuronal. Antosianin merupakan kelompok pigmen yang terdapat dalam tanaman dan biasanya banyak ditemukan dalam bunga, sayuran maupun buah-buahan seperti manggis, strawberi, rasberi, apel, dan lainnya.

#### **g. Anti-inflamasi (Peradangan)**

Kulit buah manggis memiliki kemampuan sebagai anti-inflamasi (anti-peradangan).

#### **h. Anti-kanker**

Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa kandungan *xanthone* dalam kulit buah manggis mampu berperan sebagai senyawa anti-kanker. Kulit buah manggis memiliki sifat antiproliferasi untuk bisa menghambat pertumbuhan sel kanker, selain juga mampu menghancurkan sel kanker.

#### **i. Anti-mikroba**

Kulit buah manggis juga dikenal memiliki daya anti-mikroba terhadap beberapa bakteri seperti *Staphylococcus aureus*. Bakteri ini sangat resisten terhadap anti-biotik metisilin. (Haryadi, E. 2011)

### **2.4.3 Kandungan Kimia**

Dari penelitian penapisan fitokimia, menunjukkan bahwa kulit buah manggis (*Garcinia mangostana Linn.*) mengandung berbagai kandungan metabolit sekunder yang memperlihatkan aktivitas biologis tertentu. Penelitian yang dilakukan Poeloengan dan Praptiwi (2010) terhadap kulit buah *Garcinia mangostana Linn.* menunjukkan adanya senyawa golongan alkaloid, saponin, triterpenoid, tanin, fenolik, flavonoid, glikosida dan steroid. Kandungan aktif dari ekstrak kulit manggis tersebut diketahui memiliki daya antibiofilm. *Xanthone*

merupakan komponen terbanyak pada kulit manggis dan diduga sebagai komponen kunci yang berfungsi sebagai antimikroba. Saponin adalah salah satu jenis terpenoid yang mempunyai aktivitas antimikroba yang dapat berfungsi sebagai *biofilm dispersant* dengan memecah ikatan bakteri pada biofilm (Donlan, 2011), dan dapat meningkatkan permeabilitas membran sehingga sel bakteri lisis. Tanin adalah suatu senyawa fenol yang memiliki mekanisme merusak membran sel bakteri yang dapat menyebabkan kebocoran intraseluler (Smullen, 2007). Flavonoid, merupakan kelompok senyawa fenol yang mempunyai kecenderungan untuk menghambat sintesa asam nukleat, mengubah permeabilitas membran sel, dan mengganggu metabolisme (Kanwal *et al.*, 2009).

#### **2.4.3.1 Flavonoid**

Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, biru, dan sebagian zat warna kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan. Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon, dimana dua cincin benzene ( $C_6$ ) terikat pada suatu rantai propane ( $C_3$ ) sehingga membentuk suatu susunan ( $C_6 - C_3 - C_6$ ) dan menghasilkan tiga jenis struktur. Senyawa-senyawa flavonoid terdapat dalam semua bagian tumbuhan tinggi, seperti bunga, daun, ranting, buah, kayu, kulit kayu dan akar. Sebagian besar flavonoid alam ditemukan dalam bentuk glikosida, dimana unit flavonoid terikat pada suatu gula. Flavonoid dapat ditemukan sebagai mono-, di-, atau triglikosida, dimana satu, dua, atau tiga gugus hidroksil dalam molekul flavonoid terikat oleh gula (Waji R & Sugrani A, 2009).

Flavonoid, merupakan kelompok senyawa fenol yang mempunyai kecenderungan untuk menghambat sintesa asam nukleat, mengubah permeabilitas membran sel, dan mengganggu metabolisme.

a. Menghambat sintesa asam nukleat

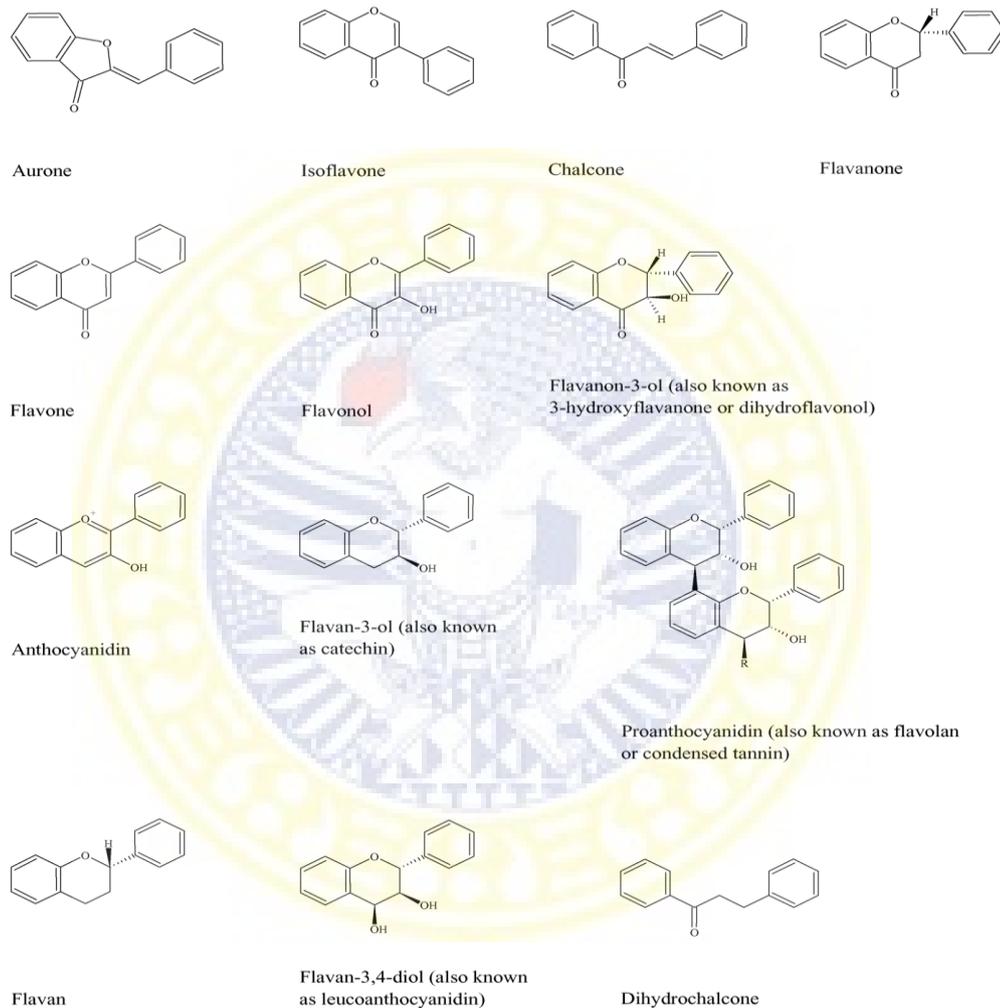
Senyawa flavonoid yang terkandung di dalam ekstrak kulit manggis dapat menghambat sintesa asam nukleat dengan bahan utama pembentuk DNA dan RNA yang menjadi inti genetik dari sel bakteri. Gangguan dalam pembentukan inti sel genetik bakteri dapat menyebabkan terjadinya apoptosis pada sel bakteri. Hal ini disebabkan adanya inhibisi pada synthetic phase saat proses pembentukan DNA ataupun RNA sehingga inti genetik dan pengatur kehidupan sel bakteri tidak terbentuk dan mulai mengalami kematian (Kwon *et al.*, 2010). Cincin B dari flavonoid menghambat perlekatan hidrogen terhadap asam nukleat sehingga menyebabkan terhambatnya sintesis asam nukleat dan protein sel. Selain itu jenis flavonoid yang menghambat asam nukleat adalah *robinectin*, *myricetin*, dan *epigallocatechin* (Cushine, 2005).

b. Mengubah permeabilitas membran sel

Jenis flavonoid yang bersinergi dengan terpenoid yang berperan dalam mengubah permeabilitas sel adalah *galangin*, *quercetin*, *epigallocatechin* yang bekerja dengan mengubah permeabilitas membran sel bakteri yang menyebabkan perubahan sistem pompa  $Na^+$  dan  $K^+$  dalam sel bakteri. Sedangkan terpenoid berikatan dengan protein transmembran yang menyebabkan kerusakan pada transmembran, sehingga memicu terjadinya tahanan ion sodium yang menyebabkan cairan keluar menuju plasma sel dan terjadi pembengkakan sel yang berakhir dengan pecahnya sel bakteri (Agustrina, 2011; Anggraini, 2006).

c. Mengganggu metabolisme

Jenis flavonoid yang menghambat metabolisme adalah *licochalcones* A dan C yang bekerja melalui mekanisme hambatan NADH-cytochrome c reductase yang mengganggu rantai transport elektron (Chusine, 2005).



Gambar 2.3 Struktur kimia kelas utama dari flavonoid (Cushnie, 2005)

## 2.5 *Microtiter Plate Biofilm Assay*

*Microtiter Plate Biofilm Assay* yang sering disebut sebagai *96 well plate assay* adalah metode eksperimental sederhana yang digunakan untuk mengamati perlekatan biofilm mikroba ke permukaan abiotik. Secara singkat, sel tumbuh menjadi biofilm pada *microtiter plate* dalam jangka waktu tertentu dan kemudian *microtiter plate* dicuci untuk menghilangkan bakteri planktonik. Biofilm yang tersisa menempel pada *microtiter plate* yang kemudian diwarnai dengan pewarna *crystal violet* yang memungkinkan visualisasi dari pola attachment kemudian diukur absorbansinya menggunakan *microplate reader* (Merritt *et al.*, 2011).

