

Analisis Efek Ekstrak Polifenol Biji Kakao (*Theobroma cacao L*) Terhadap Ukuran Dan Morfologi *Streptococcus mutans* Menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM) (*Analysis The Effect of Cocoa Beans (*Theobroma cacao L*) Polyphenol Extract On Size And Morphology Of *Streptococcus mutans* Using Scanning Electron Microscope (SEM)*)

Nisdian Apriningtyaswati, drg. Izzata Barid, M.Kes., Dr. drg. Didin Erma Indahyani, M.Kes
Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember (UNEJ)
Jln. Kalimantan 37, Jember 68121
E-mail: DPU@unej.ac.id

Abstrak

Biji kakao mengandung senyawa polifenol yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak polifenol biji kakao terhadap perubahan ukuran dan morfologi *S. mutans* yang diamati menggunakan *scanning electron microscope* (SEM). Penelitian ini terdiri dari lima kelompok, yaitu kelompok perlakuan, yang terdiri dari empat tabung diisi media BHI-B, *S. mutans*, dan ekstrak polifenol biji kakao dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, dan kelompok kontrol berisi media BHI-B dan *S. mutans*. Setelah di inkubasi pada suhu 37°C selama 10 jam, lima kelompok tersebut diproses untuk pengamatan ukuran dan morfologi sel bakteri menggunakan SEM. Perubahan morfologi disebabkan adanya kerusakan dinding sel *S. mutans* yaitu adanya bentukan *ghost cell* dan bentukan tonjolan (*blebs*). Uji statistik LSD menunjukkan bahwa ekstrak polifenol biji kakao mampu menyebabkan perubahan ukuran *S. mutans* secara bermakna ($p < 0,05$). Uji statistik *Mann-Whitney* menunjukkan bahwa ekstrak polifenol biji kakao mampu menyebabkan perubahan morfologi pada dinding sel *S. mutans* berupa bentukan tonjolan (*blebs*) dan bentukan *ghost cell* secara bermakna ($p < 0,05$). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak polifenol biji kakao dengan berbagai konsentrasi menyebabkan perubahan ukuran dan morfologi *S. mutans*.

Kata Kunci: kakao, polifenol, *Streptococcus mutans*, dinding sel, *scanning electron microscope*, SEM

Abstract

Cocoa beans contain polyphenol compound that have antibacterial activity against *Streptococcus mutans*. This research aims to determine the effect of cocoa beans polyphenol extract on size and morphology of *S. mutans* was observed by using a scanning electron microscope (SEM). This research divided into five groups, there were four treatment groups filled with BHI-B medium, *S. mutans*, and cocoa beans polyphenol extract at concentration 100%, 50%, 25%, 12.5%, and one control group contained BHI-B medium and *S. mutans*. After incubated at 37 ° C for 10 hours, five groups were processed to observe size and morphology of *S. mutans* using scanning electron microscope (SEM). Morphological changes caused by the cell wall damage of *S. mutans* was 'ghost cell' appearance and bulge form (*blebs*). LSD statistical test showed that cocoa beans polyphenol extract was able to cause cell size change significantly different ($p < 0,05$). *Mann-whitney* test showed that cocoa beans polyphenol extract was able morphological changes of *S. mutans*'s cell wall such as 'ghost cell' appearance and bulge form (*blebs*) significantly different ($p < 0.05$). The result of this research, after we observed directly with scanning electron microscope (SEM) showed that polyphenol extract of cocoa beans caused size change and morphological change of *S. mutans* in different concentration.

Keywords: cocoa, polyphenol, *Streptococcus mutans*, cell wall, scanning electron microscope, SEM

Pendahuluan

Indonesia dikenal sebagai salah satu dari tujuh negara yang memiliki keanekaragaman hayati terbesar kedua setelah Brazil. Kondisi tersebut tentu sangat potensial bagi Indonesia dalam mengembangkan obat herbal yang berasal dari tanaman obat[1]. Salah satu jenis tumbuhan yang dapat dijadikan sebagai obat herbal adalah tanaman kakao yang memiliki banyak manfaat dalam bidang kesehatan[2]. Kabupaten Jember merupakan salah satu di antara daerah penghasil kakao nasional yang memberi sumbangan rata-rata sekitar 17783, 03 ton setiap tahun[3].

Senyawa polifenol yang terdapat pada biji kakao antara lain tanin, asam fenolat, katekin, epikatekin, proantosianidin, dan flavonoid. Polifenol bersifat antibakteri terhadap beberapa bakteri patogen dan bakteri kariogenik[4]. Polifenol dapat menyebabkan kerusakan dinding sel dan membran sel yang dapat dilihat dari perubahan ukuran dan morfologi sel bakteri. Senyawa polifenol yang menyebabkan terganggunya integritas dinding sel dan membran sel bakteri adalah flavonoid golongan flavanol[5]. Salah satu jenis senyawa polifenol ini mempunyai target pada peptidoglikan dinding sel sehingga dapat menyebabkan kerusakan dinding sel. Kerusakan pada

dinding sel akan menyebabkan kerusakan membran sel yaitu hilangnya sifat permeabilitas membran sel, hal ini menyebabkan keluar masuknya metabolit penting dalam bakteri dan bahan makanan untuk menghasilkan energi menjadi terganggu sehingga terjadi gangguan pada pertumbuhan sel bakteri[6].

Salah satu bakteri kariogenik yang terdapat dalam rongga mulut adalah *Streptococcus mutans*[7]. *S. mutans* memiliki suatu lapisan luar yang kaku disebut dinding sel. Dinding sel bakteri merupakan struktur kompleks dan berfungsi sebagai penentu bentuk sel, serta pelindung isi sel dari perubahan lingkungan di luar sel. Tanpa dinding sel, bakteri tidak dapat bertahan terhadap pengaruh luar dan segera mati. Dinding sel *S. mutans* terdiri dari peptidoglikan, polisakarida, protein, dan bentuk gliserol dari teikoat dan asam lipoteikoat[8].

Scanning electron microscope menunjukkan kerusakan struktur dinding sel ketika sel bakteri terpapar polifenol[9]. Perubahan atau kerusakan struktur dinding sel yang dapat diamati pada *S. mutans* akibat terpapar polifenol yaitu perubahan ukuran dan morfologi sel bakteri[10]. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui ekstrak polifenol biji kakao sebagai antibakteri dengan menyebabkan perubahan ukuran dan morfologi *S. mutans* yang diamati menggunakan SEM.

Metode Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris. Rancangan penelitian ini adalah *the post test only control group design* yang dilakukan pada bulan September - Oktober 2012 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dan Laboratorium Mikroskop Elektron Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Tahap awal penelitian ini adalah pembuatan ekstrak polifenol biji kakao. Biji kakao *unfermented* basah dicuci dan dijemur di bawah sinar matahari, lalu di oven dengan suhu 50°C selama 2 jam. Biji kakao *unfermented* kering dihancurkan sampai diperoleh pasta kakao, kemudian dilakukan pengepresan sehingga dihasilkan bungkil kakao. Bungkil kakao direndam dengan alkohol 70% kemudian disaring dengan pompa vacuum hingga didapatkan larutan polifenol. Larutan polifenol dievaporasi menggunakan evaporator.

Setelah itu dilakukan pembuatan media BHI-B dan suspensi *S. mutans*. Media BHI-B dibuat dengan mencampur 3,7 gram BHI-B dan 100 ml *aquadest steril* lalu dipanaskan sampai homogen dan mendidih. Campuran tersebut kemudian disterilkan. Suspensi *S. mutans strain* JC2 yang didapatkan dari Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga dibuat dengan mencampur 2 ml BHI-B dan 1 ose *S. mutans*. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C, selama 10 jam. Setelah diinkubasi, tabung berisi *S. mutans* dikocok hingga homogen, lalu dilakukan pengukuran tingkat kekeruhan dengan standart Mc. Farland 0,5.

Sebelum melakukan penelitian, terlebih dahulu dilakukan identifikasi bakteri dengan pewarnaan gram. Tahap ini bertujuan untuk memastikan kemurnian bakteri tersebut. Sampel penelitian yang digunakan adalah *S.*

mutans yang dibagi ke dalam 5 kelompok. Rincian untuk setiap kelompok adalah sebagai berikut:

- Tabung 1 diisi 2 mL ekstrak polifenol biji kakao, ditambah 1mL. BHI-B (disebut tabung P1, dengan konsentrasi sampel 100%).
- Tabung 2 diisi 1mL P1, ditambah 1mL BHI-B (disebut tabung P2, dengan konsentrasi sampel 50%).
- Tabung 3 diisi 1mL P2, ditambah 1 mL BHI-B (disebut tabung P3, dengan konsentrasi sampel 25%).
- Tabung 4 diisi 1 mL P3, ditambah 1 mL BHI-B (disebut tabung P4, dengan konsentrasi sampel 12,5%)
- Tabung 5 diisi 1 mL BHI-B (sebagai kontrol).

Masing-masing tabung ditambahkan 0,1 mL suspensi bakteri *S. mutans*. Ke lima tabung ini, kemudian di inkubasi dalam suhu 37°C selama 10 jam. Selanjutnya mempersiapkan sampel untuk pengamatan kerusakan dinding sel menggunakan *scanning electron microscope* (SEM) memakai metode sesuai dengan acuan yang ada di Unit Mikroskop Elektron dan Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga sebagai berikut:

- Suspensi sel murni bakteri *S. mutans* yang telah diberi perlakuan ekstrak polifenol 100%, 50%, 25%, dan 12,5% dimasukkan ke dalam larutan fiksasi *glutaraldehyde* 2% selama 2-3 jam suhu 4° C, kemudian di sentrifus dengan kecepatan rendah selama 15 detik.
- Dicuci dengan larutan *buffer phosphate* pH 7,4 selama 3 kali masing-masing selama 5 detik pada suhu 4° C, kemudian disentrifus dengan kecepatan rendah selama 15 detik.
- Post fiksasi dengan larutan osmium tetraoksida 1% selama 1-2 jam suhu 4° C, disentrifus dengan kecepatan rendah selama 15 detik.
- Dicuci dengan larutan *buffer phosphate* pH 7,4 selama 3 kali masing-masing selama 5 detik pada suhu 4° C, kemudian disentrifus dengan kecepatan rendah selama 15 detik.
- Dehidrasi dengan etanol bertingkat: 30%, 50%, 70%, masing-masing selama 15-20 menit pada suhu 4° C, kemudian disentrifus dengan kecepatan rendah selama 15 detik.
- Dilanjutkan dehidrasi dengan etanol 80%, 90% sebanyak dua kali, masing-masing selama 15-20 menit suhu ruangan, kemudian disentrifus dengan kecepatan rendah selama 15 detik.
- Diganti dengan *amyl acetate absolut*.
- Bakteri yang akan dikeringkan dipipet dan diteteskan pada object glass dengan luas 16 mm² yang sudah dibersihkan dengan alkohol.
- Pengeringan dengan alat *Critical Point Drying* (CPD).
- Dilakukan penempelan pada *stub (holder)* dengan menggunakan lem khusus.
- Pelapisan dengan alat vakum evaporator dan bahan pelapisnya adalah emas murni atau karbon, kemudian sampel diamati dan dipotret pada SEM.

Data hasil penelitian untuk perubahan ukuran sel, dianalisis menggunakan uji *one-way Anova* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok, kemudian dilanjutkan uji *LSD (Least Significant Different)* untuk mengetahui besarnya perbedaan antar kelompok. Data hasil penelitian untuk perubahan morfologi dianalisis

menggunakan uji *Kruskal-Wallis*. Apabila terdapat perbedaan yang bermakna, dilanjutkan menggunakan uji *Mann-Whitney*.

Hasil Penelitian

Hasil pengamatan dengan menggunakan *scanning electron microscope* bakteri *S. mutans* yang dipapar ekstrak polifenol biji kakao dengan konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, 100% dapat dilihat dari perubahan ukuran dan morfologi dinding sel yang meliputi bentukan tonjolan (*blebs*) dan bentukan *ghost cell*.

1. Ukuran sel

S. mutans yang dipapar ekstrak polifenol biji kakao konsentrasi 12,5% terjadi pembesaran ukuran bakteri *S. mutans* apabila dibandingkan dengan ukuran sel bakteri pada kontrol. Pada konsentrasi 25% ukuran sel bakteri lebih besar apabila dibandingkan dengan konsentrasi 12,5% dan kontrol. Pada konsentrasi 50% dan 100% ukuran *S. mutans* lebih kecil apabila dibandingkan dengan *S. mutans* yang terpapar ekstrak polifenol biji kakao konsentrasi 12,5% dan 25%, tetapi ukuran sel bakteri tampak sedikit lebih besar apabila dibandingkan dengan kontrol (Gambar 1).

Tabel 1. Efek ekstrak polifenol biji kakao pada berbagai konsentrasi terhadap perubahan ukuran *S. mutans* yang diamati menggunakan SEM

	Diameter <i>S. mutans</i> (μm)				
	P1	P2	P3	P4	Kontrol
Pengamat 1	0,52	0,51	0,70	0,60	0,41
Pengamat 2	0,47	0,47	0,69	0,56	0,38
Pengamat 3	0,49	0,48	0,72	0,57	0,40
\bar{x}	0,49 ^{cde}	0,49 ^{cde}	0,70 ^{abde}	0,58 ^{abce}	0,40 ^{abcd}
SD	0,02	0,02	0,01	0,02	0,01

Keterangan:

P1 = ekstrak polifenol biji kakao konsentrasi 100%

P2 = ekstrak polifenol biji kakao konsentrasi 50%

P3 = ekstrak polifenol biji kakao konsentrasi 25%

P4 = ekstrak polifenol biji kakao konsentrasi 12,5%

\bar{x} = rata-rata

SD=standar deviasi

a = perbedaan signifikan terhadap polifenol konsentrasi 100%

b = perbedaan signifikan terhadap polifenol konsentrasi 50%

c = perbedaan signifikan terhadap polifenol konsentrasi 25%

d = perbedaan signifikan terhadap polifenol konsentrasi 12,5%

e = perbedaan signifikan terhadap kontrol

Hasil uji *one way Anova* adalah 0,000, sehingga dapat diketahui bahwa hasil signifikansi data antar kelompok memiliki $p < 0,05$ yang menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna pada perubahan ukuran sel bakteri *S. mutans*. Kemudian dilanjutkan uji *LSD* untuk mengetahui masing-masing perbedaan masing-masing kelompok. Hasil dari uji *LSD* pada konsentrasi 100% dengan konsentrasi 50% adalah 0,689 ($p > 0,05$), sehingga tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara konsentrasi 100% dengan 50%. Sedangkan hasil uji *LSD* pada masing-masing kelompok yang lainnya adalah 0,000 ($p < 0,05$), sehingga terdapat perbedaan bermakna antara masing-masing kelompok tersebut

2. Bentukan Tonjolan (*blebs*)

Pada kelompok kontrol tidak terjadi perubahan morfologi berupa bentukan tonjolan (*blebs*) pada dinding sel *S. mutans*. Pada konsentrasi 12,5% masih belum terjadi bentukan tonjolan (*blebs*) pada dinding sel bakteri. Pada konsentrasi 25%, 50%, 100% sudah terjadi bentukan tonjolan (*blebs*) pada permukaan dinding sel bakteri *S. mutans* (Gambar 1).

Tabel 2. Efek ekstrak polifenol biji kakao pada berbagai konsentrasi terhadap perubahan morfologi (bentukan tonjolan (*blebs*)) pada *S. mutans* yang diamati menggunakan SEM

	P1	P2	P3	P4	Kontrol
Pengamat 1	1	1	1	0	0
Pengamat 2	1	1	1	0	0
Pengamat 3	1	1	1	0	0
Kesimpulan	ada	ada	ada	tidak ada	tidak ada

Keterangan:

P1= ekstrak polifenol biji kakao konsentrasi 100%

P2= ekstrak polifenol biji kakao konsentrasi 50%

P3= ekstrak polifenol biji kakao konsentrasi 25%

P4= ekstrak polifenol biji kakao konsentrasi 12,5%

0 = tidak ada *blebs*

1 = ada *blebs*

Hasil uji *Kruskal Wallis* menunjukkan bahwa signifikansi lebih kecil dari 0,05, sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada perubahan morfologi *S. mutans* berupa bentukan tonjolan (*blebs*) diantara seluruh kelompok. Untuk mengetahui besarnya perubahan morfologi *S. mutans* berupa bentukan tonjolan (*blebs*) pada masing-masing kelompok, maka dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*. Uji *Mann-Whitney* menunjukkan bahwa perbedaan yang signifikan terjadi pada kelompok perlakuan yakni P1 dengan P4, P1 dengan kontrol, P2 dengan P4, P2 dengan kontrol, P3 dengan P4, dan P3 dengan kontrol.

3. Bentukan *ghost cell*

Pada kontrol tidak terjadi perubahan morfologi berupa bentukan *ghost cell* pada dinding sel *S. mutans*. Bentukan *ghost cell* masih belum terjadi pada konsentrasi 12,5%. Pada konsentrasi 25%, 50%, 100% sudah terjadi bentukan *ghost cell* pada sel bakteri *S. mutans* (Gambar 1).

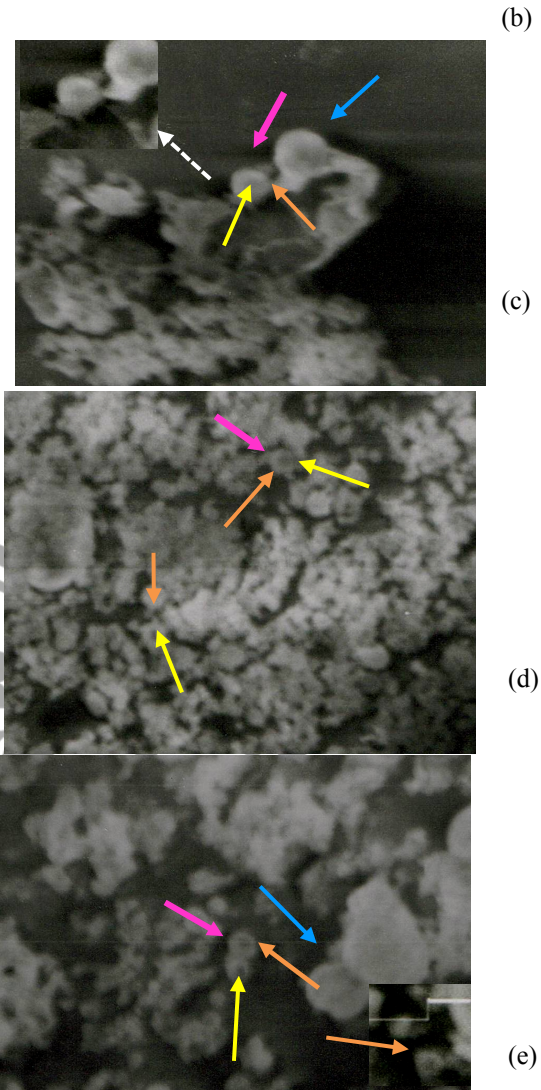
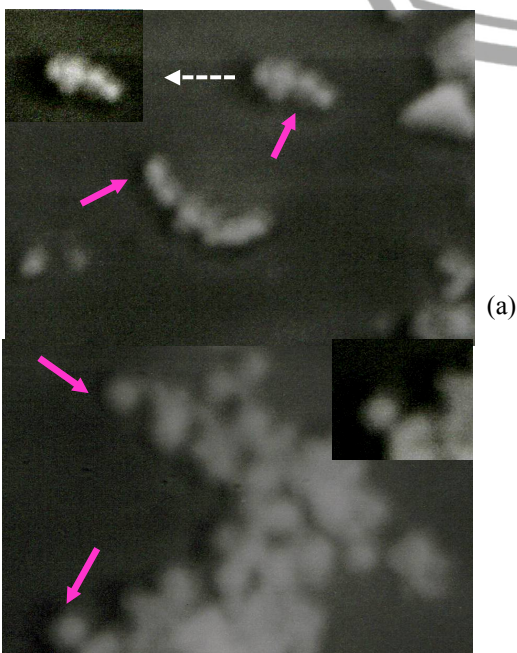
Tabel 3. Efek ekstrak polifenol biji kakao pada berbagai konsentrasi terhadap perubahan morfologi (bentukan *ghost cell*) pada *S. mutans* yang diamati menggunakan SEM

	P1	P2	P3	P4	Kontro 1
Pengamat 1	1	1	1	0	0
Pengamat 2	1	1	1	0	0
Pengamat 3	1	1	1	0	0
Kesimpula n	ada	ada	ada	tidak ada	tidak ada

Keterangan:

- P1= ekstrak polifenol biji kakao konsentrasi 100%
- P2= ekstrak polifenol biji kakao konsentrasi 50%
- P3= ekstrak polifenol biji kakao konsentrasi 25%
- P4= ekstrak polifenol biji kakao konsentrasi 12,5%
- 0 = tidak ada *ghost cell*
- 1 = ada *ghost cell*

Hasil uji *Kruskal Wallis* pada menunjukkan bahwa signifikansi lebih kecil dari 0,05, sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada perubahan morfologi *S. mutans* berupa bentukan *ghost cell* diantara seluruh kelompok. Untuk mengetahui besarnya perubahan morfologi *S. mutans* berupa bentukan *ghost cell* pada masing-masing kelompok, maka dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*. Uji *Mann-Whitney* menunjukkan bahwa perbedaan yang signifikan terjadi pada kelompok perlakuan yakni P1 dengan P4, P1 dengan kontrol, P2 dengan P4, P2 dengan kontrol, P3 dengan P4, dan P3 dengan kontrol.



Gambar 1. (a) *S. mutans* yang tidak papar ekstrak polifenol biji kakao (kontrol), (b) *S. mutans* terpapar ekstrak polifenol biji kakao konsentrasi 12,5%, (c) *S. mutans* terpapar ekstrak polifenol biji kakao konsentrasi 25%, (d) *S. mutans* terpapar ekstrak polifenol biji kakao konsentrasi 50%, (e) *S. mutans* terpapar ekstrak polifenol biji kakao konsentrasi 100% pada pembesaran 3500 kali

- Keterangan:
- menunjukkan ukuran
 - bentukan *blebs*
 - bentukan *ghost cell*
 - polifenol

Pembahasan

Pada penelitian ini didapatkan bahwa ekstrak polifenol biji kakao dapat menyebabkan perubahan ukuran dan morfologi *S. mutans*. Perubahan morfologi pada dinding sel yang terlihat yaitu bentukan tonjolan (*blebs*) dan bentukan *ghost cell*. Perubahan ukuran dan morfologi *S. mutans* disebabkan ekstrak polifenol biji kakao mempunyai aktivitas sebagai antibakteri.

Sel bakteri dapat tumbuh dengan baik jika berada

dalam medium isotonik, yang artinya tekanan ekstrasel sama dengan tekanan di dalam intrasel[8]-[11]. Apabila sel berada pada medium yang hipotonik, air akan berdifusi ke dalam sel dan menyebabkan sel membesar. Air akan terus berdifusi ke dalam sel, mengencerkan cairan intrasel dan memekatkan cairan ekstrasel hingga tekanannya sama[8]. Berdasarkan hasil *scanning electron microscope* (SEM) pada bakteri *S. mutans* yang dipapar ekstrak polifenol biji kakao konsentrasi 12,5% dan 25% didapatkan ukuran selnya lebih besar dibandingkan ukuran sel pada kelompok kontrol. Sel bakteri yang dipapar ekstrak polifenol konsentrasi 12,5% dan 25% memiliki tanda yang sama dengan sel bakteri pada medium hipotonik, oleh karena itu kemungkinan ekstrak polifenol memiliki sifat hipotonik. Lingkungan yang bersifat hipotonik dimungkinkan menyebabkan ekstrak polifenol masuk ke dalam sel bakteri sehingga terjadi pembesaran dinding sel bakteri (*swelling*). Sesuai dengan penelitian pada rujukan[12] menjelaskan bahwa kerusakan sel bakteri oleh senyawa antibakteri polifenol menyebabkan pembesaran sel akibat adanya akumulasi dari senyawa polifenol tersebut. Senyawa antibakteri akan berinteraksi dengan fosfolipid pada membran sehingga menyebabkan permeabilitas meningkat. Hal ini menyebabkan terjadinya pembesaran pada ukuran sel bakteri[13].

Apabila sel berada pada medium hipertonik, air dalam intrasel akan mengalir keluar dari sel ke dalam cairan ekstrasel. Hal ini menyebabkan sel akan mengkerut [8]-[11]. Sel bakteri *S. mutans* yang dipapar ekstrak polifenol konsentrasi 50% dan 100% didapatkan ukuran sel bakteri yang lebih kecil dibandingkan konsentrasi 12,5% dan 25%. Hal ini kemungkinan disebabkan sel bakteri berada pada lingkungan hipertonik sehingga cairan yang berada dalam sel bakteri akan keluar sel yang mengakibatkan sel mengkerut (mengecil)[8]. Sesuai dengan beberapa penelitian sebelumnya yang menyatakan kerusakan dinding sel yang diakibatkan oleh senyawa antibakteri dapat diamati menggunakan SEM, hal ini terlihat pada sel bakteri yang diberi perlakuan pada konsentrasi hambat minimum menyebabkan sel memanjang dan membesar dibandingkan sel normal sementara jika konsentrasi ditingkatkan terlihat bentukan tonjolan (*blebs*) dan *ghost cell*, kemudian ukuran sel menjadi lebih kecil [10]-[14]-[15].

Ekstrak polifenol biji kakao konsentrasi 25%, 50%, 100% menyebabkan terbentuknya *ghost cell* dan tonjolan (*blebs*) pada permukaan dinding sel *S. mutans*. Namun, pada kontrol dan konsentrasi 12,5% tidak terjadi *ghost cell* dan tidak terbentuk tonjolan (*blebs*) pada *S. mutans*. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak biji kakao, maka semakin tinggi pula kandungan polifenol yang terdapat didalamnya, sehingga menyebabkan kerusakan pada *S. mutans* semakin meningkat[16]. Terbentuknya tonjolan (*blebs*) pada dinding sel bakteri dikarenakan polifenol dapat menyebabkan kerusakan dinding sel dan mengganggu membran sel bakteri. Kerusakan pada membran sel menyebabkan peningkatan permeabilitas membran sehingga tekanan intraseluler meningkat yang dapat mengakibatkan peptidoglikan dinding sel tidak mampu menahan tekanan intraseluler yang tinggi. Ketidakmampuan peptidoglikan menahan tekanan intraseluler yang tinggi menyebabkan sitoplasma dan membran sitoplasma terdesak keluar ke arah

dinding sel[17]. Tonjolan (*blebs*) biasanya muncul pada daerah-daerah yang dilemahkan oleh senyawa antibakteri[114].

Polifenol mampu merusak dinding sel bakteri yang memiliki kandungan peptidoglikan[18]. Pemberian senyawa polifenol (tanin terkondensasi) dapat menghambat perakitan dinding sel dan mengakibatkan pemutusan ikatan silang peptida yang menggabungkan rantai glikan dari peptidoglikan pada rantai yang lain. Hal ini menyebabkan kerusakan pada dinding sel bakteri [19]-[20]. Kerusakan pada dinding sel akan menyebabkan kerusakan membran sel. Hal ini mengakibatkan meningkatnya permeabilitas membran. Peningkatan permeabilitas membran sel bakteri menyebabkan kebocoran molekul-molekul penting dalam sel bakteri seperti protein dan ion-ion kalsium (K^+). Ion kalsium (K^+) merupakan kation utama yang terkandung dalam sitoplasma pada sel yang sedang tumbuh. Molekul dan ion-ion yang keluar menyebabkan sel bakteri menjadi mengkerut serta terdapat bentukan *ghost cell* pada *S. mutans* [15]-[21]. *Ghost cell* merupakan struktur sel yang terlihat transparan, tipis, dan terlihat kosong (bentukan lubang)[22].

Sesuai dengan rujukan [6] senyawa polifenol menyebabkan kerusakan pada membran sel karena ion H^+ dari senyawa fenol akan menyerang gugus fosfat pada fosfolipid. Hal ini menyebabkan molekul fosfolipid akan terurai menjadi beberapa senyawa seperti gliserol dan asam fosfat. Hal ini menyebabkan fosfolipid tidak mampu mempertahankan bentuk membran sel, sehingga mengakibatkan kehilangan cairan sitoplasma yang berasal dari kebocoran membran sel bakteri. Sehingga secara morfologi, perubahan yang tampak yaitu adanya bentukan *ghost cell*.

Pada penelitian ini terdapat beberapa kekurangan dikarenakan faktor tempat penelitian dan alat SEM yang digunakan. Faktor tempat penelitian untuk pengamatan menggunakan *scanning electron microscope* yang berada di Surabaya menyebabkan waktu inkubasi bakteri tidak optimal. Waktu inkubasi bakteri seharusnya berlangsung selama 24 jam pada suhu 37 °C. Waktu inkubasi bakteri pada penelitian ini hanya berlangsung selama 10 jam, kemudian bakteri diletakkan pada stereofom yang diberi *ice gel* dengan suhu di bawah 37 °C selama 14 jam. Pada temperatur di bawah optimal, aktivitas enzim akan berhenti tetapi tidak menghancurkan enzim tersebut. Hal ini menyebabkan metabolisme sel juga akan terhenti[8]. Faktor alat yaitu SEM yang digunakan bukan SEM modern (tipe terbaru). SEM merupakan tipe mikroskop yang dapat melakukan pembesaran objek sampai berjuta kali[23]. Namun, SEM yang digunakan pada penelitian ini hanya mampu melakukan pembesaran hingga 3500 kali, sehingga tampilan gambar yang dihasilkan tidak begitu jelas. Hal ini menyebabkan peneliti tidak bisa melihat kerusakan dinding sel bakteri yang terpapar oleh ekstrak polifenol biji kakao pada SEM secara optimal.

Kesimpulan dan Saran

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak polifenol biji kakao mengakibatkan perubahan ukuran dan morfologi (bentukan tonjolan (*blebs*) dan bentukan *ghost cell*) pada bakteri *S. mutans* dengan konsentrasi yang berbeda.

Adapun saran untuk penelitian selanjutnya yaitu perlu dilakukan penelitian biokompatibilitas polifenol biji kakao terhadap jaringan rongga mulut agar dapat diaplikasikan secara nyata sebagai medikamen di bidang kedokteran gigi.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada drg. Izzata Barid, M.Kes selaku dosen pembimbing utama, Dr. drg. Didin Erma Indahyani, M.Kes selaku dosen pembimbing pendamping, drg. Melok Aris Wahyukundari, M. Kes., Sp. Perio selaku dosen penguji ketua dan Dr. drg. I Dewa Ayu Susilawati, M. Kes selaku dosen penguji anggota atas bimbingan, bantuan dan masukan untuk penulis selama penyusunan skripsi.

Daftar Pustaka

- [1] Aisyah, D., Laksmi, L.I., Husna, U. 2010. Potensi Tumbuhan Indonesia Sebagai Bahan Obat tradisional Chinese Medicine (TCM). Universitas Negeri Malang [serial online]. <http://kemahasiswaan.um.ac.id/wp-content/uploads/2010/04/PKM-AI-10-UM-Dewi-Potensi-Tumbuhan-Indonesia-pdf> [11 April 2012]
- [2] Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Sulawesi Utara. 2011. Manfaat Biji Kakao untuk Kesehatan. [serial online]. http://sultra.litbang.deptan.go.id/ind/index.php?option=com_content&view=article&id=219:manfaat-biji-kakao-untuk-kesehatan&catid=13:info-aktual&Itemid=26 [8 April 2012]
- [3] Anonim. 2009. Menggali Potensi Jember. [serial online] <http://talentapendidikan.blogspot.com/2009/01/menggali-i-potensi-jember.html> [14 Januari 2013]
- [4] Sartini, Djide, M.N., dan Alam, G. 2007. " Ekstraksi Komponen Bioaktif Dari Limbah Kulit Buah Kakao Dan Pengaruhnya Terhadap Aktivitas Antioksidan Dan Antimikroba". Artikel. Makassar: Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
- [5] Jalil, M.M.A dan Ismail, A. 2008. Polyphenols in Cocoa and Cocoa Products: Is There a Link between Antioxidant Properties and Health?. *J. Molecul.*, 13: 2190-2219.
- [6] Rustanti, Elly. 2009. Uji Efektifitas Antibakteri Dan Identifikasi Senyawa Katekin Hasil Isolasi Dari Daun Teh (*Camellia sinensis L. var. Assamica*). [serial online]. <http://www.scribd.com/doc/106057034/khasiatdaunteh-110715104447-phppp01> [29 Oktober 2012]
- [7] Mangundjaja, S., Muthalib, A., Djais, A., Auerkari, E.I. 1999. Perbandingan Populasi *Streptococcus mutans* dalam Air Liur setelah Kumur dengan Air Kemasan Merek Aqua dan Aquanar. *Jurnal PDGI Edisi Khusus* 136 – 138.
- [8] Pratiwi, T.S. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- [9] Zaghi, F. 2011. Transmission And Scanning Electron Microscope Study Of Antimicrobial Effect Of Pholiphenol Compound. *Am. Soc. Microbiol*: 1-14.
- [10] Naufalin, R. Jenie, B.S.L., Kusnandar, F., Sudarwanto, M. Rukmini, H. 2005. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bunga Kecombrang Terhadap Bakteri Patogen dan Perusak Pangan. *Jurnal Teknol. dan Industri Pangan*, Vol. XVI (2): 119-125.
- [11] Guyton, A.C., dan Hall, J.E. 2007. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*: Edisi 11. Jakarta: EGC.
- [12] Ultee, A., Bennik, M. H., Moezelaar, R. 2002. The Phenolic Hydroxyl Group of Carvacrol Is Essential for Action Against the Food-Borne Pathogen *Bacillus cereus*. *J. App. Environ. Microbiol.* Vol 68 (4): 1561-1568.
- [13] Asriani, Laksmi, B. S., Yasni, S., dan Sudirman, I. 2007. Mekanisme Antibakteri Metabolit Lb. Plantarum kik dan Monoasilgliserol Minyak Kelapa Terhadap Bakteri Patogen Pangan. *Jurnal Teknol dan Industri Pangan*, Vol. XVIII (2): 126-133.
- [14] Lavlinesia. 2007. Kajian Pola dan Mekanisme Inaktivasi Bakteri Oleh Etil Asetat Biji Atung (*Parinarium glaberrimum* Hassk). Disertasi. Bogor: Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- [15] Asriani, Laksmi, B. S., Yasni, S., dan Sudirman, I. 2007. Mekanisme Antibakteri Metabolit Lb. Plantarum kik dan Monoasilgliserol Minyak Kelapa Terhadap Bakteri Patogen Pangan. *Jurnal Teknol dan Industri Pangan*, Vol. XVIII (2): 126-133.
- [16] Purnamasari, D.A., Munadzirah, E., Yogiartono, R.M. 2009. Konsentrasi Ekstrak Biji Kakao sebagai Material Alam dalam Menghambat Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Jurnal PDGI*, 59 (1): 14-18.
- [17] Azrifitria, Aziz, S., dan Chairul. 2010. Aktivitas Antibakteri etanolik Daun dan Umbi *Crinum asiaticum L.* Terhadap Bakteri Penyebab Jerawat. *Majalah Farmasi Indonesia*, 21 (4), 249-254.
- [18] Otake, S., Makimura, M., Kuroki, T. 1991. Anticaries effect polyphenolic compound from Japanese green tea. *Caries Research*, 25 (6): 438-443.
- [19] Brooks, G. F., Butel, J. S., dan Morse, S. A. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*: Edisi Pertama. Jakarta: Salemba Medika.
- [20] Saputra, T. 2012. Aktivitas Antimikroba Infusa kulit Batang Kedawung (*Parkia roxburghii* G.Don) Terhadap Bakteri patogen. *Jurnal PDGI*, 8 (9): 1-10.
- [21] Campos, F. M., Couto, J. A., Figueiredo, I. V., Toth, A. O. S. S., Rangel, T. A., Hogg. 2004. Cell Membrane Damage Induced By Phenolic Acids On Wine Lactic Acid Bacteria. *J. Food. Microbiol.*, 135 (2): 144-151.
- [22] Mangoni, M. L., Papo, N., Barra, D., Simmaco, M., Bozzi, A., Giulio, A., Rinaldi, C. 2004. Effects of antimicrobial peptide temporin L on cell morphology, membrane permeability and viability of *Escherichia coli*. *J. Biochem.*, 380:859-865.

- [23] Herguth Laboratories. Applications of Scanning Electron Microscopy and Energy Dispersive Spectroscopy (SEM/ EDS) to Practical Tribology Problems. [serial online]. www.herguth.com/technical/sem.pdf [22 April 2012]

