

LAPORAN PENELITIAN

Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Mangrove *Acanthus ilicifolius* Terhadap Biofilm *Enterococcus faecalis*

(The Effectivity of Antibacterial of Mangrove *Acanthus ilicifolius* Leaves Extract on Biofilm *Enterococcus faecalis*)

Hariningtyas Dian Rachmawati*, Aprilia**, Kristanti Parisihni***

*Sarjana Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

**Konservasi Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

***Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

ABSTRACT

Background: *Enterococcus faecalis* is one of the bacteria which have ability to form biofilms that can cause persistent endodontic infections. Biofilm is a communities of well-organized bacteria adhere to the surface and coated by layer of extracellular polysaccharide matrix. The extracts of mangrove *Acanthus ilicifolius* leaves have been known to have potentially bioactive compounds as antibacterial such as saponins, alkaloids, terpenoids, and tannins. **Purpose:** The aim of this study was to determine the antibacterial effectiveness of mangrove *Acanthus ilicifolius* leaves extracts to *Enterococcus faecalis* biofilm. **Materials and Methods:** This study was true experimental laboratory with post test only control group design. The sample in this study was *Enterococcus faecalis*, divided into 6 groups consisted of control positive (NaOCl 2.5%) group, and 5 treatment groups of mangrove *Acanthus ilicifolius* leaves extract with different concentration of 60 mg/ml; 70 mg/ml; 80 mg/ml; 90 mg/ml; and 100 mg/ml and be repeated 8 times. *Enterococcus faecalis* bacteria were cultured in media TSBglu incubated for 24 hours. Amount of 0.1 ml of bacteria *Enterococcus faecalis* with concentrations of 10^6 were loaded on microtiter plate then stained with crystal violet. Biofilms checked by measuring optical density (OD) using an ELISA reader. Data were analyzed by One-way ANOVA followed by Post Hoc test. **Result:** *Acanthus ilicifolius* leaves extract decrease the OD of *Enterococcus faecalis* biofilm ($p < 0,05$) in all groups. **Conclusion:** The extract of mangrove *Acanthus ilicifolius* leaves extract have antibacterial efficacy against *Enterococcus faecalis* biofilm.

Keyword: Biofilm *Enterococcus faecalis*, Mangrove *Acanthus ilicifolius* leaves

Correspondence: Aprilia, Department of Conservation, Faculty of Dentistry, Hang Tuah University, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Phone 031-5912191, Email: drq.aprilia.spkg@gmail.com

ABSTRAK

Latar Belakang: *Enterococcus faecalis* adalah salah satu bakteri yang memiliki kemampuan dalam membentuk biofilm yang dapat menyebabkan infeksi persisten endodontik. Biofilm adalah kumpulan bakteri yang terorganisasi dengan baik yang melekat pada permukaan dan terlapisi oleh lapisan matriks ekstraselular polisakarida. Ekstrak daun mangrove *Acanthus ilicifolius* telah diketahui memiliki senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antibakteri seperti saponin, alkaloid, terpenoid, dan tanin. **Tujuan:** Untuk mengetahui efektivitas antibakteri ekstrak daun mangrove *Acanthus ilicifolius* terhadap biofilm *Enterococcus faecalis*. **Bahan dan Metode:** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain penelitian post test only control group design. Sampel penelitian ini menggunakan bakteri *Enterococcus faecalis*, dibagi menjadi 6 kelompok, terdiri dari kontrol positif (NaOCL 2,5%), dan 5 kelompok perlakuan dengan konsentrasi ekstrak daun mangrove *Acanthus ilicifolius* yang berbeda yaitu 60 mg/ml; 70 mg/ml; 80 mg/ml; 90 mg/ml; dan 100 mg/ml dan dilakukan pengulangan sebanyak 8 kali. Bakteri *Enterococcus faecalis* dikultur pada media TSBglu diinkubasi selama semalam. Sebanyak 0,1 ml bakteri *Enterococcus faecalis* dengan konsentrasi 10^6 diisikan pada microtiter plate kemudian di cat dengan crystal violet. Biofilm diperiksa dengan mengukur Optical Density menggunakan ELISA reader. Analisis data menggunakan uji One-way ANOVA dilanjutkan dengan uji Post Hoc. **Hasil:** Pemberian ekstrak daun mangrove *Acanthus ilicifolius* menurunkan OD biofilm *Enterococcus faecalis* ($p < 0,05$) pada semua kelompok. **Simpulan:** Ekstrak daun mangrove *Acanthus ilicifolius* memiliki efektivitas antibakteri terhadap biofilm *Enterococcus faecalis*.

Kata Kunci: Biofilm *Enterococcus faecalis*, Daun mangrove *Acanthus ilicifolius*

Korespondensi: Aprilia, Bagian Konservasi Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hang Tuah, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Telepon 031-5912191, Email: drq.aprilia.spkg@gmail.com

PENDAHULUAN

Karies merupakan salah satu penyebab terjadinya infeksi saluran akar. Bakteri akan menginvasi pulpa melalui jaringan karies dan menyebabkan suatu respon inflamasi yang dapat terus berlanjut serta mengakibatkan terjadinya nekrosis.^{16,34} Pada gigi yang nekrosis, jaringan pulpa akan dimanfaatkan oleh bakteri sebagai media untuk melakukan komunikasi, signaling dan berkolonisasi membentuk biofilm.^{10,32}

Enterococcus faecalis adalah salah satu bakteri karies yang sering ditemukan pada infeksi persisten endodonti.¹² Kemampuannya dalam membentuk biofilm telah lama diketahui sebagai salah satu faktor virulensi

yang dapat memungkinkan bakteri ini lebih resisten terhadap fagositosis, antibodi dan antimikroba.²⁹

Perawatan saluran akar merupakan prosedur yang dilakukan untuk mengeliminasi agen yang dapat menginfeksi saluran akar. Tahapan perawatan saluran akar terdiri dari preparasi, desinfeksi dan obturasi.²⁴ Preparasi mekanis harus selalu diikuti dengan irigasi saluran akar untuk mengeliminasi agen yang dapat mengiritasi seperti mikroorganisme beserta produknya, sisa- sisa jaringan pulpa baik vital maupun nonvital yang tidak dapat dihilangkan dengan proses mekanik.²⁷

Sodium hipoklorit merupakan salah satu bahan irigasi yang efektif untuk melarutkan sisa jaringan pulpa

dan organik dentin serta memiliki sifat antimikroba. Beberapa studi menyatakan bahwa sodium hipoklorit paling efektif menghambat bakteri *Enterococcus faecalis* bila dibandingkan dengan bahan irigasi lain. Disamping efektivitasnya, Sodium hipoklorit memiliki kelemahan yaitu dapat mengiritasi jaringan lunak, bersifat destruktif, serta menimbulkan bau yang tidak menyenangkan.^{1,32}

Acanthus ilicifolius merupakan jenis mangrove sejati yang sudah digunakan sebagai pengobatan tradisional.²¹ Studi mengenai aktivitas antibakteri *Acanthus ilicifolius* yang dilakukan oleh Bakshi and Chaudhuri menunjukkan ekstrak daun *Acanthus ilicifolius* memiliki aktivitas antimikrobal yang maksimal dengan konsentrasi minimal dibandingkan dengan mangrove jenis lain dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus mutans*. Selain itu, ekstrak daun mangrove *Acanthus ilicifolius* memiliki efektivitas yang besar dengan toksisitas yang lebih rendah bila dibandingkan dengan bagian yang lain dari tanaman tersebut^{3,4,6}

Berdasarkan penelitian Govindasamy and Arulpriya, Ekstrak kloroform daun *Acanthus ilicifolius* memiliki senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antibakteri dengan menunjukkan aktivitas maksimum dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus pyogenes* yang merupakan bakteri gram positif yang resisten terhadap beberapa antibiotik.⁷ Ekstrak daun mangrove *Acanthus ilicifolius* memiliki kandungan bioaktif seperti saponin, alkaloid, terpenoid dan tanin yang memiliki potensi sebagai

antibiofilm.⁷ Uji MIC dan MBC ekstrak kloroform daun *Acanthus ilicifolius* pada konsentrasi 0,5 mg/ml hingga 7,5 mg/ml dan 0,5 mg/ml hingga 10 mg/ml menunjukkan nilai MIC 0,5 mg/ml hingga 3 mg/ml dan MBC 2 mg/ml sampai 4 mg/ml.⁷

Berdasarkan penelitian-penelitian diatas, ekstrak daun *Acanthus ilicifolius* memiliki potensi dalam menghambat pembentukan biofilm. Namun hingga kini belum ada penelitian mengenai efektivitas ekstrak daun *Acanthus ilicifolius* terhadap biofilm bakteri *Enterococcus faecalis*. Maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah ekstrak daun *Acanthus ilicifolius* dapat menghambat pembentukan biofilm bakteri *Enterococcus faecalis* dengan konsentrasi 60 mg/ml; 70 mg/ml; 80 mg/ml; 90 mg/ml dan 100 mg/ml.

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian *true* eksperimental laboratoris secara *in-vitro* dengan desain *post test only control group design*.³⁰ Objek penelitian dibagi menjadi 6 kelompok, yaitu kelompok kontrol positif (K+) yang diberikan larutan NaOCL 2,5%, dan kelompok perlakuan (P) sebanyak 5 kelompok yang diberi ekstrak daun mangrove *Acanthus ilicifolius* dengan konsentrasi yang berbeda, yaitu: 60 mg/ml; 70 mg/ml; 80 mg/ml; 90 mg/ml; 100 mg/ml. Masing- masing kelompok terdiri dari 8 sampel. Sampel dari penelitian ini yaitu biofilm spesies tunggal yang dibiakan dari stok bakteri *E.faecalis* ATCC 29212 pada media *trypticase soy broth* (TSB).

Metode ekstraksi

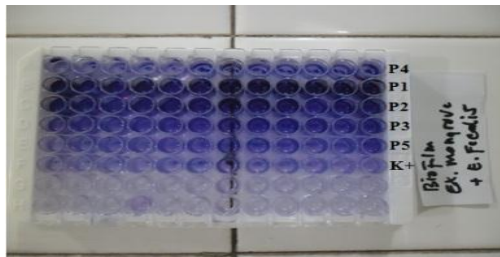
Ekstrak yang digunakan adalah daun mangrove *Acanthus ilicifolius* yang didapat dari Ekowisata Mangrove Wonorejo Surabaya. Daun mangrove dipetik pagi hari karena daun masih dalam keadaan segar, dipilih pada bagian tengah dan bawah yang berwarna hijau serta memiliki kualitas yang baik.³³ Daun mangrove *Acanthus ilicifolius* segar dicuci dengan menggunakan air bersih, kemudian ditiriskan dan dipotong kecil-kecil, diangin-anginkan di dalam ruangan yang memiliki sirkulasi udara yang baik dengan temperatur ruangan 25-30°C selama ± 7 hari hingga sampel kering yang ditandai dengan adanya warna kecoklatan pada daun. Setelah itu, daun yang kering dihaluskan menggunakan blender hingga berbentuk serbuk. Metode ekstraksi mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Syarifuddin (2014) dengan cara sebagai berikut: Sebanyak 500 gram serbuk tersebut dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan ditambahkan pelarut kloroform, kemudian di goyang selama 1 jam untuk mencapai kondisi homogen dalam *water bath* dengan kecepatan 120 rpm (*rotary per minutes*). Selanjutnya larutan dimaserasi selama 24 jam pada suhu kamar. Setelah 24 jam, larutan difiltrasi dengan menggunakan penyaring *Buchner* sehingga menghasilkan residu penyaringan. Kemudian residu penyaringan di angin anginkan dan dilakukan maserasi ulang selama 24 jam. Maserasi diulang sampai 3 kali. Lalu semua hasil saringan dicampur menjadi satu dan dipisahkan menggunakan *rotary vaccum evaporator* dengan suhu 60°C sampai didapatkan ekstrak pekat. Setelah proses pengekstrakan selesai,

tahap berikutnya adalah proses pelarutan ekstrak dengan pelarut DMSO 1%. Ekstrak dilarutkan dalam bahan pelarut hingga diperoleh konsentrasi 60 mg/ml; 70 mg/ml; 80 mg/ml; 90 mg/ml dan 100 mg/ml.

Uji Biofilm

Pembentukan biofilm dan uji daya antibiofilm dilakukan dengan menggunakan metode *congo red agar* dan *microtiter plate assay*. Kultur bakteri *Enterococcus faecalis* pada media *Trypticase soy broth* (TSB) selama semalam kemudian didilusi sampai 1:100 pada TSBglu. Kemudian 0,1 ml bakteri *Enterococcus faecalis* yang telah dikultur pada media TSB dengan konsentrasi 10^6 bakteri/ml diisikan pada 96-well flat bottomed plastic tissue culture plate (*microtiter plate*) kemudian di inkubasi selama semalam pada suhu 37°C.

Ekstrak mangrove *Acanthus ilicifolius* diaplikasikan ke dalam masing masing 96-well flat bottomed plastic tissue culture plate (*microtiter plate*) kemudian diinkubasi selama semalam pada suhu 37°C. Isi dari masing masing 96-well flat bottomed plastic tissue culture plate (*microtiter plate*) diaspirasi dan dicuci 3 kali dengan 0,2ml *Phosphate buffered saline* (pH 7,3) dengan menggunakan pipet. Kemudian mikroorganisme biofilm yang menempel pada 96-well flat bottomed plastic tissue culture plate (*microtiter plate*) di cat dengan *crystal violet*. Setelah itu, dilakukan pembilasan dengan menggunakan *aquadest* dan dikeringkan.



Gambar 1. Pewarnaan dengan *crystal violet* pada biofilm *Enterococcus faecalis*.

Analisa kuantitatif pembentukan biofilm dilakukan dengan menambahkan 0,2 ml isopropanol di setiap 96-well flat bottomed plastic tissue culture plate (microtiter plate). Pengukuran optical density (OD) dilakukan dengan menggunakan ELISA reader dengan panjang gelombang 570 nm. Prosedur ini dilakukan pengulangan sebanyak 8 kali. Data yang diperoleh adalah data kuantitatif dari pembacaan Elisa reader dengan satuan Optical Density setiap 96-well flatbottomed plastic tissue culture plate yang diberi perlakuan yang berbeda, yaitu ekstrak daun *Acanthus ilicifolius* dengan konsentrasi 60 mg/ml; 70 mg/ml; 80 mg/ml; 90 mg/ml dan 100 mg/ml. dan sebagai kontrol positif 96-well flatbottomed plastic tissue culture plate dengan larutan NaOCL 2,5%. Data dari setiap penelitian diuji menggunakan uji one way analysis of varians (ANOVA) dengan tingkat kesalahan 5% ($p < 0,05$) dan dilanjutkan dengan Uji LSD menggunakan SPSS versi 20.

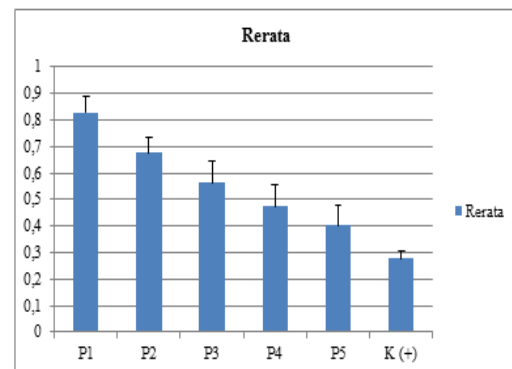
HASIL

Hasil penelitian yang menunjukkan adanya pengaruh ekstrak mangrove *Acanthus ilicifolius* terhadap biofilm *Enterococcus faecalis* pada konsentrasi 60 mg/ml; 70 mg/ml; 80 mg/ml; 90 mg/ml dan 100 mg/ml.

Data dari hasil penelitian dianalisis secara deskriptif untuk mendapatkan gambaran distribusi dan peringkasan data guna memperjelas penyajian hasil penelitian.

Tabel 1. Nilai rerata OD biofilm *Enterococcus faecalis*

Kelompok	Replikasi	Rerata	Std. deviasi
K(+)	8	0,27	0,030719
P1	8	0,82	0,058674
P2	8	0,67	0,059266
P3	8	0,56	0,079695
P4	8	0,47	0,082940
P5	8	0,40	0,075437
Total	48		



Gambar 2. Grafik rerata OD biofilm *Enterococcus faecalis*. Keterangan: K(+) (NaOCL 2,5%); P1 (ekstrak 60 mg/ml); P2 (ekstrak 70 mg/ml); P3 (ekstrak 80 mg/ml); P4 (ekstrak 90 mg/ml); P5 (ekstrak 100 mg/ml)

Berdasarkan grafik rerata OD biofilm *E. faecalis* menunjukkan bahwa NaOCL 2.5% memiliki efektifitas terbesar terhadap biofilm *E. faecalis* dibandingkan dengan ekstrak mangrove dalam berbagai konsentrasi. Hal ini dibuktikan dengan nilai rerata OD yang rendah. Penurunan nilai OD pada kelompok perlakuan terlihat dengan semakin meningkatnya konsentrasi ekstrak mangrove *Acanthus ilicifolius*. Sedangkan ekstrak daun mangrove 60 mg/ml memiliki efek antibiofilm

terendah dibandingkan dengan konsentrasi yang lain.

Dilakukan uji ANOVA untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan daya antibakteri kelompok perlakuan yaitu ekstrak daun mangrove *Acanthus ilicifolius* terhadap biofilm *E.faecalis*. berdasarkan hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa nilai signifikasi adalah 0,000 ($p < 0,05$), maka dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan daya antibakteri yang bermakna antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol positif.

Hasil Uji *LSD* diketahui bahwa terdapat perbedaan nilai OD biofilm yang bermakna pada kelompok kontrol positif dan semua kelompok perlakuan. Hal ini dibuktikan dengan nilai signifikasi setiap kelompok yaitu $p < 0,05$.

PEMBAHASAN

Biofilm adalah kumpulan bakteri yang terorganisasi dengan baik yang melekat pada permukaan dan terlapis oleh lapisan matriks ekstraselular polisakarida.¹⁷ Pada penelitian ini dilakukan identifikasi terlebih dahulu pada bakteri *Enterococcus faecalis* dalam membentuk biofilm secara kualitatif dengan metode *congo red agar* kemudian dilanjutkan dengan metode *Microtiter plate assay*. Metode ini dipilih karena cepat, mudah, sederhana, akurat dan memiliki sensitifitas 97,1%, spesifisitas 97,5% dan ketepatan 97,2% dalam mendeteksi perlekatan biofilm.^{13,25}

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 yang diperoleh dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan surabaya. Stok bakteri *Enterococcus faecalis*

kemudian dikultur pada media TSB*glu*. Berdasarkan penelitian Baldassarri *et al* dalam Mohamed and Huang DB media *Trypticase soy broth* dengan *glucose* (TSB*glu*) merupakan media yang efektif untuk pembentukan biofilm oleh bakteri.¹⁵

Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak daun mangrove *Acanthus ilicifolius* yang didapat dari Ekowisata Mangrove Wonorejo Surabaya, kemudian dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi di Laboratorium Farmasi Universitas Surabaya dengan menggunakan pelarut kloroform. Hal ini bertujuan untuk mengeluarkan kandungan senyawa antibakteri baik yang bersifat polar maupun non polar. Kloroform merupakan pelarut semi polar yang efektif untuk melarutkan senyawa organik dan sering digunakan sebagai pelarut di laboratorium karena sifatnya yang memungkinkan untuk menarik senyawa polar maupun non polar.²² Setelah dilakukan ekstraksi didapatkan ekstrak daun mangrove *Acanthus ilicifolius* 100% dengan konsistensi kental yang kemudian akan dipecah menjadi beberapa konsentrasi dengan menggunakan pelarut DMSO 1%.

DMSO digunakan sebagai pengencer ekstrak daun mangrove *Acanthus ilicifolius* menjadi beberapa konsentrasi, karena sebelumnya peneliti telah melakukan uji homogen ekstrak daun mangrove *Acanthus ilicifolius* dengan menggunakan aquadest dan DMSO 1%. Berdasarkan hasil uji homogen tersebut, ekstrak daun mangrove *Acanthus ilicifolius* lebih homogen pada DMSO 1% dibandingkan dengan aquadest. Selain itu, konsentrasi DMSO 1% tidak memiliki sifat antibakteri yang akan

mempengaruhi efektivitas dari ekstrak terhadap biofilm.¹¹

Konsentrasi awal ekstrak daun mangrove *Acanthus ilicifolius* yang diteliti yaitu 0,125 mg/ml; 0,25mg/ml; 0,5mg/ml; 1mg/ml; dan 2mg/ml mengacu pada penelitian Govindasamy and Arulpriya (2013). Dilakukan penelitian pendahuluan untuk menentukan konsentrasi minimal dari ekstrak daun mangrove *Acanthus ilicifolius* yang dapat menghambat pembentukan biofilm *Enterococcus faecalis*. Pada penelitian pendahuluan ini, konsentrasi awal tidak dapat digunakan dalam penelitian karena tidak stabil, hal ini mungkin disebabkan karena konsentrasi awal merupakan konsentrasi minimal dalam menghambat bakteri dalam bentuk planktonik, sedangkan bakteri dalam bentuk biofilm memiliki tingkat resisten 1000 kali lebih besar dibanding bakteri dalam bentuk planktonik, sehingga pada konsentrasi tersebut tidak memiliki efek terhadap biofilm *Enterococcus faecalis*.²⁹

Dilakukan uji eksplorasi konsentrasi untuk mencari konsentrasi yang akan digunakan dalam penelitian ini. Berdasarkan uji eksplorasi konsentrasi pada penelitian pendahuluan, konsentrasi ekstrak yang digunakan sebagai acuan dalam penelitian ini yaitu 60 mg/ml; 70 mg/ml; 80 mg/ml; 90 mg/ml dan 100 mg/ml. Konsentrasi terbesar dalam penelitian ini (100 mg/ml) diperkirakan masih dalam batas yang aman. Hal ini berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Rahmatullah *et al* yang menunjukkan bahwa uji sitotoksitas ekstrak daun *Acanthus ilicifolius* dengan pelarut kloroform pada *brine shrimp Artemia salina* memiliki nilai LC₅₀ 33,650 mg/ml.²³

Nilai rerata OD biofilm didapatkan dari *Elisa reader* dan dianalisa dengan SPSS versi 20. Dilakukan uji parametrik yaitu *One-way ANOVA* dengan tingkat kesalahan 5% ($p < 0,05$). Ekstrak daun mangrove *Acanthus ilicifolius* 100 mg/ml memiliki nilai signifikan ($p < 0,05$) dengan rerata OD biofilm paling kecil yaitu 0,40 apabila dibandingkan dengan konsentrasi lain. Akan tetapi, hasil tersebut masih lebih besar dibandingkan dengan nilai rerata OD biofilm pada kelompok kontrol positif (NaOCL 2,5%) yaitu sebesar 0,28 dengan nilai signifikan ($p < 0,05$). Hal ini mungkin disebabkan karena kandungan antibakteri didalam ekstrak daun mangrove *Acanthus ilicifolius* tidak sebesar kandungan antibakteri pada NaOCL.

NaOCL 2,5% digunakan sebagai kontrol positif pada penelitian ini karena, Sodium hipoklorit merupakan larutan irigasi yang paling efektif menghambat bakteri *Enterococcus faecalis* dibandingkan dengan bahan irigasi lain.²⁸ NaOCL merupakan antimikroba spektrum luas. Sifat germisidal dari larutan NaOCL tergantung dari konsentrasi HOCL. HOCL dan -OCL dapat berpenetrasi ke dalam dinding dan membran sel mikroba, sehingga menyebabkan penghambatan aktivitas enzim yang penting untuk pertumbuhan, dan menyebabkan kerusakan pada membran dan DNA.⁵

Namun NaOCL memiliki beberapa kelemahan seperti menimbulkan bau dan rasa yang tidak menyenangkan, mengiritasi jaringan lunak yang vital, bersifat destruktif, dapat mempengaruhi sifat mekanik dentin oleh karena degradasi komponen organik dentin dan bersifat korosif terhadap bahan- bahan bersifat

logam.^{1,14,32} Sehingga bahan alami seperti ekstrak daun mangrove *Acanthus ilicifolius* dapat dikembangkan sebagai alternatif bahan irigasi pada perawatan saluran akar.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak daun mangrove *Acanthus ilicifolius* maka semakin kecil rerata OD biofilm. Hal ini diperkirakan karena, semakin besar konsentrasi yang digunakan, maka kandungan senyawa antibakteri yang terdapat dalam ekstrak tersebut semakin besar. Berdasarkan penelitian Govindasamy and Arulpriya ekstrak daun mangrove *Acanthus ilicifolius* memiliki senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antibakteri seperti saponin, alkaloid, terpenoid, dan tannin.⁷

Saponin, alkaloid, terpenoid, dan tannin memiliki kemampuan dalam mengganggu integritas membran sel bakteri sehingga dapat menyebabkan lisisnya sel bakteri. Dengan lisisnya sel bakteri tersebut, diharapkan tidak terjadi pembentukan biofilm. Senyawa tannin memiliki kemampuan secara langsung dalam menghambat pembentukan biofilm dengan cara menghambat produksi enzim, mengganggu reaksi enzimatik dan menurunkan ion kalsium yang berperan dalam proses koagulasi plasma. Dimana proses koagulasi plasma ini dibutuhkan oleh bakteri untuk membentuk biofilm. Dengan adanya tannin, proses koagulasi plasma akan terhambat sehingga diharapkan tidak terjadi pembentukan biofilm.^{2,8,9,22,26} Pada penelitian ini digunakan *whole* ekstrak dari daun mangrove *Acanthus ilicifolius* sehingga belum diketahui kandungan mana yang paling banyak yang berperan sebagai antibiofilm.

Penelitian ini perlu dikembangkan untuk mencari konsentrasi yang efektif yang dapat diaplikasikan sebagai alternatif bahan irigasi. Dalam penelitian ini peneliti tidak dapat meningkatkan konsentrasi diatas 100 mg/ml, karena karakter dari ekstrak daun mangrove *Acanthus ilicifolius* yang lengket dan berwarna pekat. Hal ini dapat menyebabkan gangguan pada saat pembacaan pada *Elisa reader*. Untuk itu pada penelitian berikutnya, dapat digunakan metode lain untuk mengetahui efektifitas ekstrak daun mangrove *Acanthus ilicifolius* terhadap biofilm. Selain itu, karakter dari daun mangrove tersebut, merupakan salah satu kendala dalam penggunaannya sebagai bahan alternatif bahan irigasi saluran akar. Dikhawatirkan kepekatan warna dari ekstrak daun mangrove *Acanthus ilicifolius* dapat menyebabkan perubahan warna pada gigi. Sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji perubahan warna gigi setelah diaplikasikan ekstrak daun mangrove *Acanthus ilicifolius*.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa ekstrak daun mangrove *Acanthus ilicifolius* memiliki efektivitas antibakteri terhadap biofilm *Enterococcus faecalis* pada konsentrasi 60 mg/ml; 70 mg/ml; 80 mg/ml; 90 mg/ml dan 100 mg/ml. Konsentrasi 100 mg/ml merupakan konsentrasi terbesar dalam penelitian ini dan merupakan konsentrasi yang paling efektif pada terhadap biofilm *Enterococcus faecalis*.

DAFTAR PUSTAKA

1. AAE. 2011. Endodontics: Colleagues for Excellence, Root Canal Irrigants and Disinfectant. American Association of Endodontics.
2. Akiyama H, Fujii K, Yamasaki O, Oono T, Iwatsuki K. 2001. Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* Vol. 48: 491-487.
3. Bakshi M, Chaudhuri P. 2014. Antimicrobial Potential Of Leaf Extracts Of Ten Mangrove Species From Indian Sundarban. *Int J Pharm Bio Sci* Vol.5(1): 304-294.
4. Firdaus M, Prihanto AW, Nurdiani R. 2013. Antioxidant and cytotoxic activity of *Acanthus ilicifolius* flower. *Asian Pac J Trop Biomed* 3(1): 21-17.
5. Fukuzaki. 2006. Mechanisms of actions of sodium hypochlorite in cleaning and disinfection processes. *Biocontrol Sci.*, 11(4): 157-147.
6. Ganesh S, Vennila JJ. 2010. Screening for Antimicrobial Activity in *Acanthus ilicifolius*. *Science Research*, 2 (5): 315-311.
7. Govindasamy C, Arulpriya M. 2013. Antimicrobial activity of *Achantus ilicifolius*: skin infection pathogens. *Asian Pac J Trop*, 3(3): 183- 180.
8. Gunawan. 2009. Potensi Buah Pare (*Momordica charantia* l) Sebagai Antibakteri *Salmonella typhimurium*. Program Studi Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Mahasaraswati, Denpasar.
9. Handayana A. 2008. Daya Antimikroba infusum jambu air Semarang (*Syzygium samarangense*) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*, In-Vitro. Skripsi. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia.
10. Hojo K, Nagaoka S, Ohshima T, Maeda N. 2009. Bacterial Interactions in Dental Biofilm Development. *J Dent Res*, 88(11): 990-982.
11. Kirby DT, Savage JM, Plotkin BJ. 2014. Menaquinone (Vitamin K2) enhancement of *Staphylococcus aureus* Biofilm Formation. *Journal of Biosciences and Medicines*, 2: 32-26.
12. Kishen A, George S, Kumar R. 2006. *Enterococcus faecalis*-mediated biomineralized biofilm formation on root canal dentine in vitro. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 77A(2).
13. Mathur T, Singhal S, Khan S, Upadhyay DJ, Fatma T, Rattan A. 2006. Detection of biofilm formation among the clinical isolates of staphylococci: An evaluation of three different screening methods. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 24(1):29-25.
14. Mohammadi Z. 2008. Sodium hypochlorite in endodontics: an update review. *International Dental Journal*, 58: 341-329.
15. Mohamed JA, Huang DB. 2007. Biofilm formation by enterococci. *Journal of Medical Microbiology*, 56: 1588–1581.
16. Mulyawati E, 2011. Peran Bahan Disinfeksi Pada Perawatan Saluran Akar. *Maj Ked Desember*, 18(2): 209-205.
17. Nield-gehrig JS, Willmann DE. 2003. Dental Plaque Biofilm. *Foundations of Periodontics for the Dental Hygienist*. P. 6-1.
18. Nugrohowati. 2009. Peran irigan terhadap lapisan smear layer dinding saluran akar. *JITEKGI*, 6(1): 12-9.
19. Preethee T, Kandaswamy D, Hannah R. 2012. Molecular identification of an *Enterococcus faecalis* endocarditis antigen *efaA* in root canals of therapy-resistant endodontic infections. *J Conserv Dent*, 15(4): 322-319.
20. Purnobasuki. 2004. Potensi mangrove sebagai tanaman obat. *Biota IX* (2): 126 - 125.
21. Rachmawati F, Cut Nuria M, Sumantri. 2011. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Kloroform Ekstrak Etanol Pegagan (*Centella Asiatica* (L) Urb) serta Identifikasi Senyawa Aktifnya (online). Available from <http://www.unwahas.ac.id/publikasiilmiah/index.php/ilmuFarmasidanklinik/article/view/372/475>. Diakses 19 Maret 2014.
22. Rahmatullah M, Sk. Md. Imrul Sadeak, Bachar SC, Md. Tozammel Hossain, Abdullah-al-Mamun, Montaha, Jahan N, Chowdhury MH, Jahan R, Nasrin D, Rahman M, Rahman S. 2010. Brine Shrimp Toxicity Study of Different Bangladeshi Medicinal Plants. *Adv. in Nat. Appl. Sci.*, 4(2): 167-163.
23. Rusdiarto I, Samadi K, Wahjuningrum DA. 2013. Penentuan konsentrasi hambat minimal larutan irigasi chlorhexidin terhadap biofilm bakteri *Enterococcus faecalis*. Research report. *Conservative Dentistry Journal*. Vol 3(1): 4-1.
24. Saising J, Singdam S, Ongsakul M, Voravuthikunchai SP. 2012. Lipase, protease, and biofilm as the major virulence factors in staphylococci isolated

- from acne lesions. *BioScience Trends*. 6(4):164-160.
25. Saleem M, Nazir M, Ali MS, Hussain H, Yong Sup Lee, Riaz N, Jabbar A, 2010. Antimicrobial natural products: an update on future antibiotic drug candidates. *Nat. Prod. Rep.*, 27: 254-238.
 26. Soedjono P, Mooduto L, Setyowati L. 2009. Penutupan apeks pada pengisian saluran akar dengan bahan kalsium oksida lebih baik dibanding kalsium hidroksida. *Jurnal PDGI*, 58(2): 5-1.
 27. Spratt DA, Pratten J, Wilson M, Gulabivala K. 2001. An in vitro evaluation of the antimicrobial efficacy of irrigants on biofilms of root canal isolates. *International Endodontic Journal*, 34: 307-300.
 28. Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB. 2006. *Enterococcus faecalis*: Its role in root canal treatment Failure and current concepts in retreatment. *Journal of endodontics*, 32(2): 98-93.
 29. Sudibyo. 2013. *Metodologi penelitian*. Buku 2. Unesa University Press. H. 137.
 30. Syarifuddin A. 2014. *Daya Hambat Ekstrak Daun Asam Jawa (Tamarindus indica Linn.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Enterococcus faecalis*. Skripsi. Universitas Hang Tuah Surabaya.
 31. Torabinejad M, Walton RE. 2008. *Prinsip & praktik ilmu endodontia*. Ed.3. Penerbit buku kedokteran EGC. H. 318, 244-243.
 32. Trubus, 2009. *Minyak Atsiri*. Vol 70. H.147.
 33. Yustina AR, Suardita K, W Dian A. 2012. Peningkatan jumlah osteoklas pada peradangan periapikal akibat induksi lipopolisakarida *Porphyromonas Gingivalis* (suatu penelitian laboratories menggunakan tikus) *JBP*, 14(3): 144-140.