

J I D A



JOURNAL OF INDONESIAN
DENTAL ASSOCIATION



EDITOR IN-CHIEF

Armelia Sari Widyarman, [[57203892772](#)] Department of Microbiology, Division of Oral Biology, Faculty of Dentistry, Trisakti University, Indonesia

BOARD OF EDITORS

Diyah Fatmasari, [[57213854325](#)] Department of Dental Health, Polytechnic of Semarang, Ministry of Health, Indonesia

Rahmi Amtha, [[26031894400](#)] Department of Oral Medicine, Faculty of Dentistry, Trisakti University, Indonesia

Munifah Abdat, [[57219184375](#)] Department of Preventive and Public Health Dentistry, Faculty of Dentistry, Universitas Syiah Kuala, Indonesia

Rosa Amalia, [[48461008800](#)] Department of Preventive and Community Dentistry, Faculty of Dentistry, Gadjah Mada University, Indonesia

Muhamad Orliando Roeslan, [[57202022094](#)] Department of Histology, Faculty of Dentistry, Trisakti University, Indonesia

Muhammad Ihsan Rizal, [[57216991702](#)] Department of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Dentistry, Trisakti University, Indonesia

Research Article

Antibiofilm Effect of Rambutan Leaf Extract (*Nephelium lappaceum* L.) on Selected Periodontal Pathogens

Syarifah Aulia Maulina, Abdul Gani Soulissa, Armelia Sari Widyarman

57-61

 **Bahasa**

Distribution Of Clinical Cases of Referral Patients for CBCT-3D Radiographic Examinations at RSKGMP Universitas Airlangga

Eha Renwi Astuti, Yunita Savitri, Ramadhan Hardani Putra, Nastiti Faradilla Ramadhani, Aga Satria Nurrachman, Adiningsih Adiningsih, Nur Laili Izzatul Faikoh

63-68

 **English**

The Relationship Between Mother's Education and The Level of Knowledge About Child Malocclusion

Nandhita Ayu Wardhani, Yohana Yusra

69-77

 **Bahasa**

Mechanical Properties of Giomer After Immersion in Carbonated Drinks

Cindy Kovianti, Rosalina Tjandrawinata, Eddy Eddy

79-84

 **Bahasa**

Effect of Different Types of Denture Cleansers on Hardliner Surface Roughness

Nurul Ifadah, Rani Purba, Martha Mozartha

85-89

 Bahasa

Impacted Lower Third Molar Profile at Dental Hospital of Padjadjaran University

Muhammad Fauzi Akbar, Indra Hadikrishna, Lucky Riawan, Yurika Ambar Lita

91-98

 Bahasa

Antibiofilm of Arumanis Mango Leaves (*Mangifera indica* L.) Ethanol Extract Against *Staphylococcus aureus* in vitro

Evangelista Rachel Hepziba, Sheila Soesanto, Armelia Sari Widyarman

99-105

 Bahasa

Case Report

Simultaneous Esthetic Crown Lengthening and Frenotomy Procedure for Smile Rejuvenation

I Komang Evan Wijaksana, Made Talitha Suryaningsih Pinatih, Agung Krismariono

107-113

 Bahasa

Review Article

Dental Materials and Bisphenol-A Exposures

Ridhayani Hatta, Mohamad Arif Budiman Putra Pratama, Ílida Ortega Asencio

115-123

 Bahasa



Antibiofilm of Arumanis Mango Leaves (*Mangifera indica* L.) Ethanol Extract Against *Staphylococcus aureus* in vitro

Evangelista Rachel Hepziba¹, Sheila Soesanto^{2§}, Armelia Sari Widyarman³

¹ Undergraduate student, Faculty of Dentistry, Universitas Trisakti University, Indonesia

² Department of Pharmacology, Faculty of Dentistry, Universitas Trisakti, Indonesia

³ Department of Microbiology, Faculty of Dentistry, Universitas Trisakti, Indonesia

Received date: February 14, 2022. Accepted date: August 5, 2022. Published date: January 9, 2023.

KEYWORDS

dentoalveolar abscess;
Staphylococcus aureus;
Mangifera indica L.;
antibacterial;
antibiofilm

ABSTRACT

Introduction: *Staphylococcus aureus* is a pathogen bacteria that forms biofilm and induces acute inflammation associated with dentoalveolar abscess, which needs antibiotics such as amoxicillin for the treatment. Due to antibiotic resistance and various side effects, natural ingredients are needed as an alternative treatment. Arumanis mango leaves (*Mangifera indica* L.) contains mangiferin, flavonoid, and tannin which are expected to inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* and its biofilm formation. **Objective:** The aim of this study was to determine the antibacterial and antibiofilm effects of *Mangifera indica* L. leaves against *Staphylococcus aureus* in vitro. **Methods:** This study was in vitro laboratory experiment with post test only control group design. Antibacterial test was carried out by plate count method and antibiofilm test was carried out by microtiter plate biofilm assay method. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 was cultured in BHI broth in 37°C for 24h with anaerobic condition. The present study used ethanol extract of *Mangifera indica* L. leaves in 6 different concentrations: 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, and 100%. Amoxicillin was used as positive control and DMSO 10% used as negative control. Data was analyzed with Shapiro-wilk test, One-way ANOVA test, and post hoc Tukey HSD test with $p < 0,05$ as the level of significance. **Results:** The most effective concentration to inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* was 100% extract compared to negative control ($p < 0,05$). The most effective concentration against *Staphylococcus aureus* biofilm formation was 100% extract in 3hr incubation compared to negative control ($p < 0,05$). **Conclusion:** Ethanol extract of *Mangifera indica* L. leaves has been shown in vitro to have antibacterial and antibiofilm properties against *Staphylococcus aureus*.

§ Corresponding Author

E-mail address: sheilasoesanto@trisakti.ac.id (Soesanto S)

DOI: [10.32793/jida.v5i2.846](https://doi.org/10.32793/jida.v5i2.846)

Copyright: ©2023 Hepziba ER, Soesanto S, Widyarman AS. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium provided the original author and sources are credited.

KATA KUNCI

abses dentoalveolar;
Staphylococcus aureus;
Mangifera indica L.;
antibakteri;
antibiofilm

ABSTRAK

Pendahuluan: *Staphylococcus aureus* adalah bakteri patogen yang berperan dalam pembentukan biofilm serta menginduksi terjadinya inflamasi akut terkait abses dentoalveolar, sehingga dibutuhkan antibiotik seperti amoksisilin dalam perawatannya. Sehubungan dengan terjadinya resistensi dan berbagai efek samping dari pemakaian antibiotik, maka diperlukan bahan alam sebagai alternatif pengobatan. Daun mangga arumanis (*Mangifera indica* L.) mengandung mangiferin, flavonoid, dan tanin yang diharapkan dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan pembentukan biofilm *Staphylococcus aureus*. **Tujuan:** Mengetahui efek antibakteri dan antibiofilm daun *Mangifera indica* L. terhadap *Staphylococcus aureus* secara in vitro. **Metode:** Eksperimental laboratoris secara in vitro dengan rancangan *post test only control group design*. Uji antibakteri dilakukan dengan metode *plate count* dan uji antibiofilm dilakukan dengan metode *microtiter plate biofilm assay*. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dikultur menggunakan media BHI-B pada suhu 37°C selama 24 jam dalam kondisi anaerob. Larutan uji yang digunakan adalah ekstrak etanol daun *Mangifera indica* L. dalam 6 konsentrasi yang berbeda, yaitu 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100%. Amoksisilin digunakan sebagai kontrol positif dan DMSO 10% sebagai kontrol negatif. Data dianalisis menggunakan uji *Shapiro-wilk*, uji ANOVA satu jalan, dan uji *post hoc* Tukey HSD ($p < 0,05$). **Hasil:** Ekstrak konsentrasi 100% memiliki efek antibakteri paling efektif dibandingkan kontrol negatif ($p < 0,05$). Ekstrak konsentrasi 100% masa inkubasi 3 jam memiliki efek antibiofilm paling efektif dibandingkan kontrol negatif ($p < 0,05$). **Kesimpulan:** Ekstrak etanol daun *Mangifera indica* L. terbukti memiliki efek antibakteri dan antibiofilm terhadap *Staphylococcus aureus* secara in vitro.

PENDAHULUAN

Abses dentoalveolar merupakan rongga patologi berisi pus akibat karies sekunder, trauma, kegagalan perawatan saluran akar (PSA), dan *oral hygiene* (OH) yang buruk. Faktor-faktor ini mendukung perkembangan *Staphylococcus aureus* yang berperan penting dalam pembentukan abses dentoalveolar.^{1,2}

Staphylococcus aureus termasuk bakteri Gram positif yang terdapat pada membran mukosa dan kulit manusia maupun hewan. *S. aureus* merupakan mikroflora normal yang tidak menyebabkan penyakit, namun saat terjadi penurunan daya tahan tubuh dan ketidakseimbangan mikroorganisme, *S. aureus* akan berkembang menjadi patogen. Infeksi akibat bakteri ini antara lain peradangan, nekrosis, infeksi mukosa dan kulit, infeksi saluran pernafasan, serta terjadinya abses.^{3,4} Pembentukan biofilm merupakan tahap awal terjadinya abses dentoalveolar melalui kolonisasi beberapa bakteri sehingga menimbulkan respon inflamasi.^{1,2} *S. aureus* memiliki biofilm berlapis yang tertanam dalam lapisan glikokalik dengan ekspresi protein heterogen.⁵ Faktor virulensi *S. aureus* dalam pembentukan biofilm antara lain kapsul, adhesin, koagulase, hyaluronidase, stafilokinase, α toksin, β toksin, enterotoksin, dan leukosidin.⁶ Abses dentoalveolar harus diatasi secara dini melalui tindakan insisi drainase, perawatan saluran akar, pemberian antibiotik, dan pencabutan gigi untuk mencegah penyebaran lebih lanjut ke struktur anatomi yang berdekatan.⁷

Antibiotik yang sering digunakan untuk mengatasi abses dentoalveolar antara lain amoksisilin, penisilin, metronidazole, klindamisin, sefalosporin, dan eritromisin.^{1,2} Amoksisilin merupakan antibiotik spektrum luas turunan penisilin yang menghambat bakteri Gram positif dan negatif melalui pengikatan pada *Penicillin Binding Protein* (PBP) yang akan menghambat proses transpeptidasi. Namun demikian, amoksisilin dapat menimbulkan efek samping seperti mual, muntah, dan diare.^{8,9}

Belakangan ini, resistensi bakteri terhadap antibiotik meningkat, akibatnya infeksi yang bersifat sedang sulit dikendalikan. Hal ini terjadi akibat penggunaan antibiotik secara berlebihan maupun tidak tepat sasaran.¹⁰ Resistensi akan mengurangi efektivitas obat sehingga bakteri gagal memberikan respons terhadap pengobatan dan meminimalkan kadar hambat bakteri pada pemberian dosis normal.¹¹ Penelitian terhadap daging mentah yang terkontaminasi *S. aureus* di Nepal menunjukkan adanya resistensi terhadap amoksisilin.¹² Hasil studi meta analisis terhadap antimikrobal yang sering digunakan di Ethiopia menunjukkan adanya tingkat resistensi *S. aureus* yang tinggi terhadap amoksisilin sebesar 77% (95% confidence interval (CI): 68%, 0.85%).¹³

Alternatif pengobatan herbal banyak dikembangkan untuk meminimalkan efek samping dan resistensi dari antibiotik. Campuran berbagai komponen aktif pada obat herbal akan menimbulkan efek antibakterial yang sinergis sehingga bermanfaat dalam menimbulkan efek terapi.

Salah satu pengobatan herbal dengan mangiferin sebagai komponen aktif yang bersifat antibakteri adalah daun *M. indica* L atau mangga arumanis. Daun *M. indica* L. dapat mengobati berbagai macam penyakit seperti demam, diare, diabetes, infeksi saluran pernafasan, infeksi gigi dan gusi. Ekstrak etanol daun *M. indica* L mengandung senyawa metabolit sekunder seperti fenol (mangiferin, tanin, flavonoid), alkaloid, saponin, dan steroid yang memiliki khasiat antibakteri, antimikroba, antioksidan, antiinflamasi, antifungal, antivirus, antialergi, antidiabetes, antikanker, antitumor, dan analgesik. Fenol pada daun *M. indica* L. dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*, *Shigella flexneri*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pyogenes*, *Bacillus cereus*, dan *Staphylococcus aureus*. Hasil studi yang menelaah tentang daun *M. indica* L menyatakan bahwa tidak ada resistensi daun *M. indica* L terhadap *S. aureus*.¹⁴ Oleh sebab itu, penelitian ini bertujuan untuk menetapkan efek ekstrak etanol daun *M. indica* L. terhadap pertumbuhan dan pembentukan biofilm *S. aureus* secara *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris secara *in vitro* dengan rancangan *post test only control group design* yang dilakukan di Laboratorium Microbiology Centre of Research and Education (MiCORE), Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Trisakti, Jakarta, Indonesia. Larutan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah Dimetil Sulfoksida (DMSO) 10% sebagai kontrol negatif, amoksisilin sebagai kontrol positif, dan ekstrak etanol daun *M. indica* L. dengan konsentrasi 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100%. Penelitian ini memiliki 8 kelompok perlakuan dengan 3 kali pengulangan pada setiap kelompok yang dihitung dengan rumus Federer (n = jumlah pengulangan dan t = jumlah kelompok perlakuan dalam penelitian) sebagai berikut :

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

$$\begin{array}{ll} (n-1)(t-1) & > 15 \\ (n-1)(8-1) & > 15 \\ (n-1)(7) & > 15 \\ n-1 & > 2,142 \\ n & > 3,142 = 3 \text{ kali pengulangan} \end{array}$$

Ekstrak Etanol Daun *M. indica* L.

Pembuatan ekstrak etanol daun mangga arumanis (*Mangifera indica* L.) dilakukan di Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITTRO) di Bogor, Jawa Barat, Indonesia. Ekstrak etanol daun *M. indica* L. dibuat dengan metode maserasi. Daun mangga dicuci, dikeringkan, dan dihaluskan. Serbuk daun mangga

direndam menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:5. Proses maserasi dilakukan selama 2-3 jam lalu hasil maserat didiamkan selama 24 jam dan disaring hingga didapatkan ekstrak kental. Ekstrak 100% diencerkan dengan DMSO 10% hingga didapatkan ekstrak konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, dan 3,125%.

Kultur Bakteri

Staphylococcus aureus ATCC 25923 dari Laboratorium MiCORE, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Trisakti yang dikultur pada *medium Brain Heart Infusion Broth/BHI-B* (Sigma Aldrich, Burlington, Amerika) dan diinkubasi dalam *anaerobic jar* (Oxoid, Basingstoke, Inggris) dengan suhu 37°C selama 24 jam dalam kondisi anaerob. Kemudian, dilakukan pengukuran absorbansi hingga didapatkan standar McFarland $0,5 = 1,5 \times 10^8$ CFU/mL ($OD_{600} = 0,132$).

Plate Count

Uji antibakteri dilakukan dengan metode mikrodilusi. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang telah dikultur didistribusikan ke dalam sumuran 96-well plates (Nest Biotech, Jiangsu, Cina) menggunakan mikropipet (Lambda, San Fransisco, Amerika) sebanyak 100 µL. Larutan uji sebanyak 100 µL ditambahkan ke dalam sumuran dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dalam keadaan anaerob. Kemudian, masing-masing perlakuan diencerkan sebanyak 10.000 kali lalu diambil sebanyak 5 µL dan diletakkan pada media *Brain Heart Infusion Agar* (BHI-A) dalam cawan petri. Pertumbuhan koloni bakteri dihitung setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Microtiter Plate Biofilm Assay

Kultur bakteri sebanyak 200 µL dimasukkan pada setiap sumuran 96-well plates menggunakan mikropipet dan diinkubasi dalam inkubator (Jisico, Seoul, Korea Selatan) pada suhu 37°C selama 24 jam dalam keadaan anaerob. Kemudian setelah diinkubasi, supernatan yang terbentuk dibuang hingga tersisa selapis tipis pada permukaan sumuran dan dibilas menggunakan *Phosphate Buffer Saline/PBS* (Biomatik, Ontario, Kanada). Ekstrak etanol daun *M. indica* L. konsentrasi 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100%, amoksisilin sebagai kontrol positif, dan biofilm tanpa perlakuan sebagai kontrol negatif ditambahkan pada masing-masing sumuran sebanyak 200 µL. Kemudian diinkubasi selama 1, 3, dan 24 jam pada suhu 37°C. Sumuran dibilas sebanyak 2 kali dengan PBS dan difiksasi diatas api. Kristal violet (Merck, Darmstadt, Jerman) ditambahkan dalam sumuran sebanyak 200 µL dan didiamkan selama

15 menit. Pembilasan dilakukan lagi sebanyak 2 kali dan didiamkan selama 15 menit. Etanol 96% ditambahkan sebanyak 200 μ L lalu dilakukan pengukuran *Optical Density* (OD) menggunakan *microplate reader* (Safas, Monaco, Monako) dengan panjang gelombang 490 nm.

Analisis Statistik

Data penelitian diolah dengan program komputer *Statistical Product and Service Solution* (SPSS) versi 26. Uji normalitas menggunakan metode *Shapiro-Wilk*. Jika data terdistribusi normal ($p > 0,05$), maka dilanjutkan dengan uji *Analysis of Variance* (ANOVA) satu jalan. Kelompok data yang bermakna ($p < 0,05$) akan dilanjutkan dengan uji *post hoc* menggunakan metode *Tukey Honestly Significance Difference* (HSD) dengan tingkat kemaknaan $p < 0,05$ untuk mengetahui adanya perbedaan bermakna antar kelompok.

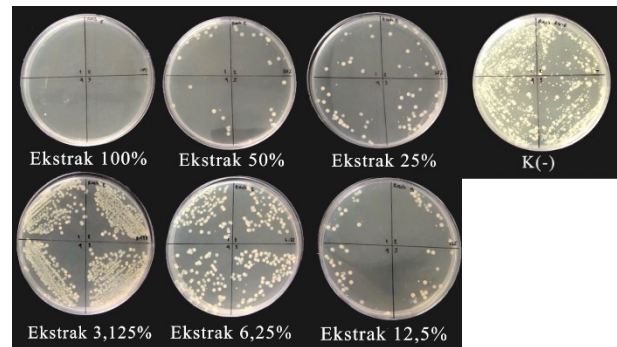
HASIL

Hasil uji antibakteri menggunakan metode plate count menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun *M. indica* L. menghambat pertumbuhan *S. aureus* (Gambar 1 dan 2). Ekstrak konsentrasi 100% memperlihatkan efek antibakteri yang paling efektif terhadap *S. aureus* dengan total koloni sebesar $(1 \pm 0,58) \times 10^6$ CFU/mL.

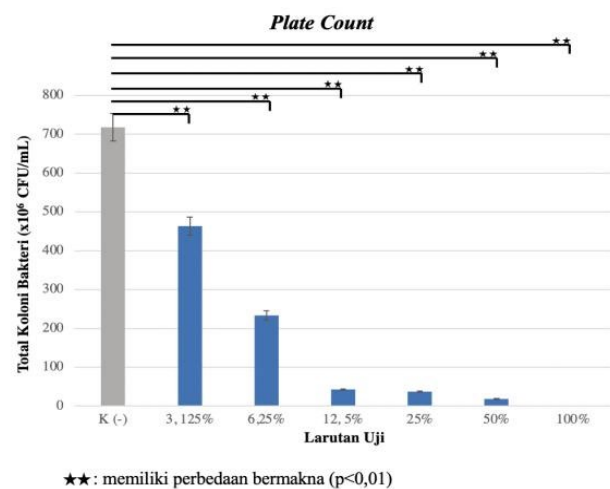
Hasil uji biofilm metode *microtiter plate biofilm assay* menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun *M. indica* L. memiliki efek antibiofilm terhadap *S. aureus*. Ekstrak konsentrasi 25% memiliki tertinggi terhadap biofilm *S. aureus* setelah inkubasi 1 jam dengan nilai OD $0,08 \pm 0,01$ (Gambar 3). Ekstrak konsentrasi 100% memiliki daya hambat tertinggi terhadap biofilm *S. aureus* setelah inkubasi 3 jam dengan nilai OD $0,14 \pm 0,05$ (Gambar 4). Pada masa inkubasi 24 jam, konsentrasi 100% memiliki daya hambat tertinggi terhadap biofilm *S. aureus* dengan nilai OD $0,15 \pm 0,04$ (Gambar 5).

Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa seluruh kelompok data terdistribusi normal ($p > 0,05$) dan terdapat perbedaan bermakna antar larutan uji ($p < 0,05$). Hasil uji *post hoc Tukey HSD* pada uji antibakteri, seluruh konsentrasi larutan uji menunjukkan perbedaan bermakna terhadap kontrol negatif.

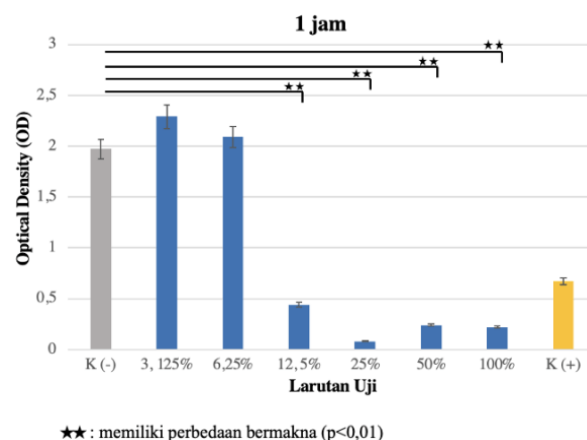
Pada uji antibiofilm pada masa inkubasi 1 jam, ekstrak etanol daun *M. indica* L. mulai konsentrasi 12,5% berbeda bermakna terhadap kontrol negatif. Pada masa inkubasi 3 jam seluruh konsentrasi ekstrak etanol daun *M. indica* L. berbeda bermakna terhadap kontrol negatif. Sementara itu, masa inkubasi 24 jam, ekstrak etanol daun *M. indica* L. mulai konsentrasi 50% berbeda bermakna terhadap kontrol negatif.



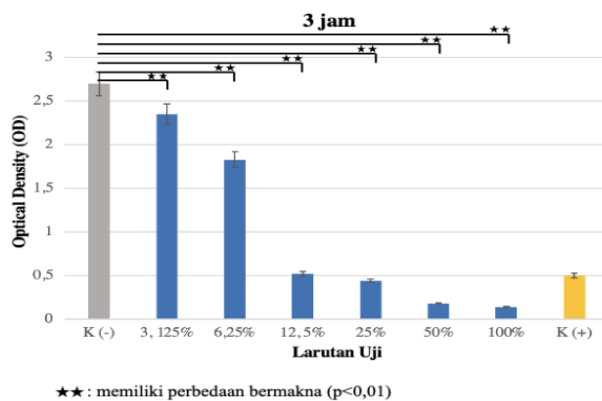
Gambar 1. Hasil uji daya hambat pertumbuhan *S. aureus* metode plate count



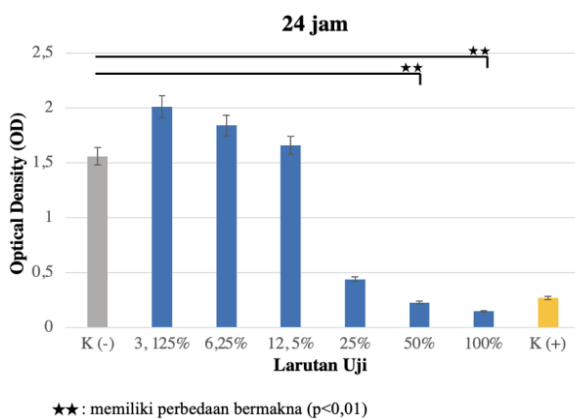
Gambar 2. Pertumbuhan total koloni *S. aureus* setelah diberikan ekstrak etanol daun *M. indica* L. Amoksisilin digunakan sebagai kontrol positif dan DMSO 10% sebagai kontrol negatif



Gambar 3. Pembentukan biofilm *S. aureus* setelah diberikan ekstrak etanol daun *M. indica* L. pada masa inkubasi 1 jam. Amoksisilin digunakan sebagai kontrol positif dan biofilm tanpa perlakuan sebagai kontrol negatif



Gambar 4. Pembentukan biofilm *S. aureus* setelah diberikan ekstrak etanol daun *M. indica* L. pada masa inkubasi 3 jam. Amoksisilin digunakan sebagai kontrol positif dan biofilm tanpa perlakuan sebagai kontrol negative



Gambar 5. Pembentukan biofilm *S. aureus* setelah diberikan ekstrak etanol daun *M. indica* L. pada masa inkubasi 24 jam. Amoksisilin digunakan sebagai kontrol positif dan biofilm tanpa perlakuan sebagai kontrol negative

PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan jenis mangga arumanis yang memiliki kandungan mangiferin tertinggi dibandingkan jenis mangga lainnya.¹⁵ Belum banyak penelitian tentang daun *M. indica* L. sebagai antibakteri dan antibiofilm terhadap *S. aureus in vitro*, maka pada penelitian ini digunakan konsentrasi ekstrak dari 3,125% hingga 100%. Diharapkan penelitian ini dapat menjadi landasan untuk mendapatkan konsentrasi yang lebih akurat dalam menghambat pertumbuhan dan pembentukan biofilm *S. aureus*.

Pada uji antibakteri, seluruh konsentrasi ekstrak etanol daun *M. indica* L. menunjukkan jumlah koloni bakteri yang lebih sedikit dan berbeda bermakna

($p < 0,01$) terhadap kontrol negatif. Hal ini membuktikan ekstrak memiliki efek antibakteri terhadap pertumbuhan *S. aureus* secara *in vitro*. Sejalan dengan bertambah besarnya konsentrasi ekstrak, jumlah koloni bakteri yang terbentuk semakin sedikit. Ekstrak menghambat pertumbuhan *S. aureus* mulai konsentrasi 3,125% dan konsentrasi 100% memiliki efek antibakteri paling efektif dengan total koloni bakteri paling sedikit yaitu sebesar $(1 \pm 0,58) \times 10^6$ CFU/mL. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Kurniasih dkk bahwa ekstrak daun *M. indica* L menghambat pertumbuhan *S. mutans* menggunakan metode yang berbeda, yaitu metode difusi cakram. Diameter zona hambat yang terbentuk pada penelitian ini bertambah besar sejalan dengan bertambah tingginya konsentrasi ekstrak.¹⁶ Ekstrak daun *M. indica* L. menunjukkan aktivitas antibakteri yang poten dinyatakan oleh Cardenas et al. yang melakukan perbandingan aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan ekstrak hidroalkoholik daun *M. indica* L terhadap *S. aureus*. Pada penelitian ini, ekstrak *M. indica* L. dengan pelarut hidroalkoholik 50% dan 100% menunjukkan zona hambatan yang lebih besar daripada pelarut etanol.¹⁰

Penelitian ini menggunakan tiga masa inkubasi pada metode biofilm assay yaitu 1 jam, 3 jam, dan 24 jam. Pembentukan biofilm terjadi pada menit pertama di mana terjadi fase pembentukan pelikel, dilanjutkan fase adhesi inisial selama 2 sampai 4 jam, dan fase maturasi sel selama 24 jam. Pada tahap ini, biofilm sudah terbentuk sempurna 1.000-1.500 kali lebih resisten dibandingkan bakteri planktonik.¹⁷ Perbedaan waktu ini bertujuan untuk mengetahui waktu yang paling efektif dibutuhkan oleh ekstrak etanol daun *M. indica* L. dalam menghambat pembentukan biofilm *S. aureus*.

Hasil uji antibiofilm menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun *M. indica* L. dapat menghambat pertumbuhan biofilm *S. aureus* secara *in vitro*. Pada masa inkubasi 1 jam ekstrak etanol daun *M. indica* L. menghambat pembentukan biofilm *S. aureus* pada paling efektif pada konsentrasi 25% ($OD = 0,08 \pm 0,01$). Ekstrak konsentrasi 12,5% hingga 100 % memiliki nilai OD lebih kecil ($p < 0,01$) dan berbeda bermakna terhadap kontrol positif. Dengan demikian, ekstrak mulai 12,5% lebih efektif dibanding kontrol positif. Sementara itu, pada inkubasi 3 jam, seluruh konsentrasi ekstrak memiliki nilai OD yang lebih rendah dan berbeda bermakna ($p < 0,01$) terhadap kontrol negatif, yang berarti bahwa seluruh konsentrasi ekstrak memiliki daya hambat terhadap pembentukan biofilm *S. aureus* dan ekstrak konsentrasi 50% ($OD = 0,18 \pm 0,07$) memiliki efek antibiofilm paling efektif. Ekstrak konsentrasi 50% dan 100% memiliki efek antibiofilm terhadap *S. aureus* lebih efektif dibandingkan dengan kontrol positif. Hal ini ditunjukkan dengan nilai OD lebih kecil dan berbeda bermakna terhadap kontrol

positif. Pada masa inkubasi 24 jam, ekstrak etanol daun *M. indica* L. konsentrasi 50% ($OD = 0,23 \pm 0,02$) memiliki efek antibiofilm paling efektif. Ekstrak konsentrasi 50% dan 100% menunjukkan hasil lebih efektif dibandingkan dengan kontrol positif. Bila dibandingkan dengan masa inkubasi 3 jam, aktivitas antibiofilm ekstrak konsentrasi 3,125%, 6,25%, dan 12,5% bersifat bakteriostatik yang dibuktikan dengan peningkatan nilai OD pada masa inkubasi 24 jam.¹⁸ Berdasarkan hasil di atas, maka ekstrak etanol daun *M. indica* L. menghambat pembentukan biofilm *S. aureus* terbaik pada masa inkubasi 3 jam, yaitu pada fase adhesi inisial.

Pembentukan biofilm dapat didefinisikan sebagai salah satu penyebab utama bakteri mengembangkan resistensi terhadap antibiotik.¹⁹ Biofilm yang dihasilkan *S. aureus* memiliki lapisan polisakarida ekstraseluler homolog sebagai matriks yang membantu adhesi koloni bakteri ke permukaan yang berbeda-beda. Selain itu, biofilm dapat memperpanjang waktu kolonisasi *S. aureus*, infeksi, dan penyebaran ke berbagai bagian tubuh.²⁰ Hasil penelitian ini menunjukkan, bahwa ekstrak etanol daun *M. indica* L. yang mengandung senyawa fenolik, flavonoid, saponin, tanin, alkaloid, dan steroid yang memiliki potensi sebagai antibakteri dan antibiofilm terhadap *S. aureus*.²⁰ Senyawa fenol yang paling banyak terdapat pada daun *M. indica* L. adalah mangiferin yang memiliki efek antimikroba. Flavonoid mengubah membran sitoplasma yang mengakibatkan terhambatnya pertukaran nutrisi dan metabolit sehingga suplai energi bakteri berkurang yang diikuti kematian bakteri.²¹ Pada proses pembentukan biofilm, flavonoid dapat mengganggu mekanisme quorum sensing yang merupakan sistem komunikasi antar sel dengan berbagai fungsi seluler seperti patogenesis, perolehan nutrisi, konjugasi, motilitas, dan produksi metabolit sekunder dari bakteri.^{22,23} Saponin dapat meningkatkan permeabilitas membran dan dinding sel melalui proses difusi sehingga mengganggu kestabilan sel.²⁴ Tanin bekerja dengan melarutkan lapisan lemak dan mengikat protein pembentuk dinding sel.²⁵ Alkaloid mengganggu terbentuknya dinding peptidoglikan sel bakteri sehingga tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel.²⁶ Senyawa steroid dalam interaksinya dengan fosfolipid sel juga dapat menyerang membran lipid sehingga terjadi kebocoran lisosom yang menurunkan integritas membran sel serta diikuti lisisnya sel.²⁴

Perkembangan biofilm dipengaruhi oleh pelepasan senyawa polimer ekstraseluler yang dimediasi oleh quorum sensing (QS) yang berperan dalam meregulasi gen termasuk faktor virulensi pada *S. aureus*. *Mangifera indica* L. merupakan QS inhibitor yang dapat menonaktifkan sistem QS sehingga mencegah produksi

faktor virulensi dan menghambat pertumbuhan dari *S. aureus*.²⁷

Penelitian ini merupakan penelitian awal, oleh karena itu dibutuhkan penelitian lanjutan untuk mengkonfirmasi hasil penelitian ini. Pada penelitian selanjutnya, diharapkan pada ekstrak etanol daun *M. indica* L. dilakukan uji toksisitas, preklinis, dan klinis secara *in vivo* agar dapat menjadi alternatif pengobatan pada abses dentoalveolar dalam mengurangi resistensi akibat pemakaian antibiotik.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun *M. indica* L. menghambat pertumbuhan *S. aureus* paling efektif pada konsentrasi 100%. Ekstrak etanol daun *M. indica* L. menghambat pembentukan biofilm *S. aureus* paling baik pada masa inkubasi 3 jam, yaitu pada fase adhesi inisial dan konsentrasi 50% menghambat pembentukan biofilm lebih efektif dibanding kontrol positif.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium *Microbiology Centre of Research and Education* (MiCORE), Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Trisakti karena telah membantu jalannya penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Sanders JL, Houck RC. Dental Abscess. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021.
- Shweta N, Prakash SK. Dental abscess: a microbiological review. Dent Res J. 2013;10(5):585–591.
- Archer NK, Mazaitis MJ, Costerton JW, Leid JG, Powers ME, Shirtliff ME. Staphylococcus aureus biofilms: properties, regulation, and roles in human disease. Virulence. 2011;2(5):445–459.
- Taylor TA, Unakal CG. Staphylococcus aureus. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021.
- Periasamy S, Joo H-S, Duong AC, Bach T-HL, Tan VY, Chatterjee SS. How Staphylococcus aureus biofilms develop their characteristic structure. Proc Natl Acad Sci. 2012;109(4):1281–1286.
- Huang R, Li M, Gregory RL. Bacterial interactions in dental biofilm. Virulence. 2011;2(5):435–444.

7. Siqueira JF, Rôças IN. Microbiology and treatment of acute apical abscesses. *Clin Microbiol Rev.* 2013;26(2):255–273.
8. Akhavan BJ, Khanna NR, Vijhani P. Amoxicillin. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 [cited 2021 May 13]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482250/>
9. Evans J, Hannood M, Wittler M. Amoxicillin clavulanate. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021.
10. Cardenas V, Mendoza R, Chiong L, del Aguila E. Comparison of the Antibacterial Activity of the Ethanol Extract vs Hydroalcoholic Extract of the Leaves of *Mangifera indica* L. (Mango) in Different Concentrations: An In Vitro Study. *J Contemp Dent Pract.* 2020;21(2):202-206
11. Humaida R. Strategy to handle resistance of antibiotics. *J Major.* 2014;3(7):113–120.
12. Bantawa K, Sah SN, Subba Limbu D, Subba P, Ghimire A. Antibiotic resistance patterns of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella* and *Vibrio* isolated from chicken, pork, buffalo and goat meat in eastern Nepal. *BMC Res Notes.* 2019;12:766
13. Deyno S, Fekadu S, Astatkie A. Resistance of *Staphylococcus aureus* to antimicrobial agents in Ethiopia: a meta-analysis. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2017;6:85
14. Chirayath RB, A. AV, Jayakumar R, Biswas R, Vijayachandran LS. Development of *Mangifera indica* leaf extract incorporated carbopol hydrogel and its antibacterial efficacy against *Staphylococcus aureus*. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2019;178:377–384.
15. Cahyanto T, Fadillah A, Ulfa RA, Hasby RM, Kinasih I. Kadar Mangiferin Pada Lima Kultivar Pucuk Daun Mangga (*Mangifera indica* L.). *Al-Kauniyah J Biol.* 2020;13(2):242–249.
16. Kurniasih R. Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Muhammadiyah Surakarta 2016. :11.
17. Vukosavljevic D, Custodio W, Buzalaf MAR, Hara AT, Siqueira WL. Acquired pellicle as a modulator for dental erosion. *Arch Oral Biol.* 2014;59(6):631–638.
18. Joshua M, Takudzwa M. Antibacterial Properties of *Mangifera Indica* On *Staphylococcus aureus*. *Afr J Cln Exper Microbiol.* 2013;14(2):62-74.
19. Lu L, Hu W, Tian Z, Yuan D, Yi G, Zhou Y, et al. Developing natural products as potential anti-biofilm agents. *Chin Med.* 2019;14:11-17
20. Ningsih Dr. Ekstrak Daun Mangga (*Mangifera Indica* L.) Sebagai Antijamur Terhadap Jamur *Candida Albicans* dan Identifikasi Golongan Senyawanya. *J Kim Ris.* 2017;2(1):61.
21. Ma Y, Ding S, Fei Y. Antimicrobial activity of catechins against foodborne pathogens *Escherichia coli* and *Salmonella*. Vol. 106. Elsevier; 2019. 78–80 p.
22. Solano C, Echeverez M, Lasa I. Biofilm dispersion and quorum sensing. *Curr Opin Microbiol.* 2014;18:96–104.
23. Ikalinus R, Widyastuti SK, Setiasih NLE. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*). *Indones Med Veterinus.* 2015;4(1):75.
24. Madduluri S, Rao KB, Sitaram B. In Vitro Evaluation of Antibacterial Activity of Five Indigenous Plants Extracts Against Five Bacteria Pathogens of Humans. *Int J of Pharm and Pharm Sci.* 2013;5:679–684.
25. Norhayati N, Ujrumiah S, Noviany A, Carabelly AN. Antibacterial Potential of Kapul Fruit Skin (*Baccaurea macrocarpa*) on *Streptococcus sanguis*. *Odonto Dent J.* 2019;6(2):118.
26. Aksara R, Musa WJA, Alio L. Identifikasi Senyawa Alkaloid Dari Ekstrak Metanol Kulit Batang Mangga (*Mangifera indica* L.). *J Entropi.* 2013;3(1):6.
27. Husain FM, Ahmad I, Al-thubiani AS, Abulreesh HH, AlHazza IM, Aqil F. Leaf Extracts of *Mangifera indica* L. Inhibit Quorum Sensing – Regulated Production of Virulence Factors and Biofilm in Test Bacteria. *Front Microbiol.* 2017;8:727

SERTIFIKAT

Kementerian Riset dan Teknologi/
Badan Riset dan Inovasi Nasional



Petikan dari Keputusan Menteri Riset dan Teknologi/
Kepala Badan Riset dan Inovasi Nasional
Nomor 85/M/KPT/2020
Peringkat Akreditasi Jurnal Ilmiah Periode 1 Tahun 2020
Nama Jurnal Ilmiah
Journal of Indonesian Dental Association

E-ISSN: 26216175

Penerbit: Persatuan Dokter Gigi Indonesia

Ditetapkan sebagai Jurnal Ilmiah

TERAKREDITASI PERINGKAT 3

Akreditasi Berlaku selama 5 (lima) Tahun, yaitu
Volume 1 Nomor 1 Tahun 2018 sampai Volume 5 Nomor 2 Tahun 2022

Jakarta, 01 April 2020

Menteri Riset dan Teknologi/
Kepala Badan Riset dan Inovasi Nasional
Republik Indonesia,



Bambang P. S. Brodjonegoro
Bambang P. S. Brodjonegoro

Antibiofilm of Arumanis Mango Leaves (*Mangifera indica* L.) Ethanol Extract Against *Staphylococcus aureus* in vitro

by Sheila Soesanto FKG

Submission date: 22-Feb-2024 01:44PM (UTC+0700)

Submission ID: 2301393628

File name: 846_RA_22.pdf (565.61K)

Word count: 3970

Character count: 24022



Indonesian Dental Association

Journal of Indonesian Dental Association

<http://jurnal.pdgi.or.id/index.php/jida>
ISSN: 2621-6183 (Print); ISSN: 2621-6175 (Online)



Research Article

Antibiofilm of Arumanis Mango Leaves (*Mangifera indica* L.) Ethanol Extract Against *Staphylococcus aureus* in vitro

Evangelista Rachel Hepziba¹, Sheila Soesanto^{2§}, Armelia Sari Widyarman³

¹ Undergraduate student, Faculty of Dentistry, Universitas Trisakti University, Indonesia

² Department of Pharmacology, Faculty of Dentistry, Universitas Trisakti, Indonesia

³ Department of Microbiology, Faculty of Dentistry, Universitas Trisakti, Indonesia

Received date: DD MM, YYYY. Accepted date: DD MM, YYYY. Published date: DD MM, YYYY.

KEYWORDS

dentoalveolar abscess;
Staphylococcus aureus;
Mangifera indica L.;
antibacterial;
antibiofilm

ABSTRACT

Introduction: *Staphylococcus aureus* is a pathogen bacteria that forms biofilm and induces acute inflammation associated with dentoalveolar abscess, which needs antibiotics such as amoxicillin for the treatment. Due to antibiotic resistance and various side effects, natural ingredients are needed as an alternative treatment. Arumanis mango leaves (*Mangifera indica* L.) contains mangiferin, flavonoid, and tannin which are expected to inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* and its biofilm formation. **Objective:** The aim of this study was to determine the antibacterial and antibiofilm effects of *Mangifera indica* L. leaves against *Staphylococcus aureus* in vitro. **Methods:** This study was in vitro laboratory experiment with post test only control group design. Antibacterial test was carried out by plate count method and antibiofilm test was carried out by microtiter plate biofilm assay method. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 was cultured in BHI broth in 37°C for 24h with anaerobic condition. The present study used ethanol extract of *Mangifera indica* L. leaves in 6 different concentrations: 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, and 100%. Amoxicillin was used as positive control and DMSO 10% used as negative control. Data was analyzed with Shapiro-wilk test, One-way ANOVA test, and post hoc Tukey HSD test with $p < 0,05$ as the level of significance. **Results:** The most effective concentration to inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* was 100% extract compared to negative control ($p < 0,05$). The most effective concentration against *Staphylococcus aureus* biofilm formation was 100% extract in 3hr incubation compared to negative control ($p < 0,05$). **Conclusion:** Ethanol extract of *Mangifera indica* L. leaves has been shown in vitro to have antibacterial and antibiofilm properties against *Staphylococcus aureus*.

§ Corresponding Author

E-mail address: sheilasoesanto@trisakti.ac.id (Soesanto S)

DOI: [10.32793/jida.v5i2.846](https://doi.org/10.32793/jida.v5i2.846)

Copyright: ©2022 Hepziba ER, Soesanto S, Widyarman AS. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium provided the original author and sources are credited.

KATA KUNCI

abses dentoalveolar;
Staphylococcus aureus;
Mangifera indica L.;
antibakteri;
antibiofilm

ABSTRAK

Pendahuluan: *Staphylococcus aureus* adalah bakteri patogen yang berperan dalam pembentukan biofilm serta menginduksi terjadinya inflamasi akut terkait abses dentoalveolar, sehingga dibutuhkan antibiotik seperti amoksisilin dalam perawatannya. Sehubungan dengan terjadinya resistensi dan berbagai efek samping dari pemakaian antibiotik, maka diperlukan bahan alam sebagai alternatif pengobatan. Daun mangga arumanis (*Mangifera indica* L.) mengandung mangiferin, flavonoid, dan tanin yang diharapkan dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan pembentukan biofilm *Staphylococcus aureus*. **Tujuan:** Mengetahui efek antibakteri dan antibiofilm daun *Mangifera indica* L. terhadap *Staphylococcus aureus* secara in vitro. **Metode:** Eksperimental laboratoris secara in vitro dengan rancangan *post test only control group design*. Uji antibakteri dilakukan dengan metode *plate count* dan uji antibiofilm dilakukan dengan metode *microtiter plate biofilm assay*. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dikultur menggunakan media BHI-B pada suhu 37°C selama 24 jam dalam kondisi anaerob. Larutan uji yang digunakan adalah ekstrak etanol daun *Mangifera indica* L. dalam 6 konsentrasi yang berbeda, yaitu 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100%. Amoksisilin digunakan sebagai kontrol positif dan DMSO 10% sebagai kontrol negatif. Data dianalisis menggunakan uji *Shapiro-wilk*, uji *ANOVA* satu jalan, dan uji *post hoc* Tukey HSD ($p < 0,05$). **Hasil:** Ekstrak konsentrasi 100% memiliki efek antibakteri paling efektif dibandingkan kontrol negatif ($p < 0,05$). Ekstrak konsentrasi 100% masa inkubasi 3 jam memiliki efek antibiofilm paling efektif dibandingkan kontrol negatif ($p < 0,05$). **Kesimpulan:** Ekstrak etanol daun *Mangifera indica* L. terbukti memiliki efek antibakteri dan antibiofilm terhadap *Staphylococcus aureus* secara in vitro.

PENDAHULUAN

Abses dentoalveolar merupakan rongga patologis berisi pus akibat karies sekunder, trauma, kegagalan perawatan saluran akar (PSA), dan *oral hygiene* (OH) yang buruk. Faktor-faktor ini mendukung perkembangan *Staphylococcus aureus* yang berperan penting dalam pembentukan abses dentoalveolar.^{1,2}

Staphylococcus aureus termasuk bakteri Gram positif yang terdapat pada membran mukosa dan kulit manusia maupun hewan. *S. aureus* merupakan mikroflora normal yang tidak menyebabkan penyakit, namun saat terjadi penurunan daya tahan tubuh dan ketidakseimbangan mikroorganisme, *S. aureus* akan berkembang menjadi patogen. Infeksi akibat bakteri ini antara lain peradangan, nekrosis, infeksi mukosa dan kulit, infeksi saluran pernafasan, serta terjadinya abses.^{3,4} Pembentukan biofilm merupakan tahap awal terjadinya abses dentoalveolar melalui kolonisasi beberapa bakteri sehingga menimbulkan respon inflamasi.^{1,2} *S. aureus* memiliki biofilm berlapis yang tertanam dalam lapisan glikokalik dengan ekspresi protein heterogen.⁵ Faktor virulensi *S. aureus* dalam pembentukan biofilm antara lain kapsul, adhesin, koagulase, hyaluronidase, stafilokinase, α toksin, β toksin, enterotoksin, dan leukosidin.⁶ Abses dentoalveolar harus diatasi secara dini melalui tindakan insisi drainase, perawatan saluran akar, pemberian antibiotik, dan pencabutan gigi untuk mencegah penyebaran lebih lanjut ke struktur anatomi yang berdekatan.⁷

Antibiotik yang sering digunakan untuk mengatasi abses dentoalveolar antara lain amoksisilin, penisilin, metronidazole, klindamisin, sefalosporin, dan eritromisin.^{1,2} Amoksisilin merupakan antibiotik spektrum luas turunan penisilin yang menghambat bakteri Gram positif dan negatif melalui pengikatan pada *Penicillin Binding Protein* (PBP) yang akan menghambat proses transpeptidasi. Namun demikian, amoksisilin dapat menimbulkan efek samping seperti mual, muntah, dan diare.^{8,9}

Belakangan ini, resistensi bakteri terhadap antibiotik meningkat, akibatnya infeksi yang bersifat sedang sulit dikendalikan. Hal ini terjadi akibat penggunaan antibiotik secara berlebihan maupun tidak tepat sasaran.¹⁰ Resistensi akan mengurangi efektivitas obat sehingga bakteri gagal memberikan respons terhadap pengobatan dan meminimalkan kadar hambat bakteri pada pemberian dosis normal.¹¹ Penelitian terhadap daging mentah yang terkontaminasi *S. aureus* di Nepal menunjukkan adanya resistensi terhadap amoksisilin.¹² Hasil studi meta analisis terhadap antimikrobal yang sering digunakan di Ethiopia menunjukkan adanya tingkat resistensi *S. aureus* yang tinggi terhadap amoksisilin sebesar 77% (95% confidence interval (CI): 68%, 0.85%).¹³

Alternatif pengobatan herbal banyak dikembangkan untuk meminimalkan efek samping dan resistensi dari antibiotik. Campuran berbagai komponen aktif pada obat herbal akan menimbulkan efek antibakterial yang sinergis sehingga bermanfaat dalam menimbulkan efek terapi.

Salah satu pengobatan herbal dengan mangiferin sebagai komponen aktif yang bersifat antibakteri adalah daun *M. indica* L atau mangga arumanis. Daun *M. indica* L. dapat mengobati berbagai macam penyakit seperti demam, diare, diabetes, infeksi saluran pernafasan, infeksi gigi dan gusi. Ekstrak etanol daun *M. indica* L mengandung senyawa metabolit sekunder seperti fenol (mangiferin, tanin, flavonoid), alkaloid, saponin, dan steroid yang memiliki khasiat antibakteri, antimikroba, antioksidan, antiinflamasi, antifungal, antivirus, antialergi, antidiabetes, antikanker, antitumor, dan analgesik. Fenol pada daun *M. indica* L. dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*, *Shigella flexneri*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pyogenes*, *Bacillus cereus*, dan *Staphylococcus aureus*. Hasil studi yang menelaah tentang daun *M. indica* L menyatakan bahwa tidak ada resistensi daun *M. indica* L terhadap *S. aureus*.¹⁴ Oleh sebab itu, penelitian ini bertujuan untuk menetapkan efek ekstrak etanol daun *M. indica* L. terhadap pertumbuhan dan pembentukan biofilm *S. aureus* secara *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

1 Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris secara *in vitro* dengan rancangan *post test only control group design* yang dilakukan di Laboratorium Microbiology Centre of Research and Education (MiCORE), Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Trisakti, Jakarta, Indonesia. Larutan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah Dimetil Sulfoksida (DMSO) 10% sebagai kontrol negatif, amoksisilin sebagai kontrol positif, dan ekstrak etanol daun *M. indica* L. dengan konsentrasi 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100%. Penelitian ini memiliki 8 kelompok perlakuan dengan 3 kali pengulangan pada setiap kelompok yang dihitung dengan rumus Federer ($n = \text{jumlah pengulangan dan } t = \text{jumlah kelompok perlakuan dalam penelitian}$) sebagai berikut :

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

$$\begin{aligned} (n-1)(t-1) &> 15 \\ (n-1)(8-1) &> 15 \\ (n-1)(7) &> 15 \\ n-1 &> 2,142 \\ n &> 3,142 = 3 \text{ kali pengulangan} \end{aligned}$$

Ekstrak Etanol Daun *M. indica* L.

Pembuatan ekstrak etanol daun mangga arumanis (*Mangifera indica* L.) dilakukan di Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITTRO) di Bogor, Jawa Barat, Indonesia. Ekstrak etanol daun *M. indica* L. dibuat dengan metode maserasi. Daun mangga dicuci, dikeringkan, dan dihaluskan. Serbuk daun mangga

direndam menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:5. Proses maserasi dilakukan selama 2-3 jam lalu hasil maserat didiamkan selama 24 jam dan disaring hingga didapatkan ekstrak kental. Ekstrak 100% diencerkan dengan DMSO 10% hingga didapatkan ekstrak konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, dan 3,125%.

Kultur Bakteri

Staphylococcus aureus ATCC 25923 dari Laboratorium MiCORE, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Trisakti yang dikultur pada medium *Brain Heart Infusion Broth/BHI-B* (Sigma Aldrich, Burlington, Amerika) dan diinkubasi dalam *anaerobic jar* (Oxoid, Basingstoke, Inggris) dengan suhu 37°C selama 24 jam dalam kondisi anaerob. Kemudian, dilakukan pengukuran absorbansi hingga didapatkan standar McFarland 0,5 = $1,5 \times 10^8$ CFU/mL ($OD_{600} = 0,132$).

Plate Count

Uji antibakteri dilakukan dengan metode mikrodilusi. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang telah dikultur didistribusikan ke dalam sumuran 96-well plates (Nest Biotech, Jiangsu, Cina) menggunakan mikropipet (Lambda, San Fransisco, Amerika) sebanyak 100 µL. Larutan uji sebanyak 100 µL ditambahkan ke dalam sumuran dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dalam keadaan anaerob. Kemudian, masing-masing perlakuan diencerkan sebanyak 10.000 kali lalu diambil sebanyak 5 µL dan diletakkan pada media *Brain Heart Infusion Agar* (BHI-A) dalam cawan petri. Pertumbuhan koloni bakteri dihitung setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Microtiter Plate Biofilm Assay

Kultur bakteri sebanyak 200 µL dimasukkan pada setiap sumuran 96-well plates menggunakan mikropipet dan diinkubasi dalam inkubator (Jisico, Seoul, Korea Selatan) pada suhu 37°C selama 24 jam dalam keadaan anaerob. Kemudian setelah diinkubasi, supernatan yang terbentuk dibuang hingga tersisa selapis tipis pada permukaan sumuran dan dibilas menggunakan *Phosphate Buffer Saline/PBS* (Biomatik, Ontario, Kanada). Ekstrak etanol daun *M. indica* L. konsentrasi 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100%, amoksisilin sebagai kontrol positif, dan biofilm tanpa perlakuan sebagai kontrol negatif ditambahkan pada masing-masing sumuran sebanyak 200 µL. Kemudian diinkubasi selama 1, 3, dan 24 jam pada suhu 37°C. Sumuran dibilas sebanyak 2 kali dengan PBS dan difiksasi diatas api. Kristal violet (Merck, Darmstadt, Jerman) ditambahkan dalam sumuran sebanyak 200 µL dan didiamkan selama

15 menit. Pembilasan dilakukan lagi sebanyak 2 kali dan didiamkan selama 15 menit. Etanol 96% ditambahkan sebanyak 200 µL lalu dilakukan pengukuran *Optical Density* (OD) menggunakan *microplate reader* (Safas, Monaco, Monaco) dengan panjang gelombang 490 nm.

Analisis Statistik

Data penelitian diolah dengan program komputer *Statistical Product and Service Solution* (SPSS) versi 26. Uji normalitas menggunakan metode *Shapiro-Wilk*. Jika data terdistribusi normal ($p > 0,05$), maka dilanjutkan dengan uji *Analysis of Variance* (ANOVA) satu jalan. Kelompok data yang bermakna ($p < 0,05$) akan dilanjutkan dengan uji *post hoc* menggunakan metode *Tukey Honestly Significance Difference* (HSD) dengan tingkat kemaknaan $p < 0,05$ untuk mengetahui adanya perbedaan bermakna antar kelompok.

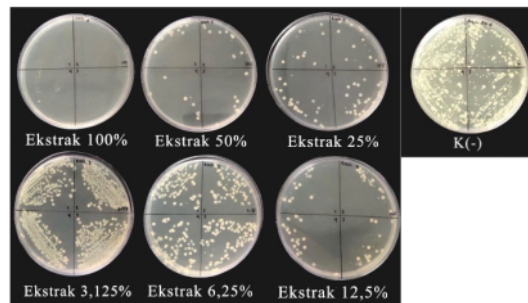
HASIL

4 Hasil uji antibakteri menggunakan metode plate count menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun *M. indica* L. menghambat pertumbuhan *S. aureus* (Gambar 1 dan 2). Ekstrak konsentrasi 100% memperlihatkan efek antibakteri yang paling efektif terhadap *S. aureus* dengan total koloni sebesar $(1 \pm 0,58) \times 10^6$ CFU/mL.

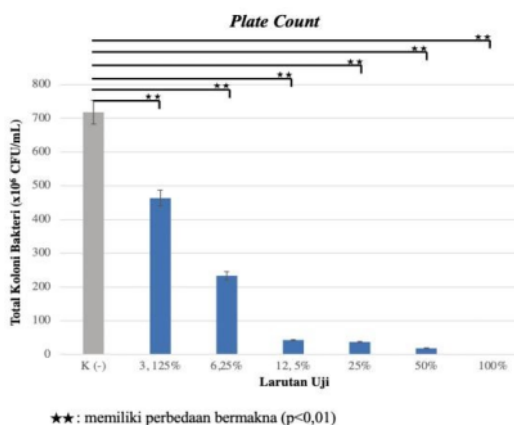
Hasil uji biofilm metode *microtiter plate biofilm assay* menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun *M. indica* L. memiliki efek antibiofilm terhadap *S. aureus*. Ekstrak konsentrasi 25% memiliki tertinggi terhadap biofilm *S. aureus* setelah inkubasi 1 jam dengan nilai OD $0,08 \pm 0,01$ (Gambar 3). Ekstrak konsentrasi 100% memiliki daya hambat tertinggi terhadap biofilm *S. aureus* setelah inkubasi 3 jam dengan nilai OD $0,14 \pm 0,05$ (Gambar 4). Pada masa inkubasi 24 jam, konsentrasi 100% memiliki daya hambat tertinggi terhadap biofilm *S. aureus* dengan nilai OD $0,15 \pm 0,04$ (Gambar 5).

Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa seluruh kelompok data terdistribusi normal ($p > 0,05$) dan terdapat perbedaan bermakna antar larutan uji ($p < 0,05$). Hasil uji *post hoc Tukey HSD* pada uji antibakteri, seluruh konsentrasi larutan uji menunjukkan perbedaan bermakna terhadap kontrol negatif.

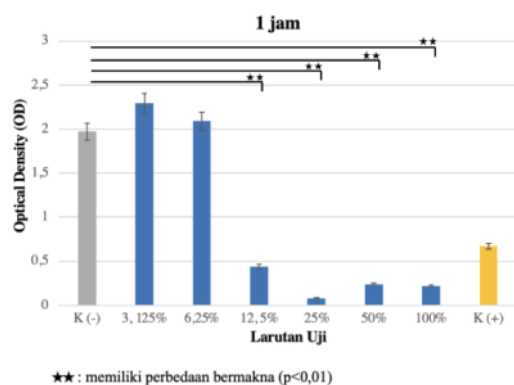
Pada uji antibiofilm pada masa inkubasi 1 jam, ekstrak etanol daun *M. indica* L. mulai konsentrasi 12,5% berbeda bermakna terhadap kontrol negatif. Pada masa inkubasi 3 jam seluruh konsentrasi ekstrak etanol daun *M. indica* L. berbeda bermakna terhadap kontrol negatif. Sementara itu, masa inkubasi 24 jam, ekstrak etanol daun *M. indica* L. mulai konsentrasi 50% berbeda bermakna terhadap kontrol negatif.



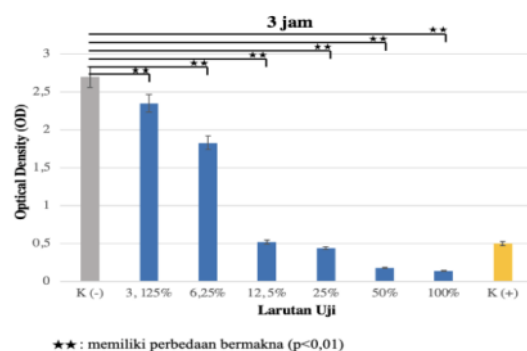
Gambar 1. Hasil uji daya hambat pertumbuhan *S. aureus* metode plate count



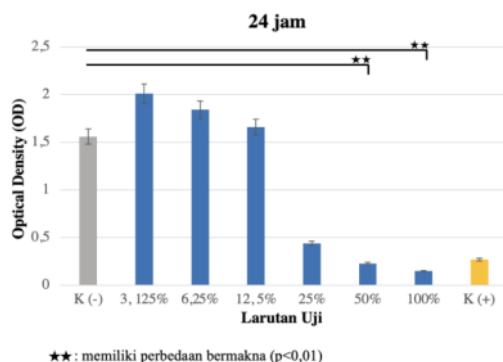
Gambar 2. Pertumbuhan total koloni *S. aureus* setelah diberikan ekstrak etanol daun *M. indica* L. Amoksisilin digunakan sebagai kontrol positif dan DMSO 10% sebagai kontrol negatif



Gambar 3. Pembentukan biofilm *S. aureus* setelah diberikan ekstrak etanol daun *M. indica* L. pada masa inkubasi 1 jam. Amoksisilin digunakan sebagai kontrol positif dan biofilm tanpa perlakuan sebagai kontrol negatif



Gambar 4. Pembentukan biofilm *S. aureus* setelah diberikan ekstrak etanol daun *M. indica* L. pada masa inkubasi 3 jam. Amoksisilin digunakan sebagai kontrol positif dan biofilm tanpa perlakuan sebagai kontrol negatif



Gambar 5. Pembentukan biofilm *S. aureus* setelah diberikan ekstrak etanol daun *M. indica* L. pada masa inkubasi 24 jam. Amoksisilin digunakan sebagai kontrol positif dan biofilm tanpa perlakuan sebagai kontrol negatif

PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan jenis mangga arumanis yang memiliki kandungan mangiferin tertinggi dibandingkan jenis mangga lainnya.¹⁵ Belum banyak penelitian tentang daun *M. indica* L. sebagai antibakteri dan antibiofilm terhadap *S. aureus in vitro*, maka pada penelitian ini digunakan konsentrasi ekstrak dari 3,125% hingga 100%. Diharapkan penelitian ini dapat menjadi landasan untuk mendapatkan konsentrasi yang lebih akurat dalam menghambat pertumbuhan dan pembentukan biofilm *S. aureus*.

Pada uji antibakteri, seluruh konsentrasi ekstrak etanol daun *M. indica* L. menunjukkan jumlah koloni bakteri yang lebih sedikit dan berbeda bermakna

($p < 0,01$) terhadap kontrol negatif. Hal ini membuktikan ekstrak memiliki efek antibakteri terhadap pertumbuhan *S. aureus* secara *in vitro*. Sejalan dengan bertambah besarnya konsentrasi ekstrak, jumlah koloni bakteri yang terbentuk semakin sedikit. Ekstrak menghambat pertumbuhan *S. aureus* mulai konsentrasi 3,125% dan konsentrasi 100% memiliki efek antibakteri paling efektif dengan total koloni bakteri paling sedikit yaitu sebesar $(1 \pm 0,58) \times 10^6$ CFU/mL. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Kurniasih dkk bahwa ekstrak daun *M. indica* L menghambat pertumbuhan *S. mutans* menggunakan metode yang berbeda, yaitu metode difusi cakram. Diameter zona hambat yang terbentuk pada penelitian ini bertambah besar sejalan dengan bertambah tingginya konsentrasi ekstrak.¹⁶ Ekstrak daun *M. indica* L. menunjukkan aktivitas antibakteri yang poten dinyatakan oleh Cardenas et al. yang melakukan perbandingan aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan ekstrak hidroalkoholik daun *M. indica* L terhadap *S. aureus*. Pada penelitian ini, ekstrak *M. indica* L. dengan pelarut hidroalkoholik 50% dan 100% menunjukkan zona hambatan yang lebih besar daripada pelarut etanol.¹⁰

Penelitian ini menggunakan tiga masa inkubasi pada metode biofilm assay yaitu 1 jam, 3 jam, dan 24 jam. Pembentukan biofilm terjadi pada menit pertama di mana terjadi fase pembentukan pelikel, dilanjutkan fase adhesi inisial selama 2 sampai 4 jam, dan fase maturasi sel selama 24 jam. Pada tahap ini, biofilm sudah terbentuk sempurna 1.000-1.500 kali lebih resisten dibandingkan bakteri planktonik.¹⁷ Perbedaan waktu ini bertujuan untuk mengetahui waktu yang paling efektif dibutuhkan oleh ekstrak etanol daun *M. indica* L. dalam menghambat pembentukan biofilm *S. aureus*.

Hasil uji antibiofilm menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun *M. indica* L. dapat menghambat pertumbuhan biofilm *S. aureus* secara *in vitro*. Pada masa inkubasi 1 jam ekstrak etanol daun *M. indica* L. menghambat pembentukan biofilm *S. aureus* pada paling efektif pada konsentrasi 25% ($OD = 0,08 \pm 0,01$). Ekstrak konsentrasi 12,5% hingga 100 % memiliki nilai OD lebih kecil ($p < 0,01$) dan berbeda bermakna terhadap kontrol positif. Dengan demikian, ekstrak mulai 12,5% lebih efektif dibanding kontrol positif. Sementara itu, pada inkubasi 3 jam, seluruh konsentrasi ekstrak memiliki nilai OD yang lebih rendah dan berbeda bermakna ($p < 0,01$) terhadap kontrol negatif, yang berarti bahwa seluruh konsentrasi ekstrak memiliki daya hambat terhadap pembentukan biofilm *S. aureus* dan ekstrak konsentrasi 50% ($OD = 0,18 \pm 0,07$) memiliki efek antibiofilm paling efektif. Ekstrak konsentrasi 50% dan 100% memiliki efek antibiofilm terhadap *S. aureus* lebih efektif dibandingkan dengan kontrol positif. Hal ini ditunjukkan dengan nilai OD lebih kecil dan berbeda bermakna terhadap kontrol

positif. Pada masa inkubasi 24 jam, ekstrak etanol daun *M. indica* L. konsentrasi 50% ($OD = 0,23 \pm 0,02$) memiliki efek antibiofilm paling efektif. Ekstrak konsentrasi 50% dan 100% menunjukkan hasil lebih efektif dibandingkan dengan kontrol positif. Bila dibandingkan dengan masa inkubasi 3 jam, aktivitas antibiofilm ekstrak konsentrasi 3,125%, 6,25%, dan 12,5% bersifat bakteristatik yang dibuktikan dengan peningkatan nilai OD pada masa inkubasi 24 jam.¹⁸ Berdasarkan hasil di atas, maka ekstrak etanol daun *M. indica* L. menghambat pembentukan biofilm *S. aureus* terbaik pada masa inkubasi 3 jam, yaitu pada fase adhesi inisial.

Pembentukan biofilm dapat didefinisikan sebagai salah satu penyebab utama bakteri mengembangkan resistensi terhadap antibiotik.¹⁹ Biofilm yang dihasilkan *S. aureus* memiliki lapisan polisakarida ekstraseluler homolog sebagai matriks yang membantu adhesi koloni bakteri ke permukaan yang berbeda-beda. Selain itu, biofilm dapat memperpanjang waktu kolonisasi *S. aureus*, infeksi, dan penyebaran ke berbagai bagian tubuh.²⁰ Hasil penelitian ini menunjukkan, bahwa ekstrak etanol daun *M. indica* L. yang mengandung senyawa fenolik, flavonoid, saponin, tanin, alkaloid, dan steroid yang memiliki potensi sebagai antibakteri dan antibiofilm terhadap *S. aureus*.²⁰ Senyawa fenol yang paling banyak terdapat pada daun *M. indica* L. adalah mangiferin yang memiliki efek antimikroba. Flavonoid mengubah membran sitoplasma yang mengakibatkan terhambatnya pertukaran nutrisi dan metabolit sehingga suplai energi bakteri berkurang yang diikuti kematian bakteri.²¹ Pada proses pembentukan biofilm, flavonoid dapat mengganggu mekanisme quorum sensing yang merupakan sistem komunikasi antar sel dengan berbagai fungsi seluler seperti patogenesis, perolehan nutrisi, konjugasi, motilitas, dan produksi metabolit sekunder dari bakteri.^{22,23} Saponin dapat meningkatkan permeabilitas membran dan dinding sel melalui proses difusi sehingga mengganggu kestabilan sel.²⁴ Tanin bekerja dengan melarutkan lapisan lemak dan mengikat protein pembentuk dinding sel.²⁵ Alkaloid mengganggu terbentuknya dinding peptidoglikan sel bakteri sehingga tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel.²⁶ Senyawa steroid dalam interaksinya dengan fosfolipid sel juga dapat menyerang membran lipid sehingga terjadi kebocoran lisosom yang menurunkan integritas membran sel serta diikuti lisisnya sel.²⁴

Perkembangan biofilm dipengaruhi oleh pelepasan senyawa polimer ekstraseluler yang dimediasi oleh quorum sensing (QS) yang berperan dalam regulasi gen termasuk faktor virulensi pada *S. aureus*. *Mangifera indica* L. merupakan QS inhibitor yang dapat menonaktifkan sistem QS sehingga mencegah produksi

faktor virulensi dan menghambat pertumbuhan dari *S. aureus*.²⁷

Penelitian ini merupakan penelitian awal, oleh karena itu dibutuhkan penelitian lanjutan untuk mengkonfirmasi hasil penelitian ini. Pada penelitian selanjutnya, diharapkan pada ekstrak etanol daun *M. indica* L. dilakukan uji toksisitas, preklinis, dan klinis secara *in vivo* agar dapat menjadi alternatif pengobatan pada abses dentoalveolar dalam mengurangi resistensi akibat pemakaian antibiotik.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun *M. indica* L. menghambat pertumbuhan *S. aureus* paling efektif pada konsentrasi 100%. Ekstrak etanol daun *M. indica* L. menghambat pembentukan biofilm *S. aureus* paling baik pada masa inkubasi 3 jam, yaitu pada fase adhesi inisial dan konsentrasi 50% menghambat pembentukan biofilm lebih efektif dibanding kontrol positif.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium Microbiology Centre of Research and Education (MiCORE), Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Trisakti karena telah membantu jalannya penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sanders JL, Houck RC. Dental Abscess. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021.
2. Shweta N, Prakash SK. Dental abscess: a microbiological review. Dent Res J. 2013;10(5):585–591.
3. Archer NK, Mazaitis MJ, Costerton JW, Leid JG, Powers ME, Shirtliff ME. Staphylococcus aureus biofilms: properties, regulation, and roles in human disease. Virulence. 2011;2(5):445–459.
4. Taylor TA, Unakal CG. Staphylococcus aureus. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021.
5. Periasamy S, Joo H-S, Duong AC, Bach T-HL, Tan VY, Chatterjee SS. How Staphylococcus aureus biofilms develop their characteristic structure. Proc Natl Acad Sci. 2012;109(4):1281–1286.
6. Huang R, Li M, Gregory RL. Bacterial interactions in dental biofilm. Virulence. 2011;2(5):435–444.

7. Siqueira JF, Rôças IN. Microbiology and treatment of acute apical abscesses. *Clin Microbiol Rev.* 2013;26(2):255–273.
8. Akhavan BJ, Khanna NR, Vijhani P. Amoxicillin. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 [cited 2021 May 13]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482250/>
9. Evans J, Hannood M, Wittler M. Amoxicillin clavulanate. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021.
10. Cardenas V, Mendoza R, Chiong L, del Aguila E. Comparison of the Antibacterial Activity of the Ethanol Extract vs Hydroalcoholic Extract of the Leaves of *Mangifera indica* L. (Mango) in Different Concentrations: An In Vitro Study. *J Contemp Dent Pract.* 2020;21(2):202–206
11. Humaida R. Strategy to handle resistance of antibiotics. *J Major.* 2014;3(7):113–120.
12. Bantawa K, Sah SN, Subba Limbu D, Subba P, Ghimire A. Antibiotic resistance patterns of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella* and *Vibrio* isolated from chicken, pork, buffalo and goat meat in eastern Nepal. *BMC Res Notes.* 2019;12:766
13. Deyno S, Fekadu S, Astatkie A. Resistance of *Staphylococcus aureus* to antimicrobial agents in Ethiopia: a meta-analysis. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2017;6:85
14. Chirayath RB, A. AV, Jayakumar R, Biswas R, Vijayachandran LS. Development of *Mangifera indica* leaf extract incorporated carbopol hydrogel and its antibacterial efficacy against *Staphylococcus aureus*. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2019;178:377–384.
15. Cahyanto T, Fadillah A, Ulfa RA, Hasby RM, Kinasih I. Kadar Mangiferin Pada Lima Kultivar Pucuk Daun Mangga (*Mangifera indica* L.). *Al-Kauniyah J Biol.* 2020;13(2):242–249.
16. Kurniasih R. Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Muhammadiyah Surakarta 2016. :11.
17. Vukosavljevic D, Custodio W, Buzalaf MAR, Hara AT, Siqueira WL. Acquired pellicle as a modulator for dental erosion. *Arch Oral Biol.* 2014;59(6):631–638.
18. Joshua M, Takudzwa M. Antibacterial Properties of *Mangifera Indica* On *Staphylococcus aureus*. *Afr J Cln Exper Microbiol.* 2013;14(2):62–74.
19. Lu L, Hu W, Tian Z, Yuan D, Yi G, Zhou Y, et al. Developing natural products as potential anti-biofilm agents. *Chin Med.* 2019;14:11–17
20. Ningsih Dr. Ekstrak Daun Mangga (*Mangifera Indica* L.) Sebagai Antijamur Terhadap Jamur *Candida Albicans* dan Identifikasi Golongan Senyawanya. *J Kim Ris.* 2017;2(1):61.
21. Ma Y, Ding S, Fei Y. Antimicrobial activity of catechins against foodborne pathogens *Escherichia coli* and *Salmonella*. Vol. 106. Elsevier; 2019. 78–80 p.
22. Solano C, Echeverz M, Lasa I. Biofilm dispersion and quorum sensing. *Curr Opin Microbiol.* 2014;18:96–104.
23. Ikalinus R, Widyastuti SK, Setiasih NLE. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*). *Indones Med Veterinus.* 2015;4(1):75.
24. Madduluri S, Rao KB, Sitaram B. In Vitro Evaluation of Antibacterial Activity of Five Indigenous Plants Extracts Against Five Bacteria Pathogens of Humans. *Int J of Pharm and Pharm Sci.* 2013;5:679–684.
25. Norhayati N, Ujrumiah S, Noviany A, Carabelly AN. Antibacterial Potential of Kapul Fruit Skin (*Baccaurea macrocarpa*) on *Streptococcus sanguis*. *Odonto Dent J.* 2019;6(2):118.
26. Aksara R, Musa WJA, Alio L. Identifikasi Senyawa Alkaloid Dari Ekstrak Metanol Kulit Batang Mangga (*Mangifera indica* L.). *J Entropi.* 2013;3(1):6.
27. Husain FM, Ahmad I, Al-thubiani AS, Abulreesh HH, AlHazza IM, Aqil F. Leaf Extracts of *Mangifera indica* L. Inhibit Quorum Sensing – Regulated Production of Virulence Factors and Biofilm in Test Bacteria. *Front Microbiol.* 2017;8:727

Antibiofilm of Arumanis Mango Leaves (*Mangifera indica* L.) Ethanol Extract Against *Staphylococcus aureus* in vitro

ORIGINALITY REPORT

16%

SIMILARITY INDEX

16%

INTERNET SOURCES

9%

PUBLICATIONS

5%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	ejournal.unsrat.ac.id Internet Source	3%
2	www.repository.trisakti.ac.id Internet Source	3%
3	123dok.com Internet Source	1%
4	repo.poltekkes-medan.ac.id Internet Source	1%
5	journal.ipm2kpe.or.id Internet Source	1%
6	trijurnal.lemlit.trisakti.ac.id Internet Source	1%
7	Submitted to Sriwijaya University Student Paper	1%
8	jurnal.untan.ac.id Internet Source	1%
9	contempclindent.org Internet Source	1%

10	Nurhayat Nurhayat, Yuliar Yuliar, Mauritz Pandapotan Marpaung. "Analisis Efek Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Senggani (<i>Melastoma malabathricum</i> L.) sebagai Antibakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ", JURNAL KESEHATAN POLTEKKES KEMENKES RI PANGKALPINANG, 2020 Publication	1 %
11	Amr Hassan, Fawziah A. AL-Salmi, Muneera A. Saleh, Jean-Marc Sabatier et al. " Inhibition Mechanism of Methicillin-Resistant by Zinc Oxide Nanorods via Suppresses Penicillin-Binding Protein 2a ", ACS Omega, 2023 Publication	1 %
12	anzdoc.com Internet Source	1 %
13	vdocuments.site Internet Source	1 %
14	Submitted to Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Trisakti Student Paper	1 %
15	worldwidescience.org Internet Source	1 %
16	jurnal.wima.ac.id Internet Source	1 %

Exclude quotes On

Exclude matches

< 15 words

Exclude bibliography On

Antibiofilm of Arumanis Mango Leaves (Mangifera indica L.) Ethanol Extract Against Staphylococcus aureus in vitro

GRADEMARK REPORT

FINAL GRADE

GENERAL COMMENTS

/0

PAGE 1

PAGE 2

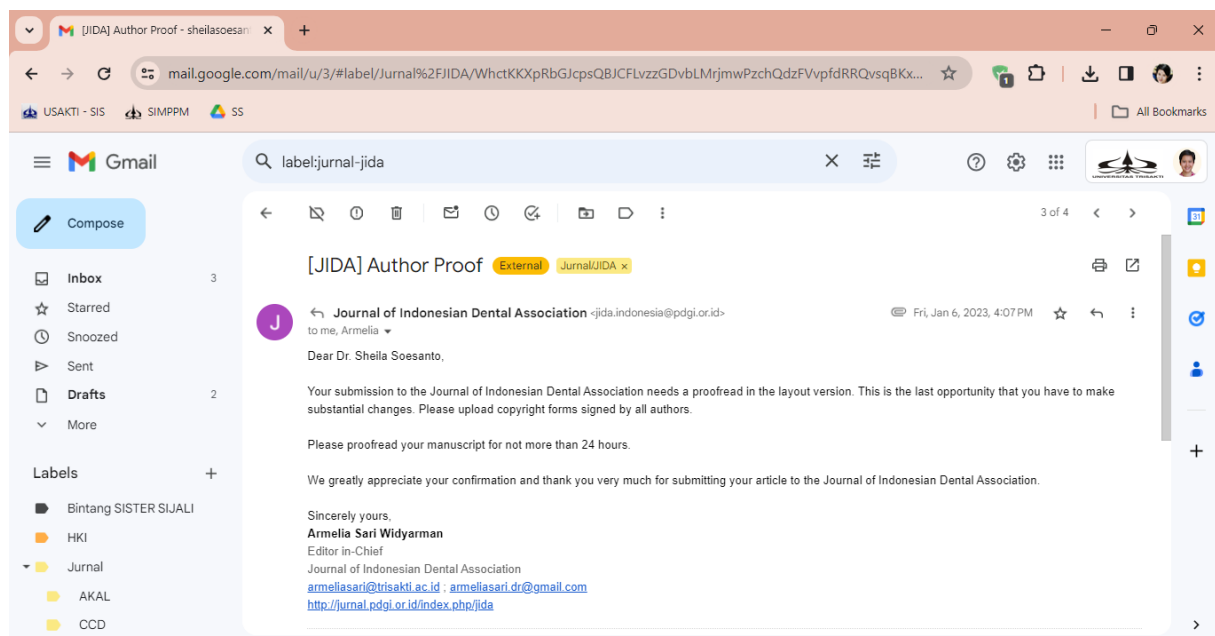
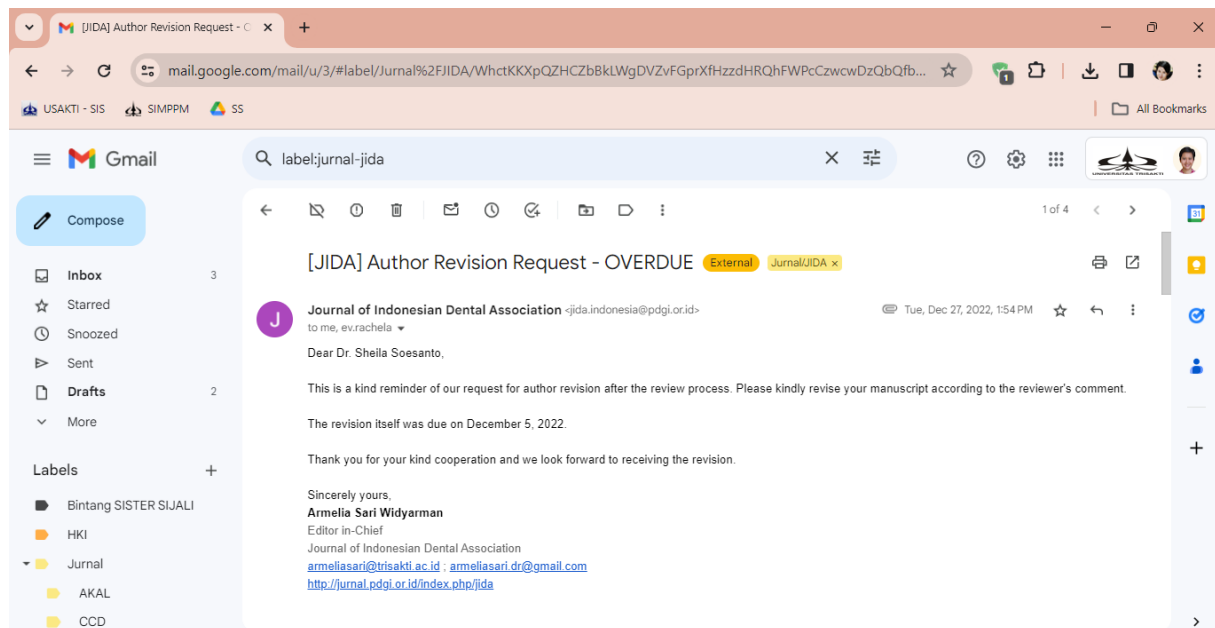
PAGE 3

PAGE 4

PAGE 5

PAGE 6

PAGE 7



Antibiofilm of Arumanis Mango Leaves (*Mangifera indica* L.) Ethanol Extract Against *Staphylococcus aureus* in vitro

ABSTRACT

Introduction: *Staphylococcus aureus* is a pathogen bacteria that forms biofilm and induces acute inflammation associated with dentoalveolar abscess, which needs antibiotics such as amoxicillin for the treatment. Due to antibiotic resistance and various side effects, natural ingredients are needed as an alternative treatment. Arumanis mango leaves (*Mangifera indica* L.) contains mangiferin, flavonoid, and tannin which are expected to inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* and its biofilm formation. **Objective:** The aim of this study was to determine the antibacterial and antibiofilm effects of *Mangifera indica* L. leaves against *Staphylococcus aureus* in vitro. **Methods:** This study was in vitro laboratory experiment with post test only control group design. Antibacterial test was carried out by plate count method and antibiofilm test was carried out by microtiter plate biofilm assay method. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 was cultured in BHI broth in 37°C for 24h with anaerobic condition. The present study used ethanol extract of *Mangifera indica* L. leaves in 6 different concentrations: 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, and 100%. Amoxicillin was used as positive control and DMSO 10% used as negative control. Data was analyzed with Shapiro-wilk test, One-way ANOVA test, and post hoc Tukey HSD test with $p < 0,05$ as the level of significance. **Results:** The most effective concentration to inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* was 100% extract compared to negative control ($p < 0,05$). The most effective concentration against *Staphylococcus aureus* biofilm formation was 100% extract in 3hr incubation compared to negative control ($p < 0,05$). **Conclusion:** Ethanol extract of *Mangifera indica* L. leaves has been shown in vitro to have antibacterial and antibiofilm properties against *Staphylococcus aureus*.

Keywords: dentoalveolar abscess, *Staphylococcus aureus*, *Mangifera indica* L., antibacterial, antibiofilm

ABSTRAK

Latar belakang: *Staphylococcus aureus* adalah bakteri patogen yang berperan dalam pembentukan biofilm serta menginduksi terjadinya inflamasi akut terkait abses dentoalveolar, sehingga dibutuhkan antibiotik seperti amoksisilin dalam perawatannya. Sehubungan dengan terjadinya resistensi dan berbagai efek samping dari pemakaian antibiotik, maka diperlukan bahan alam sebagai alternatif pengobatan. Daun mangga arumanis (*Mangifera indica* L.) mengandung mangiferin, flavonoid, dan tanin yang diharapkan dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan pembentukan biofilm *Staphylococcus aureus*. **Tujuan:** Mengetahui efek antibakteri dan antibiofilm daun *Mangifera indica* L. terhadap *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. **Metode:** Eksperimental laboratoris secara *in vitro* dengan rancangan *post test only control group design*. Uji antibakteri dilakukan dengan metode *plate count* dan uji antibiofilm dilakukan dengan metode *microtiter plate biofilm assay*. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dikultur menggunakan media BHI-B pada suhu 37°C selama 24 jam dalam kondisi anaerob. Larutan uji yang digunakan adalah ekstrak etanol daun *Mangifera indica* L. dalam 6 konsentrasi yang berbeda, yaitu 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100%. Amoksisilin digunakan sebagai kontrol positif dan DMSO 10% sebagai kontrol negatif. Data dianalisis menggunakan uji *Shapiro-wilk*, uji ANOVA satu jalan, dan uji *post hoc* Tukey HSD ($p < 0,05$). **Hasil:** Ekstrak konsentrasi 100% memiliki efek antibakteri paling efektif dibandingkan kontrol negatif ($p < 0,05$). Ekstrak konsentrasi 100% masa inkubasi 3 jam memiliki efek antibiofilm paling efektif dibandingkan kontrol negatif ($p < 0,05$). **Kesimpulan:** Ekstrak etanol daun *Mangifera indica* L. terbukti memiliki efek antibakteri dan antibiofilm terhadap *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.

Kata Kunci: abses dentoalveolar, *Staphylococcus aureus*, *Mangifera indica* L., antibakteri, antibiofilm

Commented [.1]: Sesuaikan dengan English version

Commented [S2R1]: Sudah diperbaiki

PENDAHULUAN

Abses dentoalveolar merupakan rongga patologis berisi pus akibat karies sekunder, trauma, kegagalan perawatan saluran akar (PSA), dan *oral hygiene* (OH) yang buruk. Faktor-faktor ini mendukung perkembangan *Staphylococcus aureus* yang berperan penting dalam pembentukan abses dentoalveolar.^{1,2}

Staphylococcus aureus termasuk bakteri Gram positif yang terdapat pada membran mukosa dan kulit manusia maupun hewan. *Staphylococcus aureus* merupakan mikroflora normal yang tidak menyebabkan penyakit, namun saat terjadi penurunan daya tahan tubuh dan ketidakseimbangan mikroorganisme, *S. aureus* akan berkembang menjadi patogen. Infeksi akibat bakteri ini antara lain peradangan, nekrosis, infeksi mukosa dan kulit, infeksi saluran pernafasan, serta terjadinya abses.^{3,4} Pembentukan biofilm merupakan tahap awal terjadinya abses dentoalveolar melalui kolonisasi beberapa bakteri sehingga menimbulkan respon inflamasi.^{1,2} *Staphylococcus aureus* memiliki biofilm berlapis yang tertanam dalam lapisan glikokalik dengan ekspresi protein heterogen.⁵ Faktor virulensi *S. aureus* dalam pembentukan biofilm antara lain kapsul, adhesin, koagulase, hyaluronidase, stafilokinase, α toksin, β toksin, enterotoksin, dan leukosidin.⁶ Abses dentoalveolar harus diatasi secara dini melalui tindakan insisi drainase, perawatan saluran akar, pemberian antibiotik, dan pencabutan gigi untuk mencegah penyebaran lebih lanjut ke struktur anatomi yang berdekatan.⁷

Antibiotik yang sering digunakan untuk mengatasi abses dentoalveolar antara lain amoksisilin, penisilin, metronidazole, klindamisin, sefalosporin, dan eritromisin.^{1,2} Amoksisilin merupakan antibiotik spektrum luas turunan penisilin yang menghambat bakteri Gram positif dan negatif melalui pengikatan pada *Penicillin Binding Protein* (PBP) yang

Commented [3]: a. Jelaskan urgensi pemilihan bahan uji dan apa kelebihan dibandingkan dengan tanaman herbal lain yang telah banyak diteliti

b. Jelaskan landasan mengapa menggunakan bahan uji dengan konsentrasi sampai 100%. Apakah ini akan dapat diaplikasikan di klinik nantinya dengan konsentrasi sediaan yang sangat tinggi

Commented [S4R3]: a. sudah ditambahkan (yang dihighlight)

b. Penelitian ini merupakan penelitian pendahuluan dengan jenis penelitian experimental laboratorium, oleh karena itu harus dilakukan dari konsentrasi tertinggi. Namun, harapannya akan diperoleh konsentrasi MIC/MBC yang bukan konsentrasi 100%. Konsentrasi MBC tersebut kemudian bisa diolah untuk penelitian selanjutnya hingga menjadi produk

akan menghambat proses transpeptidasi. Namun demikian, amoksisilin dapat menimbulkan efek samping seperti mual, muntah, dan diare.^{8,9}

Belakangan ini, resistensi bakteri terhadap antibiotik meningkat, akibatnya infeksi yang bersifat sedang sulit dikendalikan. Hal ini terjadi akibat penggunaan antibiotik secara berlebihan maupun tidak tepat sasaran.¹⁰ Resistensi akan mengurangi efektivitas obat sehingga bakteri gagal memberikan respons terhadap pengobatan dan meminimalkan kadar hambat bakteri pada pemberian dosis normal.¹¹ Penelitian terhadap daging mentah yang terkontaminasi *S. aureus* di Nepal menunjukkan adanya resistensi terhadap amoksisilin.¹² Hasil studi meta analisis terhadap antimikrobal yang sering digunakan di Ethiopia menunjukkan adanya tingkat resistensi *S. aureus* yang tinggi terhadap amoksisilin sebesar 77% (95% confidence interval (CI): 68%, 0.85%).¹³

Alternatif pengobatan herbal banyak dikembangkan untuk meminimalkan efek samping dan resistensi dari antibiotik. Campuran berbagai komponen aktif pada obat herbal akan menimbulkan efek antibakterial yang sinergis sehingga bermanfaat dalam menimbulkan efek terapi. Salah satu pengobatan herbal dengan mangiferin sebagai komponen aktif yang bersifat antibakteri adalah daun *M. indica* L atau mangga arumanis. Daun *M. indica* L. dapat mengobati berbagai macam penyakit seperti demam, diare, diabetes, infeksi saluran pernafasan, infeksi gigi dan gusi. Ekstrak etanol daun *M. indica* L mengandung senyawa metabolit sekunder seperti fenol (mangiferin, tanin, flavonoid), alkaloid, saponin, dan steroid yang memiliki khasiat antibakteri, antimikroba, antioksidan, antiinflamasi, antifungal, antivirus, antialergi, antidiabetes, antikanker, antitumor, dan analgesik. Fenol pada daun *M. indica* L. dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*, *Shigella flexneri*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pyogenes*, *Bacillus cereus*, dan *Staphylococcus aureus*. Hasil studi yang menelaah tentang daun *M. indica* L menyatakan bahwa tidak ada resistensi daun *M.*

Commented [-6]: Coba ditulis lagi, lebih sederhana, dan mengarah pada masalah ilmiah.

Commented [S7R6]: Sudah diperbaiki (highlight)

indica L terhadap *S. aureus*.¹⁴ Oleh sebab itu, penelitian ini bertujuan untuk menetapkan efek ekstrak etanol daun *M. indica* L. terhadap pertumbuhan dan pembentukan biofilm *S. aureus* secara in vitro.

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris secara *in vitro* dengan rancangan *post test only control group design* yang dilakukan di Laboratorium *Microbiology Centre of Research and Education* (MiCORE), Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Trisakti, Jakarta, Indonesia. Larutan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah Dimetil Sulfoksida (DMSO) 10% sebagai kontrol negatif, amoksisilin sebagai kontrol positif, dan ekstrak etanol daun *M. indica* L. dengan konsentrasi 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100%. Penelitian ini memiliki 8 kelompok perlakuan dengan 3 kali pengulangan pada setiap kelompok yang dihitung dengan rumus Federer (n = jumlah pengulangan dan t = jumlah kelompok perlakuan dalam penelitian) sebagai berikut :

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

$$(n-1)(8-1) \geq 15$$

$$(n-1)(7) \geq 15$$

$$n-1 \geq 2,142$$

$$n \geq 3,142 = 3 \text{ kali pengulangan}$$

Ekstrak Etanol Daun *M. indica* L.

Pembuatan ekstrak etanol daun mangga arumanis (*Mangifera indica* L.) dilakukan di Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITTRO) di Bogor, Jawa Barat, Indonesia. Ekstrak etanol daun *M. indica* L. dibuat dengan metode maserasi. Daun mangga dicuci,

Commented [.9]: Belum tergambar bagaimana menetapkan jumlah pengulangan (n) pada uji in vitro ini

Commented [S10R9]: Sudah ditambahkan

dikeringkan, dan dihaluskan. Serbuk daun mangga direndam menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:5. Proses maserasi dilakukan selama 2-3 jam lalu hasil maserat didiamkan selama 24 jam dan disaring hingga didapatkan ekstrak kental. Ekstrak 100% diencerkan dengan DMSO 10% hingga didapatkan ekstrak konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, dan 3,125%.

Kultur Bakteri

Staphylococcus aureus ATCC 25923 dari Laboratorium MiCORE, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Trisakti yang dikultur pada medium *Brain Heart Infusion Broth*/BHI-B (Sigma Aldrich, Burlington, Amerika) dan diinkubasi dalam *anaerobic jar* (Oxoid, Basingstoke, Inggris) dengan suhu 37°C selama 24 jam dalam kondisi anaerob. Kemudian, dilakukan pengukuran absorbansi hingga didapatkan standar McFarland 0,5 = $1,5 \times 10^8$ CFU/mL ($OD_{600} = 0,132$).

Plate Count

Uji antibakteri dilakukan dengan metode mikrodilusi. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang telah dikultur didistribusikan ke dalam sumuran 96-well plates (Nest Biotech, Jiangsu, Cina) menggunakan mikropipet (Lambda, San Fransisco, Amerika) sebanyak 100 µL. Larutan uji sebanyak 100 µL ditambahkan ke dalam sumuran dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dalam keadaan anaerob. Kemudian, masing-masing perlakuan diencerkan sebanyak 10.000 kali lalu diambil sebanyak 5 µL dan diletakkan pada media *Brain Heart Infusion Agar* (BHI-A) dalam cawan petri. Pertumbuhan koloni bakteri dihitung setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Microtiter Plate Biofilm Assay

Kultur bakteri sebanyak 200 μ L dimasukkan pada setiap sumuran 96-well plates menggunakan mikropipet dan diinkubasi dalam inkubator (Jisico, Seoul, Korea Selatan) pada suhu 37°C selama 24 jam dalam keadaan anaerob. Kemudian setelah diinkubasi, supernatan yang terbentuk dibuang hingga tersisa selapis tipis pada permukaan sumuran dan dibilas menggunakan *Phosphate Buffer Saline*/PBS (Biomatik, Ontario, Kanada). Ekstrak etanol daun *M. indica* L. konsentrasi 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100%, amoksisilin sebagai kontrol positif, dan biofilm tanpa perlakuan sebagai kontrol negatif ditambahkan pada masing-masing sumuran sebanyak 200 μ L. Kemudian diinkubasi selama 1, 3, dan 24 jam pada suhu 37°C. Sumuran dibilas sebanyak 2 kali dengan PBS dan difiksasi diatas api. Kristal violet (Merck, Darmstadt, Jerman) ditambahkan dalam sumuran sebanyak 200 μ L dan didiamkan selama 15 menit. Pembilasan dilakukan lagi sebanyak 2 kali dan didiamkan selama 15 menit. Etanol 96% ditambahkan sebanyak 200 μ L lalu dilakukan pengukuran *Optical Density* (OD) menggunakan *microplate reader* (Safas, Monaco, Monaco) dengan panjang gelombang 490 nm.

Analisis Statistik

Data penelitian diolah dengan program komputer *Statistical Product and Service Solution* (SPSS) versi 26. Uji normalitas menggunakan metode *Shapiro-Wilk*. Jika data terdistribusi normal ($p>0,05$), maka dilanjutkan dengan uji *Analysis of Variance* (ANOVA) satu jalan. Kelompok data yang bermakna ($p<0,05$) akan dilanjutkan dengan uji *post hoc* menggunakan metode *Tukey Honestly Significance Difference* (HSD) dengan tingkat kemaknaan $p<0,05$ untuk mengetahui adanya perbedaan bermakna antar kelompok.

Commented [.11]: Kedua metode ini merupakan uji biofilm in vitro.

Yg pertama: uji viabilitas sel bakteri (CFU/ mL) setelah dipapari bahan uji. Yang kedua digunakan untuk menganalisis efek bahan uji terhadap sel (tanpa perlu mengetahui viabilitas sel) dan matriks ekstra seluler biofilm, makanya digunakan kristal violet.

Commented [S12R11]: Uji hitung koloni dilakukan untuk mencari konsentrasi MIC dan MBC dari bahan uji, dilihat sel bakteri yang masih hidup. Konsentrasi terkecil yang menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan bakteri adalah konsentrasi MIC, sedangkan konsentrasi MBC adalah satu tingkat di atas MICnya.

Uji biofilm dilakukan untuk menguji efek antibiofilm dari bahan uji. Maka dari itu, bakteri dikultur terlebih dahulu, diinkubasi hingga biofilmnya maturasi, baru direaksikan dengan bahan uji. Tanpa menghitung bakteri hidup/mati dan hanya menghitung densitas biofilm yang tersisa setelah reaksi yang akan berikatan dengan pewarna crystal violet.

HASIL

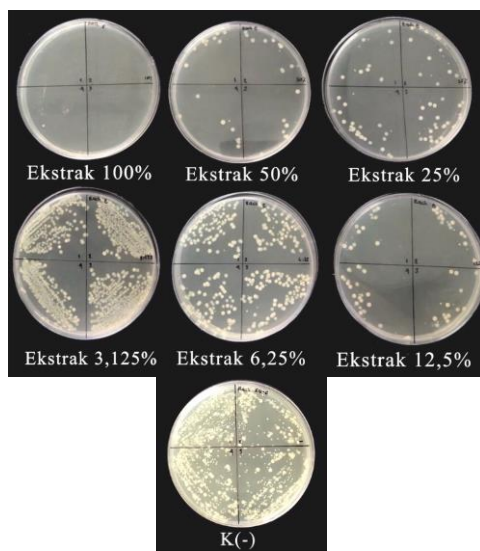
Hasil uji antibakteri menggunakan metode *plate count* menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun *M. indica* L. menghambat pertumbuhan *S. aureus* (Gambar 1 dan 2). Ekstrak konsentrasi 100% memperlihatkan efek antibakteri yang paling efektif terhadap *S. aureus* dengan total koloni sebesar $(1 \pm 0,58) \times 10^6$ CFU/mL.

Hasil uji biofilm metode *microtiter plate biofilm assay* menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun *M. indica* L. memiliki efek antibiofilm terhadap *S. aureus*. Ekstrak konsentrasi 25% memiliki tertinggi terhadap biofilm *S. aureus* setelah inkubasi 1 jam dengan nilai OD $0,08 \pm 0,01$ (Gambar 3). Ekstrak konsentrasi 100% memiliki daya hambat tertinggi terhadap biofilm *S. aureus* setelah inkubasi 3 jam dengan nilai OD $0,14 \pm 0,05$ (Gambar 4). Pada masa inkubasi 24 jam, konsentrasi 100% memiliki daya hambat tertinggi terhadap biofilm *S. aureus* dengan nilai OD $0,15 \pm 0,04$ (Gambar 5).

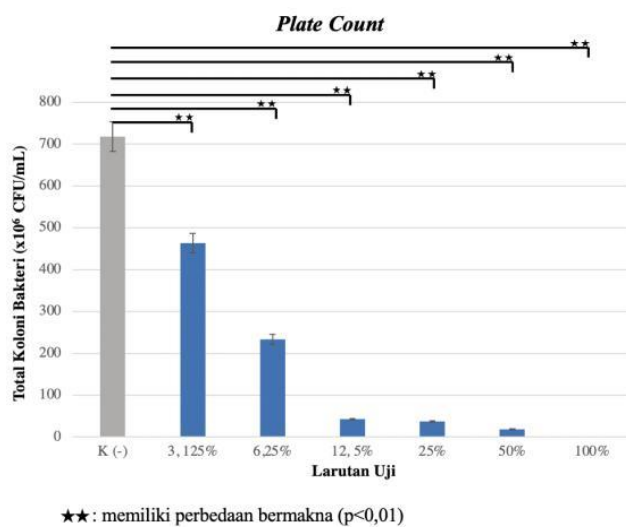
Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa seluruh kelompok data terdistribusi normal ($p > 0,05$) dan terdapat perbedaan bermakna antar larutan uji ($p < 0,05$). Hasil uji *post hoc Tukey HSD* pada uji antibakteri, seluruh konsentrasi larutan uji menunjukkan perbedaan bermakna terhadap kontrol negatif. Pada uji antibiofilm pada masa inkubasi 1 jam, ekstrak etanol daun *M. indica* L. mulai konsentrasi 12,5% berbeda bermakna terhadap kontrol negatif. Pada masa inkubasi 3 jam seluruh konsentrasi ekstrak etanol daun *M. indica* L. berbeda bermakna terhadap kontrol negatif. Sementara itu, masa inkubasi 24 jam, ekstrak etanol daun *M. indica* L. mulai konsentrasi 50% berbeda bermakna terhadap kontrol negatif.

Commented [13]: Penyajian data pada Gambar 2, 3 dan 4 adalah pengulangan dari data pada tabel 2. Sebaiknya dipilih salah satu saja Tabel atau grafik.

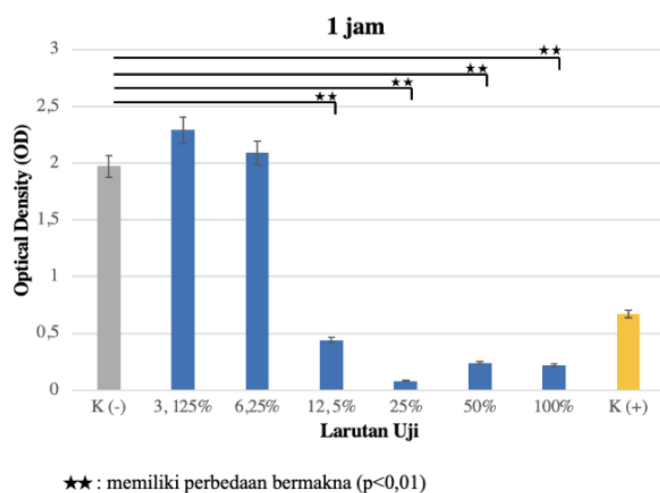
Commented [S14R13]: Tabel sudah dihilangkan



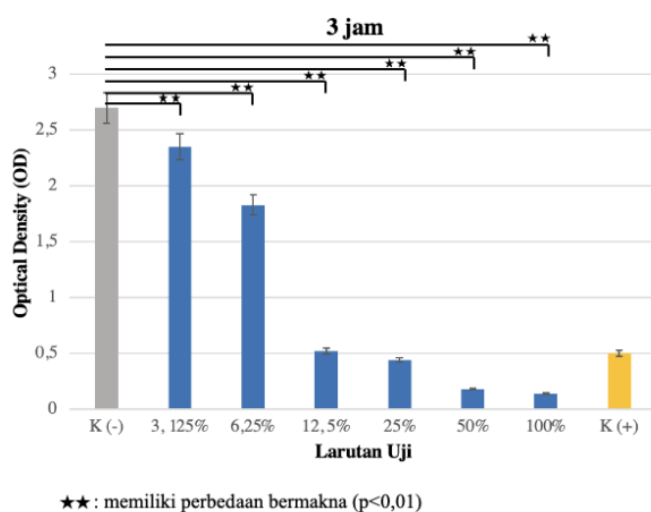
Gambar 1. Hasil uji daya hambat pertumbuhan *S. aureus* metode *plate count*.



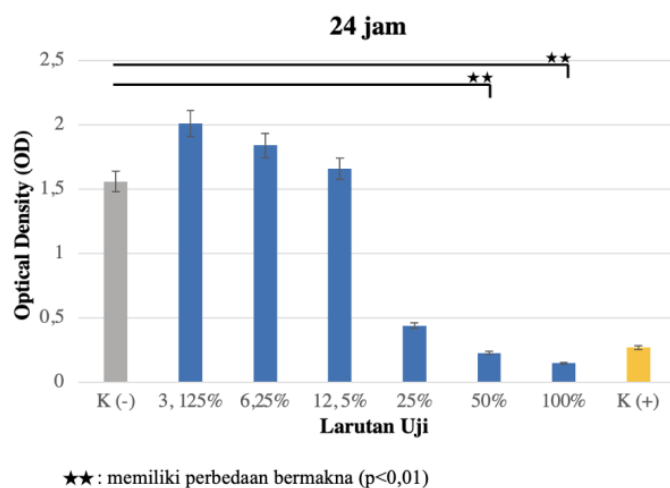
Gambar 2. Pertumbuhan total koloni *S. aureus* setelah diberikan ekstrak etanol daun *M. indica* L. Amoksisilin digunakan sebagai kontrol positif dan DMSO 10% sebagai kontrol negatif.



Gambar 3. Pembentukan biofilm *S. aureus* setelah diberikan ekstrak etanol daun *M. indica* L. pada masa inkubasi 1 jam. Amoksisilin digunakan sebagai kontrol positif dan biofilm tanpa perlakuan sebagai kontrol negatif



Gambar 4. Pembentukan biofilm *S. aureus* setelah diberikan ekstrak etanol daun *M. indica* L. pada masa inkubasi 3 jam. Amoksisilin digunakan sebagai kontrol positif dan biofilm tanpa perlakuan sebagai kontrol negatif.



Gambar 5. Pembentukan biofilm *S. aureus* setelah diberikan ekstrak etanol daun *M. indica* L. pada masa inkubasi 24 jam. Amoksisilin digunakan sebagai kontrol positif dan biofilm tanpa perlakuan sebagai kontrol negatif.

PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan jenis mangga arumanis yang memiliki kandungan mangiferin tertinggi dibandingkan jenis mangga lainnya.¹⁵ Belum banyak penelitian tentang daun *M. indica* L. sebagai antibakteri dan antibiofilm terhadap *S. aureus* in vitro, maka pada penelitian ini digunakan konsentrasi ekstrak dari 3,125% hingga 100%. Diharapkan penelitian ini dapat menjadi landasan untuk mendapatkan konsentrasi yang lebih akurat dalam menghambat pertumbuhan dan pembentukan biofilm *S. aureus*.

Pada uji antibakteri, seluruh konsentrasi ekstrak etanol daun *M. indica* L. menunjukkan jumlah koloni bakteri yang lebih sedikit dan berbeda bermakna ($p < 0,01$) terhadap kontrol negatif. Hal ini membuktikan ekstrak memiliki efek antibakteri terhadap pertumbuhan *S. aureus* secara in vitro. Sejalan dengan bertambah besarnya konsentrasi ekstrak, jumlah koloni bakteri yang terbentuk semakin sedikit. Ekstrak menghambat pertumbuhan *S. aureus* mulai

Commented [15]: Kemukakan keterbatasan penelitian dan saran perbaikannya

Commented [S16R15]: Sudah ditambahkan (highlight kuning)

konsentrasi 3,125% dan konsentrasi 100% memiliki efek antibakteri paling efektif dengan total koloni bakteri paling sedikit yaitu sebesar $(1 \pm 0,58) \times 10^6$ CFU/mL. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Kurniasih bahwa ekstrak daun *M. indica* L menghambat pertumbuhan *S. mutans* menggunakan metode yang berbeda, yaitu metode difusi cakram. Diameter zona hambat yang terbentuk pada penelitian ini bertambah besar sejalan dengan bertambah tingginya konsentrasi ekstrak.¹⁶ Ekstrak daun *M. indica* L. menunjukkan aktivitas antibakteri yang poten dinyatakan oleh Cardenas et. al yang melakukan perbandingan aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan ekstrak hidroalkoholik daun *M. indica* L terhadap *S. aureus*. Pada penelitian ini, ekstrak *M. indica* L. dengan pelarut hidroalkoholik 50% dan 100% menunjukkan zona hambatan yang lebih besar daripada pelarut etanol.¹⁰

Penelitian ini menggunakan tiga masa inkubasi pada metode *biofilm assay* yaitu 1 jam, 3 jam, dan 24 jam. Pembentukan biofilm terjadi pada menit pertama di mana terjadi fase pembentukan pelikel, dilanjutkan fase adhesi inisial selama 2 sampai 4 jam, dan fase maturasi sel selama 24 jam. Pada tahap ini, biofilm sudah terbentuk sempurna 1.000-1.500 kali lebih resisten dibandingkan bakteri planktonik.¹⁷ Perbedaan waktu ini bertujuan untuk mengetahui waktu yang paling efektif dibutuhkan oleh ekstrak etanol daun *M. indica* L. dalam menghambat pembentukan biofilm *S. aureus*.

Hasil uji antibiofilm menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun *M. indica* L. dapat menghambat pertumbuhan biofilm *S. aureus* secara *in vitro*. Pada masa inkubasi 1 jam ekstrak etanol daun *M. indica* L. menghambat pembentukan biofilm *S. aureus* pada paling efektif pada konsentrasi 25% ($OD = 0,08 \pm 0,01$). Ekstrak konsentrasi 12,5% hingga 100 % memiliki nilai OD lebih kecil ($p < 0,01$) dan berbeda bermakna terhadap kontrol positif. Dengan demikian, ekstrak mulai 12,5% lebih efektif dibanding kontrol positif. Sementara itu, pada inkubasi 3 jam, seluruh konsentrasi ekstrak memiliki nilai OD yang lebih rendah dan

berbeda bermakna ($p < 0,01$) terhadap kontrol negatif, yang berarti bahwa seluruh konsentrasi ekstrak memiliki daya hambat terhadap pembentukan biofilm *S. aureus* dan ekstrak konsentrasi 50% ($OD = 0,18 \pm 0,07$) memiliki efek antibiofilm paling efektif. Ekstrak konsentrasi 50% dan 100% memiliki efek antibiofilm terhadap *S. aureus* lebih efektif dibandingkan dengan kontrol positif. Hal ini ditunjukkan dengan nilai OD lebih kecil dan berbeda bermakna terhadap kontrol positif. Pada masa inkubasi 24 jam, ekstrak etanol daun *M. indica* L. konsentrasi 50% ($OD = 0,23 \pm 0,02$) memiliki efek antibiofilm paling efektif. Ekstrak konsentrasi 50% dan 100% menunjukkan hasil lebih efektif dibandingkan dengan kontrol positif. Bila dibandingkan dengan masa inkubasi 3 jam, aktivitas antibiofilm ekstrak konsentrasi 3,125%, 6,25%, dan 12,5% bersifat bakteriostatik yang dibuktikan dengan peningkatan nilai OD pada masa inkubasi 24 jam.¹⁸ Berdasarkan hasil di atas, maka ekstrak etanol daun *M. indica* L. menghambat pembentukan biofilm *S. aureus* terbaik pada masa inkubasi 3 jam, yaitu pada fase adhesi inisial.

Pembentukan biofilm dapat didefinisikan sebagai salah satu penyebab utama bakteri mengembangkan resistensi terhadap antibiotik.¹⁹ Biofilm yang dihasilkan *S. aureus* memiliki lapisan polisakarida ekstraseluler homolog sebagai matriks yang membantu adhesi koloni bakteri ke permukaan yang berbeda-beda. Selain itu, biofilm dapat memperpanjang waktu kolonisasi *S. aureus*, infeksi, dan penyebaran ke berbagai bagian tubuh.²⁰ Hasil penelitian ini menunjukkan, bahwa ekstrak etanol daun *M. indica* L. yang mengandung senyawa fenolik, flavonoid, saponin, tanin, alkaloid, dan steroid yang memiliki potensi sebagai antibakteri dan antibiofilm terhadap *S. aureus*.²⁰ Senyawa fenol yang paling banyak terdapat pada daun *M. indica* L. adalah mangiferin yang memiliki efek antimikroba. Flavonoid mengubah membran sitoplasma yang mengakibatkan terhambatnya pertukaran nutrisi dan metabolit sehingga suplai energi bakteri berkurang yang diikuti kematian bakteri.²¹ Pada proses pembentukan

Commented [.28]: Yg merupakan matriks bifilm.

Commented [S29R28]: Sudah ditambahkan

Commented [.30]: Fokus pada hasil uji antibiofilm

Commented [S31R30]: Sudah diperbaiki (highlight hijau)

biofilm, flavonoid dapat mengganggu mekanisme *quorum sensing* yang merupakan sistem komunikasi antar sel dengan berbagai fungsi seluler seperti patogenesis, perolehan nutrisi, konjugasi, motilitas, dan produksi metabolit sekunder dari bakteri.^{22,23} Saponin dapat meningkatkan permeabilitas membran dan dinding sel melalui proses difusi sehingga mengganggu kestabilan sel.²⁴ Tanin bekerja dengan melarutkan lapisan lemak dan mengikat protein pembentuk dinding sel.²⁵ Alkaloid mengganggu terbentuknya dinding peptidoglikan sel bakteri sehingga tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel.²⁶ Senyawa steroid dalam interaksinya dengan fosfolipid sel juga dapat menyerang membran lipid sehingga terjadi kebocoran lisosom yang menurunkan integritas membran sel serta diikuti lisisnya sel.²⁴

Perkembangan biofilm dipengaruhi oleh pelepasan senyawa polimer ekstraseluler yang dimediasi oleh *quorum sensing* (QS) yang berperan dalam meregulasi gen termasuk faktor virulensi pada *S. aureus*. *Mangifera indica* L. merupakan QS *inhibitor* yang dapat menonaktifkan sistem QS sehingga mencegah produksi faktor virulensi dan menghambat pertumbuhan dari *S. aureus*.²⁷

Penelitian ini merupakan penelitian awal, oleh karena itu dibutuhkan penelitian lanjutan untuk mengkonfirmasi hasil penelitian ini. Pada penelitian selanjutnya, diharapkan pada ekstrak etanol daun *M. indica* L. dilakukan uji toksisitas, preklinis, dan klinis secara *in vivo* agar dapat menjadi alternatif pengobatan pada abses dentoalveolar dalam mengurangi resistensi akibat pemakaian antibiotik.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun *M. indica* L. menghambat pertumbuhan *S. aureus* paling efektif pada konsentrasi 100%. Ekstrak etanol daun *M. indica* L. menghambat pembentukan biofilm *S.*

aureus paling baik pada masa inkubasi 3 jam, yaitu pada fase adhesi inisial dan konsentrasi 50% menghambat pembentukan biofilm lebih efektif dibanding kontrol positif. |

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium *Microbiology Centre of Research and Education* (MiCORE), Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Trisakti karena telah membantu jalannya penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sanders JL, Houck RC. Dental Abscess. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021.
2. Shweta N, Prakash SK. Dental abscess: a microbiological review. Dent Res J. 2013;10(5):585–591.
3. Archer NK, Mazaitis MJ, Costerton JW, Leid JG, Powers ME, Shirtliff ME. *Staphylococcus aureus* biofilms: properties, regulation, and roles in human disease. Virulence. 2011;2(5):445–459.
4. Taylor TA, Unakal CG. *Staphylococcus aureus*. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021.
5. Periasamy S, Joo H-S, Duong AC, Bach T-HL, Tan VY, Chatterjee SS. How *Staphylococcus aureus* biofilms develop their characteristic structure. Proc Natl Acad Sci. 2012;109(4):1281–1286.
6. Huang R, Li M, Gregory RL. Bacterial interactions in dental biofilm. Virulence. 2011;2(5):435–444.
7. Siqueira JF, Rôças IN. Microbiology and treatment of acute apical abscesses. Clin Microbiol Rev. 2013;26(2):255–273.
8. Akhavan BJ, Khanna NR, Vijhani P. Amoxicillin. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 [cited 2021 May 13]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482250/>
9. Evans J, Hannood M, Wittler M. Amoxicillin clavulanate. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021.
10. Cardenas V, Mendoza R, Chiong L, del Aguila E. Comparison of the Antibacterial Activity of the Ethanol Extract vs Hydroalcoholic Extract of the Leaves of *Mangifera indica* L. (Mango) in Different Concentrations: An In Vitro Study. J Contemp Dent Pract. 2020;21(2):202–206
11. Humaida R. Strategy to handle resistance of antibiotics. J Major. 2014;3(7):113–120.
12. Bantawa K, Sah SN, Subba Limbu D, Subba P, Ghimire A. Antibiotic resistance patterns of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella* and *Vibrio* isolated from chicken, pork, buffalo and goat meat in eastern Nepal. BMC Res Notes. 2019;12:766
13. Deyno S, Fekadu S, Astatkie A. Resistance of *Staphylococcus aureus* to antimicrobial agents in Ethiopia: a meta-analysis. Antimicrob Resist Infect Control. 2017;6:85

14. Chirayath RB, A. AV, Jayakumar R, Biswas R, Vijayachandran LS. Development of *Mangifera indica* leaf extract incorporated carbopol hydrogel and its antibacterial efficacy against *Staphylococcus aureus*. Colloids Surf B Biointerfaces. 2019;178:377–384.
15. Cahyanto T, Fadillah A, Ulfa RA, Hasby RM, Kinasih I. Kadar Mangiferin Pada Lima Kultivar Pucuk Daun Mangga (*Mangifera indica* L.). Al-Kauniyah J Biol. 2020;13(2):242–249.
16. Kurniasih R. Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Muhammadiyah Surakarta 2016. :11.
17. Vukosavljevic D, Custodio W, Buzalaf MAR, Hara AT, Siqueira WL. Acquired pellicle as a modulator for dental erosion. Arch Oral Biol. 2014;59(6):631–638.
18. Joshua M, Takudzwa M. Antibacterial Properties of *Mangifera Indica* On *Staphylococcus aureus*. Afr J Clin Exper Microbiol. 2013;14(2):62-74.
19. Lu L, Hu W, Tian Z, Yuan D, Yi G, Zhou Y, et al. Developing natural products as potential anti-biofilm agents. Chin Med. 2019;14:11-17
20. Ningsih Dr. Ekstrak Daun Mangga (*Mangifera Indica* L.) Sebagai Antijamur Terhadap Jamur *Candida Albicans* dan Identifikasi Golongan Senyawanya. J Kim Ris. 2017;2(1):61.
21. Ma Y, Ding S, Fei Y. Antimicrobial activity of catechins against foodborne pathogens *Escherichia coli* and *Salmonella* . Vol. 106. Elsevier; 2019. 78–80 p.
22. Solano C, Echeverz M, Lasa I. Biofilm dispersion and quorum sensing. Curr Opin Microbiol. 2014;18:96–104.
23. Ikalinus R, Widyastuti SK, Setiasih NLE. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*). Indones Med Veterinus. 2015;4(1):75.
24. Madduluri S, Rao KB, Sitaram B. In Vitro Evaluation of Antibacterial Activity of Five Indigenous Plants Extracts Against Five Bacteria Pathogens of Humans. Int J of Pharm and Pharm Sci. 2013;5:679–684.
25. Norhayati N, Ujrumiah S, Noviany A, Carabelly AN. Antibacterial Potential of Kapul Fruit Skin (*Baccaurea macrocarpa*) on *Streptococcus sanguis*. Odonto Dent J. 2019;6(2):118.
26. Aksara R, Musa WJA, Alio L. Identifikasi Senyawa Alkaloid Dari Ekstrak Metanol Kulit Batang Mangga (*Mangifera indica* L.). J Entropi. 2013;3(1):6.
27. Husain FM, Ahmad I, Al-thubiani AS, Abulreesh HH, AlHazza IM, Aqil F. Leaf Extracts of *Mangifera indica* L. Inhibit Quorum Sensing – Regulated Production of Virulence Factors and Biofilm in Test Bacteria. Front Microbiol. 2017;8:727

