

## BAB 6

### PEMBAHASAN

Karies adalah proses demineralisasi jaringan keras gigi akibat aktivitas metabolisme bakteri. Terjadinya karies melibatkan pejamu yang rentan, bakteri penyebab karies, dan substrat untuk bakteri. *Lactobacillus* sangat berperan dalam pembentukan plak gigi yang merupakan faktor utama penyebab karies gigi (Badet and Thebaud, 2008). *Lactobacillus* sering menjadi agen terjadinya lesi karies sekunder yang dapat mempercepat demineralisasi permukaan gigi (Quivey, 2006). Pembentukan biofilm merupakan salah satu mekanisme pertahanan dari kumpulan bakteri. Bakteri dalam bentuk biofilm adalah salah satu proses adaptif yang memungkinkan bakteri untuk bertahan hidup dalam lingkungan nutrisi rendah pada saluran akar (Shrestha *et al*, 2010).

Manggis (*Garcinia mangostana Linn*) merupakan salah satu buah yang telah terbukti memiliki banyak manfaat dalam bidang kesehatan seperti obat sariawan, wasir, dan luka. Kulit buah manggis mengandung beberapa komponen aktif yang mampu digunakan sebagai antibiofilm salah satunya ada flavonoid. Flavonoid merupakan sebuah senyawa polar yang pada umumnya mudah larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol dan aseton. Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol yang mempunyai sifat efektif menghambat pertumbuhan virus, bakteri dan jamur (Dahlan, 2010).

Penelitian eksperimental laboratoris terhadap biofilm bakteri *Lactobacillus acidophilus* ini dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan metode *Microtiter Plate Assay* dengan modifikasi (Merritt *et al*, 2011). Penelitian mendapatkan suatu

nilai yaitu *Optical Density* (OD) biofilm yang diukur menggunakan ELISA reader. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan efek daya hambat flavonoid kulit manggis pada konsentrasi tertentu terhadap biofilm bakteri *Lactobacillus acidophilus*, karena belum pernah dilakukan penelitian yang sama sebelumnya. Ekstrak kulit manggis dilakukan isolasi sehingga dipisahkan senyawa flavonoidnya. Dimana flavonoid telah terbukti memiliki sifat antibakteri dan antibiofilm.

Pada penelitian ini, digunakan flavonoid ekstrak kulit manggis dengan berbagai konsentrasi, yaitu 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%, dan 0,78% dengan tujuan untuk melihat kemampuan menghambat pertumbuhan dari flavonoid kulit manggis. Replikasi pada tiap-tiap konsentrasi dilakukan sebanyak 3 kali. Dan didapatkan hasil berupa nilai OD (*Optical Density*) yang tidak konsisten di beberapa konsentrasi. Dilakukan perhitungan persentase pertumbuhan biofilm dengan menggunakan rumus. Pada konsentrasi 0,78% hingga 25% terjadi penurunan persentase penghambatan. Kemudian mengalami peningkatan persentase penghambatan pada konsentrasi 50% hingga konsentrasi 100%.

Dalam penelitian ini pada kelompok konsentrasi 0,78% hingga konsentrasi 12,5% menunjukkan rata-rata semakin membesar, hal ini disebabkan karena semakin tinggi konsentrasi yang diberikan maka semakin sedikit biofilm yang dihambat. Tetapi pada kelompok konsentrasi 25% 50% dan 100% menunjukkan nilai rata-rata semakin mengecil, hal ini disebabkan karena kepekatan flavonoid ekstrak kulit manggis yang cukup tinggi, sehingga mengakibatkan gangguan dalam pembacaan OD.

Dari data analisis statistik menunjukkan bahwa hasil yang didapatkan tidak homogen karena dapat disebabkan oleh perbedaan variabel waktu pada saat persiapan sampel, salah satunya pada saat pencampuran bahan uji dan biofilm *Lactobacillus acidophilus*. Ada kemungkinan antara satu *well* yang lain terdapat selang waktu perbedaan beberapa detik saat proses pencampuran. Selain itu adanya kesalahan pada saat inkubasi juga dapat mengakibatkan hasil yang bervariasi. Kemudian bisa juga disebabkan oleh prosedur pencucian dari setiap *well* sebelum dilihat nilai *optical density*-nya pada *microplate reader* yang berbeda. Hasil pencucian yang berbeda dimana sampel yang satu lebih bersih dari yang lain juga akan menghasilkan pembacaan absorbansi yang berbeda pada *microplate reader*. Pencucian yang lebih bersih akan memudahkan cahaya saat menembus bahan uji dan menghasilkan absorbansi lebih besar dan nilai *optical density* yang lebih rendah.

Pada pelaksanaannya, terdapat kesulitan dalam mendapatkan hasil yang memenuhi syarat untuk dibaca pada *microplate reader*. Kesulitan tersebut adalah ekstrak yang digunakan memiliki karakter keruh, pekat dan berwarna gelap sehingga hasil pembacaan menjadi sulit. Karena dalam pembacaan nilai OD menggunakan penyerapan warna dari suspensi yang dibaca. Sehingga, pada konsentrasi yang lebih tinggi, kemungkinan didapatkan nilai OD yang lebih rendah dari nilai OD konsentrasi yang lebih tinggi.

Kemungkinan faktor lain yang mempengaruhi nilai persentase penghambatan yang tidak konsisten adalah kemungkinan pilihan, proses dan metode ekstraksi yang kurang tepat, hasil ekstraksi yang begitu keruh, pekat dan berwarna gelap, serta proses pelaksanaan penelitian yang kurang teliti dari segi

waktu, prosedur, kesesuaian penggunaan alat dan bahan selama penelitian berlangsung, serta untuk konsentrasi 25% yang persentase penghambatannya kecil, ada kemungkinan kontaminasi sehingga bahan uji tidak bekerja dengan baik.

Dari pengulangan sebanyak delapan kali ini, hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa semua konsentrasi dapat menghambat pembentukan biofilm yang dihasilkan bakteri *Lactobacillus acidophilus*, karena OD biofilm bakteri yang diberi perlakuan berupa ekstrak selalu lebih rendah dari OD biofilm bakteri yang tidak diberi ekstrak (kontrol positif). Hal ini sesuai dengan teori yang menyebutkan bahwa suatu bahan yang memiliki daya antibiofilm dapat merusak biofilm melalui berbagai cara, diantaranya dengan penetrasi matriks ekstraseluler, mendispersi sel dari biofilm, atau menghilangkan kestabilan EPS pada biofilm (Bueno, 2014).

Hasil penelitian yang menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan tersebut sesuai dengan teori yang ada. Flavonoid kulit manggis terbukti bersifat antibiofilm. Berdasarkan teori, flavonoid memiliki kemampuan untuk merusak membran sel bakteri melalui perusakan *layer lipid* pada membran bakteri dan menyebabkan fungsi pertahanan (*barrier*) membran sel bakteri terganggu. Aktivitas flavonoid tersebut mengakibatkan rusaknya membran sel bakteri, sehingga akan terjadi penurunan fungsi barrier membran bakteri dan terjadi kebocoran intramembran. Hal ini menyebabkan agregasi bakteri menurun sehingga koloni bakteri yang terbentuk pada permukaan juga akan menurun. (Cushnie, 2005). Flavonoid juga mengganggu aktivitas *cell signaling* tersebut dengan menurunkan  $\alpha$ -hemolisin yang merupakan eksotoksin bakteri dan

mengakibatkan perlekatan permanen dan pembentukan koloni pada permukaan gigi dihambat. (Cheung et al, 2002).

Berkaitan dengan penghambatan biofilm, kemampuan senyawa-senyawa flavonoid dalam kelompok fenol dalam membuat enzim bakteri menjadi tidak aktif menyebabkan aktivitas enzim glukosiltransferase yang digunakan bakteri untuk mensintesis sukrosa dalam media menjadi glukukan (EPS). Akibatnya pembentukan biofilm menjadi terhambat karena jumlah glukukan sebagai media perlekatan bakteri sedikit atau terbatas. Hal ini dapat mengindikasikan bahwa senyawa flavonoid dalam fenol dapat menghambat pembentukan biofilm pada bakteri (Ardiana, 2013).

Dari penelitian ini diharapkan ada penelitian lebih lanjut dengan menggunakan metode lain selain perhitungan nilai OD sehingga dapat mengetahui cara yang lebih baik untuk menghambat pertumbuhan biofilm bakteri *Lactobacillus acidophilus*.