

Research Report

## Perbedaan daya antiglukan NaOCl 2,5% dan ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) 0,09% terhadap *Enterococcus faecalis*

(Comparison of antiglucan activity between NaOCl 2.5% and mangosteen pericarp extract (*Garcinia mangostana* Linn) 0.09% against *Enterococcus faecalis*)

Nabiela Rahardia<sup>1</sup>, M. Rulianto<sup>2</sup>, Dian Agustin Wahjuningrum<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa Program Sarjana Kedokteran Gigi

<sup>2</sup>Staff Departemen Konservasi Gigi

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga

Surabaya – Indonesia

### ABSTRACT

**Background.** Failure of endodontic treatment is commonly caused by the persistent microorganisms remaining in the root canal such as *Enterococcus faecalis*. *Enterococcus faecalis* can form a biofilm in tough environmental conditions within the root canals and caused biofilm-mediated infections which needs more complicated treatment due to the increasing of antimicrobial resistance. The biofilm formation initial and most important step is bacteria adherence to the solid surface that is mediated by glucan. NaOCl 2.5% is a commonly used root canal medicaments but can cause injury of periapical tissue. Mangosteen pericarp extract contains flavonoid, tannin, and xanthone have mechanism for inhibiting adherence of bacterial biofilm. Difference of antibacterial activity between NaOCl 2.5% and mangosteen pericarp extract 0.09% can be determined by experimental laboratory to determine the adherence of bacteria in each treatment. **Purpose.** The aim of this study was to assess the difference of antiglucan activity between NaOCl 2.5% and mangosteen pericarp extract 0.09% on *Enterococcus faecalis*. **Method.** This study was designed as an experimental laboratory study with post test only control group design using *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Mangosteen pericarp was extracted using maceration method. Adherence analysis was observed after 24 hours by examining the viable cells in suspension. These viable cells are measured by UV-Vis spectrophotometer to compare the suspensions' turbidity. Using the Independent T-Test, significantly less bacteria were found adhering to the mangosteen pericarp extract. **Results.** Absorbancy difference level by mangosteen pericarp extract 0.09% is significantly greater than the NaOCl 2.5% ( $p < 0.05$ ). **Conclusion.** Antiglucon activity that generated by mangosteen pericarp extract 0.09% is greater than NaOCl 2.5%

**Keywords:** NaOCl, mangosteen pericarp extract, *Enterococcus faecalis*, glucan

Korespondensi (correspondence): Nabiela Rahardia, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, Jl. Mayjen Prof. Dr. Moestopo 47 Surabaya 60132, Indonesia. E-mail: nabielarahardia@yahoo.com

### PENDAHULUAN

*Enterococcus faecalis* ditemukan dalam jumlah sedikit namun persisten pada saluran akar. Jumlah *E. Faecalis* meningkat 9 kali lebih banyak pada kasus perawatan saluran akar yang gagal.<sup>1</sup> *E. faecalis* menunjukkan kemampuan untuk membentuk biofilm secara *in vitro*. Proses pembentukan biofilm diawali dengan perlekatan mikroorganisma ke dinding saluran akar. Adhesi dan pembentukan plak biofilm gigi ini dibantu oleh suatu lapisan ekstraseluler yang

disebut glukon.<sup>2</sup> *Enterococcus faecalis* menghasilkan suatu enzim yang akan meningkatkan perlekatan host yang dikenal dengan enzim glukosiltransferase. Enzim glukosiltransferase (GTF) dapat mengubah sukrosa dan menghasilkan glukon yang bersifat lengket dan tidak larut dalam air sehingga memudahkan pembentukan kolonisasi mikroorganisma pada permukaan gigi. GTF secara spesifik mampu merubah sukrosa menjadi glukon serta memperkuat perlekatan bakteri dengan pelikel gigi. Glukon

juga meningkatkan porositas dari biofilm yang terbentuk dan memungkinkan sukrosa berdifusi menuju bagian terdalam biofilm.<sup>3</sup>

Medikamen saluran akar di antaranya adalah bahan irigasi. Bahan irigasi yang sering dipakai salah satunya adalah sodium hipoklorit. Keuntungan dari penggunaan sodium hipoklorit adalah harganya terjangkau, mudah didapatkan, dapat melarutkan protein dengan baik, bersifat bakterisidal dan virusidal, serta memiliki usia penyimpanan yang panjang. Kekurangan dari sodium hipoklorit adalah pada konsentrasi tinggi toksik terhadap jaringan, memiliki sifat korosif terhadap logam, memiliki rasa dan bau yang tidak menyenangkan, memiliki tegangan permukaan yang tinggi sehingga sulit membasahi dinding dentin, serta dapat menimbulkan iritasi terhadap jaringan dan inflamasi gingiva. Konsentrasi sodium hipoklorit 2,5% merupakan konsentrasi yang paling cocok untuk perawatan saluran akar karena sifat sitotoksitasnya cukup rendah namun tetap menunjukkan aksi bakterisid dan waktu disolusi yang baik bila dibandingkan dengan konsentrasi 0,5 dan 1 persen.<sup>4</sup>

Salah satu bahan dari alam yang sudah lama dikenal manfaatnya oleh masyarakat adalah manggis (*Garcinia mangostana* L.). Kulit buah manggis diketahui mengandung alkaloid, saponin, tanin, flavonoid, steroid/triterpenoid, fenolik, glikosida, dan xanthone. Saponin, tanin dan flavonoid merupakan senyawa pada tumbuhan yang mempunyai aktivitas antibakteri.<sup>5</sup> Penelitian mengenai efek ekstrak kulit manggis telah banyak dilakukan, tetapi penelitian yang secara khusus membahas efek antiglukan dari ekstrak kulit manggis belum dilakukan. Daya antiglukan merupakan kemampuan bahan uji dalam menghambat perlekatan mikroorganisma pada permukaan tabung reaksi. Tujuan penelitian untuk menguji dan membandingkan efek daya antiglukan antara NaOCl dengan ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) terhadap bakteri *Enterococcus faecalis* sebagai bahan irigasi saluran akar.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan eksperimental laboratoris dengan jumlah kelompok sampel sebanyak 6 dengan replikasi 7 kali. Pengujian hambatan perlekatan bakteri *Enterococcus faecalis* oleh ekstrak kulit

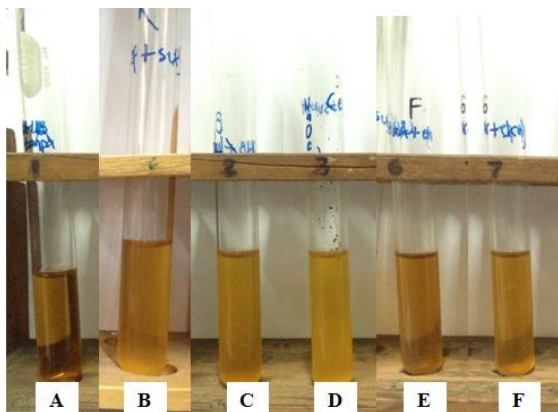
manggis ini dilakukan dengan cara *Enterococcus faecalis* diinokulasikan dan ditambahkan pada masing-masing tabung reaksi, kontrol positif dibuat dengan menumbuhkan 1 mL *E. faecalis* yang ditambahkan 1% sukrosa pada media BHIB. Kontrol negatif pada penelitian ini adalah media BHIB tanpa *E. faecalis* maupun sukrosa. Kontrol pertama pada penelitian ini adalah media BHIB tanpa *E. faecalis* yang ditambahkan 1% sukrosa dan NaOCl 2,5%. Tabung ini selanjutnya akan dibandingkan kekeruhannya dengan *E. faecalis* pada BHIB yang ditambahkan 1% sukrosa dan NaOCl 2,5%. Kontrol kedua pada penelitian ini adalah media BHIB tanpa *E. faecalis* yang ditambahkan 1% sukrosa dan ekstrak kulit manggis 0,09%. Tabung ini akan dibandingkan kekeruhannya dengan *E. faecalis* pada BHIB yang ditambahkan 1% sukrosa dan ekstrak kulit manggis 0,09%. Seluruh tabung tersebut diinkubasi dalam suasana anaerob pada 37°C selama 24 jam dengan posisi kemiringan 30°. Setelah inkubasi, seluruh tabung kontrol dicari rata-rata panjang gelombang minimumnya menggunakan *spektrofotometer UV-Vis*. Densitas optik dari suspensi dibaca menggunakan rata-rata gelombang minimum yang sudah dicari sebelumnya untuk menentukan perbandingan daya antiglukan dari ekstrak kulit manggis 0,09% dan NaOCl 2,5% terhadap bakteri *E. faecalis*.

## HASIL

Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan daya antiglukan antara NaOCl 2,5% dan ekstrak kulit manggis 0,09%. Pada kelompok sampel NaOCl dan ekstrak kulit manggis yang diberi bakteri terjadi peningkatan nilai absorbansi pada *spektrofotometer UV-Vis* dikarenakan adanya bakteri yang terlepas dari dinding permukaan kaca sehingga larutan menjadi semakin keruh, hal ini membuktikan adanya daya antiglukan dari kedua larutan tersebut. Semakin tinggi nilai absorbansi sampel, maka semakin banyak sinar yang diserap sampel dan semakin sedikit sinar yang dilewatkan melalui sampel. Hal tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi nilai absorbansi sampel, maka semakin keruh larutan tersebut, karena larutan keruh melewatkan lebih sedikit sinar daripada larutan jernih. Pada penelitian ini dilakukan pengukuran antara sebelum dan sesudah

campuran media diberi bakteri, dan dari hasil tersebut ditemukan selisih nilai absorbansi antara kontrol dan sampel bahan uji yang dibandingkan. Larutan yang lebih keruh dengan selisih nilai yang lebih besar menunjukkan jumlah mikroorganisma yang lebih banyak pada suspensi dan dapat dikatakan bahan uji memiliki daya antiglukan yang lebih baik. Saat diinkubasi, tabung reaksi diletakkan dalam posisi kemiringan 30° sehingga terdapat perlekatan bakteri *Enterococcus faecalis* pada permukaan tabung. Perlekatan tersebut dibantu oleh glukan yang dibentuk oleh bakteri. Selanjutnya tabung kembali ditegakkan untuk diukur tingkat kekeruhannya menggunakan *spektrofotometer UV-Vis*. Bahan uji memiliki daya antiglukan yang baik apabila saat inkubasi dengan kemiringan 30° bakteri kurang mampu melekat pada permukaan tabung reaksi sehingga bakteri tetap berada pada suspensi. Suspensi dengan jumlah bakteri yang lebih banyak memiliki kekeruhan atau nilai absorbansi yang lebih tinggi daripada kontrolnya, sehingga selisih nilai absorbansi antara kontrol dan sampel juga semakin banyak.

Pada penelitian ini dilakukan pengukuran antara kelompok bahan irigasi sebelum dan sesudah diberi bakteri, hasil selisih tersebut merupakan besarnya daya antiglukan yang dimiliki oleh larutan tersebut.



**Gambar 1.** Kelompok kontrol dan perlakuan pada media BHIB

Keterangan: (A) Kontrol negatif, (B) kontrol positif, (C) kontrol NaOCl 2,5%, (D) sampel chlorhexidine NaOCl 2,5%, (E) kontrol ekstrak kulit manggis 0,09%, (F) sampel ekstrak kulit manggis 0,09%

**Tabel 1.** Hasil pengukuran nilai absorbansi kelompok penelitian dengan menggunakan spektrofotometer

Kelompok	Mean	Daya Antiglukan	SD
Kontrol (-)	0,505	-	0,013
Kontrol (+)	1,159	-	0,074
Kontrol NaOCl 2,5%,	0,832	0,044	0,024
Sampel NaOCl 2,5%,	0,875		
Kontrol Ekstrak 0,09%	0,589	0,114	0,021
Sampel Ekstrak 0,09%	0,703		

Hasil *Independent Samples T-Test* menunjukkan terdapat perbedaan antara nilai absorbansi NaOCl 2,5% dan ekstrak kulit manggis 0,09% terhadap glukan bakteri *E. faecalis* yang bermakna pada hasil penelitian. Berdasarkan rerata nilai absorbansi NaOCl 2,5% dan ekstrak kulit manggis 0,09% didapatkan hasil bahwa nilai absorbansi ekstrak kulit manggis 0,09% lebih tinggi bila dibandingkan dengan NaOCl 2,5% karena menunjukkan peningkatan nilai absorbansi yang lebih besar dan dapat diartikan sebagai peningkatan kekeruhan sampel yang diakibatkan oleh mikroorganisma yang tetap berada pada suspensi karena kurang mampu melekat pada permukaan tabung. Hal ini berarti NaOCl 2,5% lebih efektif dalam menghambat pembentukan glukan yang dibentuk oleh *E. faecalis* bila dibandingkan dengan ekstrak kulit manggis 0,09%.

## PEMBAHASAN

Glukan merupakan senyawa polisakarida ekstraseluler yang dibentuk oleh enzim glukosiltransferase (GTF) dengan membelah sukrosa dan gugus polimerisasi glukosa dan berperan dalam perlekatan mikroorganisma serta pembentukan biofilm. Dengan adanya glukan, bakteri tidak mudah larut dan terbawa oleh cairan rongga mulut.<sup>6</sup> Daya antiglukan adalah kemampuan bahan uji dalam menghambat perlekatan mikroorganisma pada permukaan tabung reaksi. Penggunaan bahan yang dapat menghambat pembentukan glukan akan mengurangi faktor virulensi bakteri karena dapat mencegah perlekatan bakteri dan pembentukan biofilm.

*E. faecalis* merupakan bakteri anaerob fakultatif yang masuk ke dalam tubulus dentin dan menyebabkan kegagalan perawatan saluran akar. Hal ini disebabkan oleh faktor ketahanan dan virulensi yang dimiliki *E. faecalis*, seperti *surface protein esp* yang berperan dalam perlekatan biofilm dan *collagen binding protein* (ACE) yang mendukung ikatan bakteri dengan kolagen pada dentin. Selain itu terdapat gelatinase yang berkontribusi terhadap inflamasi periapikal gigi dan serine protease yang mampu memecah ikatan peptida serta mampu menghasilkan glukosa agar bakteri lebih mudah melekat pada permukaan gigi.<sup>7</sup> Ekstrak kulit manggis diketahui memiliki aktivitas antibakteri yang luas terhadap mikroorganisma Gram positif dan Gram negatif.<sup>8</sup>  $\alpha$ -mangostin dan *acarbose* yang terdapat pada xanthone ekstrak kulit manggis dapat berinteraksi dengan fragmen utama dari *glycosyl acceptor binding site*. Proses tersebut terjadi pada regio *glucan binding* dari enzim GTF B maupun GTF C. Akibatnya, fungsi enzim glukosiltransferase untuk memecah sukrosa terhambat dan sintesis glukosa pun terhambat secara signifikan sehingga dapat mengganggu proses pembentukan ekstrapolisakarida yang juga berperan dalam perkembangan biofilm.<sup>9</sup> Senyawa flavonoid ekstrak kulit manggis berupa molekul polifenol yang mengurangi sintesis glukosa dan asidogenitas *Streptococcus mutans*.<sup>10</sup> Flavonoid memiliki komponen berupa Q-3-arab dan procyanidin A2 yang mampu menghambat sintesis enzim GTF B dan C.<sup>11</sup> Senyawa tanin ekstrak kulit manggis diketahui memiliki sifat astringen yang dapat meningkatkan kompleksitas enzim dan substrat bakteri sehingga terjadi penghambatan dari produksi enzim seperti selulase, pektinase, peroksidase, dan glukosiltransferase.<sup>12</sup> Senyawa ini juga memiliki khasiat spesial, seperti membentuk endapan dengan alkaloid atau protein. Sifat ini memungkinkan glukosiltransferase menjadi inaktif akibat interaksinya dengan galotanin.<sup>13</sup>

Pada sodium hipoklorit, senyawa klorin merupakan pengoksidasi kuat yang memiliki peran sebagai antimikroba. Klorin akan bereaksi dengan gugus amina pada protein sel menghasilkan senyawa berupa *chloroamine*. Senyawa ini merupakan suatu *biofilm dispersant* yang dapat mendegradasi biofilm *E. faecalis*.<sup>14</sup> Selain itu klorin juga dapat mengoksidasi gugus *sulphydryl* dari enzim

esensial bakteri, yakni sistein. Hal ini akan menyebabkan kerja enzim bakteri terhambat sehingga akan mengganggu metabolisme sel dan integritas membran sitoplasma. Rusaknya sel berpengaruh terhadap jumlah produksi enzim glukosiltransferase yang akan menyebabkan pembentukan glukosa berkurang.<sup>15</sup>

Dengan demikian dapat disimpulkan ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) 0,09% memiliki daya antiglukosa lebih besar bila dibandingkan dengan NaOCl 2,5% dalam penggunaannya sebagai bahan irigasi saluran akar gigi terhadap bakteri *E. faecalis*.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Stuart CH, Schwartz SA, Besson TJ, Owatz CB. *Enterococcus faecalis*: Its Role in Root Canal Treatment Failure and Current Concepts in Retreatment. *JOE*. 2006; 32 (2): 93-98
2. Sun J, Sundsfjord A, Song X. *Enterococcus faecalis* from patients with chronic periodontitis: virulence and antimicrobial resistance traits and determinants. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2012; 31: 267-272.
3. Paes Leme AF, Koo H, Bellato CM, Bedi G, Cury JA. The Role of Sucrose in Cariogenic Dental Biofilm Formation – New Insight. *J Dent Res.* 2006; 85(10): 878-887
4. Spencer HR, Ike V, Brennan PA. Review: the use of sodium hypochlorite in endodontics – potential complications and their management. *British Dental Journal.* 2007. 202 (9): 555-559
5. Poeloengan M, Praptiwi. ‘Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* Linn.)’. *Media Litbang Kesehatan.* 2010; 20 (2): 66-67.
6. Pleszczyńska M, Wiater A, Janczarek M, Szczodrak J. (1→3)- $\alpha$ -D-Glucanhydrolases in dental biofilm prevention and control: A review. *International Journal of Biological Macromolecules.* 2015; 79: 761-78
7. Liu H, Wei X, Ling J, Wang W, Huang X. Biofilm formation capability of *Enterococcus faecalis* cells in starvation phase and its susceptibility to sodium hypochlorite. *Journal of Endodontics.* 2010; 36(4): 630-635
8. Torrungruang K, Vichienroj P, Chutimaworapan S. Antibacterial activity

- of mangosteen pericarp extract against cariogenic *Streptococcus mutans*. *CU Dent J*. 2007; 30: 1-10
9. Nguyen PTM, Falsetta ML, Hwang G, Gonzalez-Begne M, Koo H.  $\alpha$ -mangostin disrupts the development of *Streptococcus mutans* biofilms and facilitates its mechanical removal. *PLoS One*. 2014; 9(10)
  10. Gregoire S, Singh AP, Vorsa N, Koo H. Influence of cranberry phenolics on glucan synthesis by glucosyltransferases and *Streptococcus mutans* acidogenicity. *J Appl Microbiol*. 2007; 103(5): 1960-8
  11. Zarena AS, Sankar U. Phenolic acids, flavonoid profile and antioxidant activity in mangosteen (*Garcinia mangostana L.*) pericarp. *Journal of Food Biochemistry*. 2011; 36(5): 627-633
  12. Scalbert A. Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*. 1991; 30(12): 3875-3883
  13. Kakiuchi N, Hattori M, Nishizawa M, Yamagishi T, Okuda T, Namba T. Studies on dental caries prevention by traditional medicines (Inhibitory effect of various tannins on glucan synthesis by glucosyltransferase from *Streptococcus mutans*). *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 1986; 34(2): 720-5
  14. Donlan RM. 2011. *Biofilm Elimination on Intravascular Catheters: Important Considerations for the Infectious Disease Practitioner, Division of Healthcare Quality Promotion, Centers for Disease Control and Prevention*. Atlanta:Oxford University Press. P. 1043
  15. Zahed M, Yazd I. Sodium hypochlorite on endodontics: an update review. *International Dental Journal*. 2008; 58: 329-341