

RESEARCH ARTICLE

Daya Antibakteri Kitosan Kepiting Rajungan (*Portunus Pelagicus*) Terhadap Biofilm *Porphyromonas Gingivalis*

(Chitosan Antibacterial Of *Portunus Pelagicus* Against Biofilm *Porphyromonas Gingivalis*)

Laurencia Isabella Loekito*, Yoifah Rizka**, Fani Pangabdian***

*Mahasiswa Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

**Departemen Periodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

***Departemen Konservasi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

ABSTRACT

Background: *Porphyromonas gingivalis* bacteria are found in dental plaques and have the ability to form biofilms. Biofilms are collections of bacterial cells, which are tightly attached to a surface covered by an extracellular polymer matrix released by the bacteria. Periodontitis therapy generally uses tetracycline antibiotics which if used long-term can cause resistance. Chitosan Rajungan crab extract (*Portunus pelagicus*) has antimicrobial potential which can be used as an alternative therapy.

Objective: To determine the antibacterial power of Rajungan crab chitosan extract (*Portunus pelagicus*) in various concentrations of *Porphyromonas gingivalis* bacterial biofilms. **Method:** This research was true experimental laboratorist. This study used Rajungan crab chitosan extract (*Portunus pelagicus*) to *Porphyromonas gingivalis* biofilm tested by the test method biofilm. Divided into 5 groups, where each group consisted of 4 samples. The control group consisted of: K- (negative control group), K + (positive control group / tetracycline group), and 3 treatment groups, namely P1 (0.25% Rajungan crab chitosan), P2 (0.5% Rajungan crab chitosan), P3 (1% Rajungan crab chitosan). Antibacterial power was determined by the value of Optical density in the ELISA Reader. Data analysis using One Way ANOVA followed by LSD test. **Result:** There were significant differences ($p < 0.05$) seen from the percentage of biofilm inhibition in the negative control group for all groups, the positive control group for the crab crab chitosan extract concentrations of 0.25% and 0.5%. **Conclusion:** The chitosan crab chitosan extract (*Portunus pelagicus*) with 1% concentration has the greatest antibacterial effect on the *Porphyromonas gingivalis* biofilm.

Keywords: *Porphyromonas gingivalis* biofilm, Rajungan crab (*Portunus pelagicus*), Tetracycline.

Correspondence: Yoifah Rizka, Department of Periodontology, Faculty of Dentistry, Hang Tuah University, Arif Rahman Hakim 150, Sukolilo, Surabaya, Phone 08165411815, Email: yoifah.rizka@hangtuah.ac.id

ABSTRAK

Latar belakang : Bakteri *Porphyromonas gingivalis* banyak ditemukan pada plak gigi dan memiliki kemampuan membentuk biofilm. Biofilm adalah kumpulan sel bakteri, yang melekat erat di suatu permukaan yang diselubungi oleh matriks polimer ekstraseluler yang dikeluarkan oleh bakteri tersebut. Terapi periodontitis pada umumnya menggunakan antibiotik tetrasiklin yang jika digunakan jangka panjang dapat menyebabkan resistensi. Ekstrak kitosan kepiting rajungan (*Portunus pelagicus*) mempunyai potensi antimikrobal yang dapat digunakan sebagai alternatif terapi. **Tujuan :** Untuk mengetahui daya antibakteri ekstrak kitosan kepiting rajungan (*Portunus pelagicus*) dalam berbagai konsentrasi terhadap biofilm bakteri *Porphyromonas gingivalis*. **Metode :** Jenis penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimental. Penelitian ini menggunakan ekstrak kitosan kepiting rajungan (*Portunus pelagicus*) terhadap biofilm bakteri *Porphyromonas gingivalis* yang diuji dengan metode uji biofilm. Dibagi menjadi 5 kelompok, dimana tiap kelompok terdiri dari 4 sampel. Kelompok kontrol terdiri atas : K- (kelompok kontrol negatif), K+ (kelompok kontrol positif/kelompok tetrasiklin), dan 3 kelompok perlakuan, yaitu P1(kitosan kepiting rajungan 0,25%), P2 (kitosan kepiting rajungan 0,5%), P3 (kitosan kepiting rajungan 1%). Daya antibakteri ditentukan dengan nilai Optical density pada ELISA Reader. Analisis data menggunakan One Way ANOVA diikuti dengan uji LSD. **Hasil :** Terdapat perbedaan signifikan ($p < 0.05$) dilihat dari persentase penghambatan biofilm pada kelompok kontrol negatif terhadap semua kelompok, kelompok kontrol positif terhadap ekstrak kitosan kepiting rajungan konsentrasi 0.25% dan 0.5%. **Simpulan :** Ekstrak kitosan kepiting rajungan (*Portunus pelagicus*) dengan konsentrasi 1% mempunyai daya antibakteri terhadap biofilm bakteri *Porphyromonas gingivalis* yang paling besar.

Kata kunci : Biofilm *Porphyromonas gingivalis*, kepiting rajungan (*Portunus pelagicus*), Tetrasiklin.

Korespondensi: Yoifah Rizka, Departemen Periodonsia Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hang Tuah, Arif Rahman Hakim 150, Sukolilo, Surabaya, Telp 08165411815, Email: yoifah.rizka@hangtuah.ac.id

PENDAHULUAN

Penyakit periodontal merupakan masalah kesehatan gigi dan mulut yang sering dialami masyarakat Indonesia dengan prevalensi 96,58 persen pada semua kelompok umur.¹ Penyebab utama penyakit periodontal adalah faktor lokal yaitu bakteri plak, dan keadaan ini dapat diperberat oleh keadaan sistemik.² *Porphyromonas gingivalis* merupakan bakteri anaerob gram negatif yang dalam jumlah normal merupakan mikroflora normal yang bisa ditemukan dalam rongga mulut.³

Bakteri *Porphyromonas gingivalis* banyak ditemukan dalam plak gigi, bakteri tersebut menyebabkan perubahan patologik jaringan periodontal. dengan pengaktifan respons imun dan inflamatori inang, dan secara langsung mempengaruhi sel-sel periodonsium.⁴

Biofilm yang terbentuk di permukaan mukosa rongga tubuh dapat menjadi sumber utama infeksi.⁵ Biofilm secara umum memiliki struktur terorganisir yang tersusun

atas mikrokoloni sel bakteri yang terdistribusi secara acak dalam bentuk matriks atau glikokaliks.²

Terapi mekanis yang dilakukan adalah *scaling* dan *root planing*, serta perlu pemeliharaan khusus pada *oral hygiene* rongga mulut. Selanjutnya dilakukan terapi penunjang dengan pemberian antibiotik.^{5,6} Kerugian pemberian antibiotik secara sistemik salah satunya dapat menyebabkan resistensi bakteri.⁷ Dengan adanya kerugian yang ditimbulkan dalam pemakaian antibiotik dalam jangka waktu lama, maka salah satu tindakan yang dapat dilakukan adalah pencegahan dengan mencari terapi alternatif lain.

Kitosan merupakan bahan biomaterial yang digunakan sebagai bahan yang memiliki biokompatibel untuk *wound dressing*, memiliki aktivitas anti infeksi, dan kemampuan untuk mempercepat penyembuhan luka.⁸ Sumber utama kitin dan kitosan ialah cangkang *Crustaceae sp.*, yaitu udang, lobster, kepiting, kerang-kerangan, rajungan serta hewan yang bercangkang lainnya, terutama yang berasal dari laut.⁹

Berdasarkan penelitian Butarbutar (2018) menyatakan bahwa kitosan kepiting rajungan (*Portunus pelagicus*) dengan konsentrasi 0.5%, 1%, 1.5%, 2% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang merupakan salah satu bakteri gram negatif.¹⁰

Berdasarkan data-data diatas, belum ada penelitian tentang daya hambat kitosan kepiting rajungan terhadap biofilm *Porphyrromonas gingivalis*, oleh karena itu penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk melihat efektivitas antibakteri kitosan kepiting rajungan dengan konsentrasi 0,25%, 0,5% dan 1% terhadap *biofilm Porphyrromonas gingivalis* yang

merupakan etiologi utama penyakit periodontal.

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian yang digunakan adalah *true experimental laboratoris*. Penelitian ini dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok kontrol positif (Tetrasiklin 0.7%), kontrol negatif (asam asetat), perlakuan 1 (konsentrasi kitosan 0.25%), perlakuan 2 (konsentrasi kitosan 0.5%), dan perlakuan 3 (konsentrasi kitosan 1%) dimana setiap kelompok terdiri dari 4 sampel.

Kitosan kepiting rajungan (*Portunus pelagicus*) dilarutkan dengan menggunakan asam asetat 1% kemudian dibuat konsentrasi 0.25%, 0.5%, dan 1%.

Uji deteksi pembentukan biofilm bakteri *P. gingivalis* dilakukan dengan metode *congo red agar* (CRA). Bakteri *P. gingivalis* diinokulasikan pada *congo red* agar dan di inkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C dalam suasana anaerob. Periksa *plate* setelah 48 jam, jika terbentuk koloni hitam, maka hal tersebut menunjukkan *strain* bakteri yang memproduksi *biofilm*.

Uji penghambatan biofilm dilakukan dengan metode *microtiter plate assay*. Bakteri dibuat dalam suspensi BHIB dan disetarakan sesuai standart 0.5 McFarland I.

Suspensi bakteri dimasukkan kedalam 96 – *well round bottomed plastic tissue culture plate* (*microtiter plate*) dengan volume total 0.1 mL (100 µl) pada tiap sumuran menggunakan *micropipette*. Penelitian dibagi menjadi 1 *plate* uji dan 1 *plate* blanko. *Plate* uji diisi suspensi bakteri, kemudian dimasukkan dalam *anaerobic jar* dan diinkubasikan pada suhu 37 °C selama 24 jam. Kemudian pengaplikasian ekstrak kitosan

dimasukkan kedalam tiap sumuran dan diinkubasi 24 jam.

Larutan uji dibuang dan dicuci 3 kali dengan 0.2 mL *Phosphat buffer saline*. *Microtiter plate* dikeringkan, dan pemberian *crystal violet* 1% sebanyak 0.2 mL (200 µl) pada tiap sumuran. Dilakukan pembilasan dengan menggunakan akuades dan dikeringkan selama 15 menit dalam inkubator suhu 37°C. Tambahkan Tween 80 2% 0,2 mL di setiap *microtiter plate*.

Hasil uji berupa nilai *optical density* (OD) dibaca menggunakan ELISA reader pada panjang gelombang 509 nm. Daya penghambatan pembentukan biofilm dari larutan uji dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{Penghambatan} = \left(1 - \left(\frac{xODs - xODbs}{xODp} \right) \right) 100\%$$

Keterangan:

ODs : *Optical Density* (509 nm) sampel yang diuji

ODbs : *Optical Density* blanko sampel

ODp : (OD pelarut uji - OD blanko pelarut)

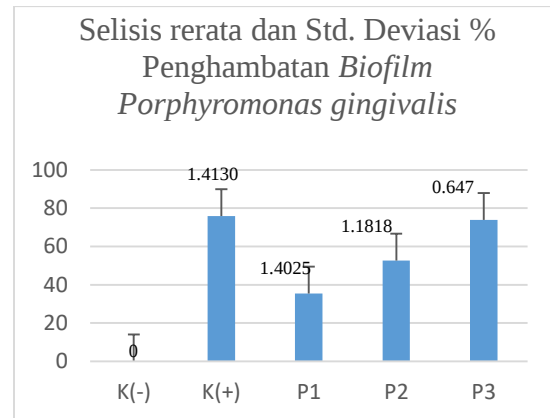
HASIL PENELITIAN

Data hasil penelitian dianalisis secara deskriptif untuk memperoleh gambaran distribusi dan ringkasan data guna memperjelas penyajian hasil.

Tabel 1. Rata-rata % Penghambatan Biofilm Bakteri *Porphyromonas gingivalis*

Kelompok	Rata-rata (%)	Std. Deviasi
K-	0	0
K ⁺	75.9	1.4130
P1	35.3	1.4025
P2	52.6	1.1818
P3	73.8	0.6474

Data diatas menunjukkan rerata persentase penghambatan biofilm bakteri *P. gingivalis* paling tinggi terdapat pada kelompok K⁺ dan rerata persentase penghambatan yang paling rendah pada kelompok K(-).



Gambar 1. Diagram batang rerata dan Std. Deviasi % Penghambatan Biofilm *Porphyromonas gingivalis*.

Berdasarkan gambar rerata persen penghambatan biofilm *Porphyromonas gingivalis* diketahui bahwa tetrasiklin 0,7% dan kelompok perlakuan kitosan keping rajungan memiliki daya antibakteri.

Data tersebut kemudian diuji normalitas terlebih dahulu. Uji normalitas yang digunakan adalah uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa data terdistribusi normal ($p > 0.05$) dan data kemudian diuji homogenitas dengan menggunakan uji *Levene*. Hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa varian data yang diuji adalah homogen ($p > 0.05$)

Tabel 2. Hasil Uji *Post-Hoc LSD*

Kelompok	K (+)	P1	P2	P3
K (-)	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*
K (+)		0.000*	0.000*	0.199
P1			0.000*	0.000*
P2				0.000*

Berdasarkan Tabel 2. Hasil uji *LSD* menunjukkan ada perbedaan nilai persen penghambatan *biofilm* yang signifikan ($p < 0,05$) antar kelompok, kecuali K (+) dengan P3.

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi larutan kitosan kepiting rajungan (*Portunus pelagicus*) terhadap penghambatan pembentukan *biofilm* bakteri *P. gingivalis*

Berdasarkan Gambar diagram batang kelompok kontrol positif tetrasiklin memiliki persentase penghambatan *biofilm P.gingivalis* yang paling tinggi dibandingkan dengan kelompok yang lain, hal ini terbukti bahwa tetrasiklin memiliki daya antibakteri terbesar dalam menghambat *biofilm* bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Tetrasiklin merupakan antibiotika berspektrum luas yang aktif terhadap bakteri gram positif maupun gram negatif yang bekerja merintangi sintesa protein bakteri pada ribosom.¹⁹ Tetrasiklin menghalangi terikatnya RNA (RNA transfer aminoasil) pada situs spesifik di ribosom yaitu pada unit 30S ribosom selama pemanjangan rantai peptide sehingga dapat mengakibatkan kematian sel bakteri. Kematian bakteri tersebut dapat merusak pembentukan *biofilm* sehingga hasil persentase yang di dapatkan tinggi.²⁰

Kontrol negatif yang digunakan adalah asam asetat 1% sebagai pelarut kitosan. Asam asetat adalah pelarut yang bersifat polar, dapat bercampur dengan mudah dengan pelarut polar atau nonpolar sehingga sering digunakan dalam industri

kimia dan laboratorium.²¹ Pada tabel 5.1, kelompok kontrol negatif memiliki persentase penghambatan paling rendah. Hal ini disebabkan karena asam asetat hanya bekerja sebagai pelarut dan tidak memiliki kemampuan mempengaruhi pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*, sehingga *biofilm* yang terbentuk tidak mengalami kerusakan.

Pemberian ekstrak kitosan kepiting rajungan (*Portunus pelagicus*) dengan konsentrasi 0.25%, 0.5% dan 1% menunjukkan peningkatan persentase penghambatan *biofilm* diikuti dengan peningkatan konsentrasi ekstrak kitosan kepiting rajungan (*Portunus pelagicus*). Hal ini dapat terjadi karena ekstrak kitosan menghasilkan penghambatan terhadap *biofilm Porphyromonas gingivalis* yang besar seiring peningkatan konsentrasi kitosan.²² Pada penelitian ini kitosan kepiting rajungan (*Portunus pelagicus*) 1% memiliki persentase penghambatan paling tinggi dibandingkan dengan konsentrasi lain, hal ini menunjukkan bahwa kitosan kepiting rajungan (*Portunus pelagicus*) dengan konsentrasi 1% memiliki daya antibiofilm terbesar apabila dibandingkan dengan konsentrasi lain. Pada konsentrasi 0.25% dan 0.5% memiliki kandungan kitosan yang lebih sedikit sehingga mekanisme antibakteri pada kitosan dengan konsentrasi tersebut tidak bekerja secara maksimal. Jadi persentase penghambatan yang di hasilkan lebih rendah jika dibandingkan dengan konsentrasi kitosan 1%.

Kitosan kepiting rajungan (*Portunus pelagicus*) memiliki mekanisme dengan cara masuk ke dalam sel dan merusak dinding sel bakteri tersebut.^{23,24} Kitosan dapat menembus dan mengganggu matriks polisakarida yang disusun oleh bakteri pembentuk *biofilm* tersebut. Antibakteri yang terdapat pada

kitosan ini dapat mengganggu kumpulan bakteri pembentuk *biofilm*.²⁵

Mekanisme antimikroba kitosan terhadap *biofilm* terjadi melalui beberapa tahap yang pertama melalui gugus fungsional amina pada kitosan yang dapat membentuk ikatan dengan dinding sel bakteri dan mengakibatkan timbulnya kebocoran konstituen intraseluler, kitosan melakukan pengikatan intraseluler, menghalangi mRNA dan menghambat sintesis protein. Dengan lisisnya sel bakteri tersebut, diharapkan tidak terjadi pembentukan *biofilm*.^{24,25}

Dari analisis statistik yang ditunjukkan pada Tabel 5.5, kelompok tetrasiklin 0.7% K(+) dengan kitosan 1% (P3) tidak menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi tersebut memiliki efektivitas yang sama dalam menghambat *biofilm* bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Hal tersebut kemungkinan disebabkan kandungan komponen antibakteri yang hampir sama sehingga tidak menunjukkan perbedaan yang cukup signifikan untuk menghambat pembentukan *biofilm* bakteri *Porphyromonas gingivalis* dan disebabkan oleh konsentrasi kitosan yang digunakan tergolong kecil sehingga kandungan antibakteri yang dihasilkan relatif kecil jika dibandingkan dengan antibakteri pada tetrasiklin. Sehingga untuk meningkatkan aktivitas antibakteri dari kitosan dapat dilakukan peningkatan konsentrasi dari larutan kitosan tersebut.

Ekstrak kitosan keping rajungan (*Portunus pelagicus*) berpotensi dapat dikembangkan sebagai bahan alternatif antimikroba penyebab periodontitis kronis. Penelitian lebih lanjut mengenai penggunaan kitosan keping rajungan (*Portunus pelagicus*) dengan penggunaan konsentrasi lebih dari 1% diharapkan

dapat memberikan efek yang lebih optimal terhadap *biofilm* bakteri *Porphyromonas gingivalis*.

SIMPULAN

Pemberian ekstrak kitosan kitosan keping rajungan (*Portunus pelagicus*) dengan konsentrasi 0.25%, 0.5%, dan 1% mempunyai daya antibakteri terhadap *biofilm* bakteri *Porphyromonas gingivalis*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Wijaksana IKE. 2016. Infectobesity dan Periodontitis: Hubungan Dua Arah Obesitas dan Penyakit Periodontal', *Odonto Dental Journal*, 3(1), pp. 67–73.
2. Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA, 2006, Carranza's Clinical Periodontology 10th, Elsevier Inc. p. 103, 106, 138, 161.
3. Paliling, A., Posangi, J. dan Anindita, P. 2016. Uji daya hambat ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis*, *Jurnal e-GiGi (eG)*, 4, pp. 229–234.
4. Kusumawardani, B., Pujiastuti, P. dan Sari, S. 2010. Uji biokimiawi sistem API 20 A mendeteksi *Porphyromonas gingivalis* isolat klinik dari plak subgingiva pasien periodontitis kronis. *Jurnal PDGI*. 59(3), pp. 110–114.
5. Alibasyah, zulfan M., Andayani, R. dan Farhana, A. 2016. Potensi Antibakteri Ekstrak Jahe (*Zingiber officinale Roscoe*) Terhadap *Porphyromonas gingivalis* Secara In Vitro. *Journal of syiah kuala dentistry society*, 1(2), pp. 175–186.
6. Corvianindya RY dan Brotosoetarno S. 2004. Resistensi Bakteri Oral Biofilm Terhadap Antibiotika Golongan Beta-Laktam, *Ijd*. Available at: <http://jdentistry.ui.ac.id/index.php/JDI/article/viewFile/641/539>.
7. Andriani, I. 2012. Efektivitas Antara Scaling Root Planing (Srp) dengan dan Tanpa Pemberian Ciprofloxacin Per Oral

- Pada Penderita Periodontitis. *Idj*, 1(2), pp. 81–89.
8. Hartono, F. A., Prabowo, P. B. dan Revianti, S. 2015. Aplikasi Gel Kitosan Berat Molekul Tinggi dan Rendah terhadap Ketebalan Epitel Mukosa pada Proses Penyembuhan Luka Pencabutan Gigi. 9(1).
 9. Sartika, irza dewi, Alamsjah, moch. amin and Sugijanto, noor erma nasution. 2009. Isolasi dan Karakterisasi Kitosan dari Cangkang Rajungan (*Portunus pelagicus*).
 10. Butarbutar, Elianora. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Kitosan Berbahan Baku Cangkang Rajungan (*Portunus pelagicus*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Medan : USU.
-