

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Saliva

2.1.1 Pengertian Saliva

Cairan mulut adalah sekelompok cairan yang dikeluarkan oleh kelenjar saliva di dalam rongga mulut dan disebarkan melalui celah diantara permukaan gigi dan gusi yang disebut *sulkus gingivalis*. Cairan mulut ini sering disebut sebagai saliva atau yang lebih dikenal dalam bahasa Indonesia sebagai air liur (Kusumasari 2012). Saliva adalah cairan eksokrin yang terdiri dari 99% air, berbagai elektrolit yaitu sodium, potasium, kalsium, kloride, magnesium, bikarbonat, fosfat, dan terdiri dari protein yang berperan sebagai enzim, immunoglobulin, antimikroba, glikoprotein mukosa, albumin, polipeptida dan oligopeptida yang berperan dalam kesehatan rongga mulut (Purba, 2009).

Kelenjar saliva mayor yaitu kelenjar parotis, kelenjar submandibularis dan kelenjar sublingualis mampu mensekresi volume saliva sebesar 93%, sedangkan kelenjar saliva minor yaitu bukal, labial, lingual, dan palatinal mampu mensekresi volume saliva sebesar 7%. Muara pembuangan pada kelenjar parotis disebut duktus *stensen* dan masuk pada mukosa bukal setinggi gigi molar dua rahang atas. Pada kelenjar submandibula disebut duktus *wharton* yang berjalan sepanjang dasar mulut hingga ke *frenulum lingualis*. Kelenjar sublingual sekresinya tidak dapat dipisahkan dari kelenjar submandibula (Kusumasari, 2012).

2.1.2 Mekanisme Sekresi Saliva

Sekresi saliva merupakan sebuah rangkaian fungsi. Sekresi saliva, aliran darah vaskuler dan pertumbuhan kelenjar saliva sangat bergantung pada kedua sistem saraf otonom yaitu saraf simpatis dan saraf parasimpatis. Rangsang saraf simpatis menyebabkan vasokonstriksi sehingga sekresi saliva sedikit. Rangsang saraf parasimpatis yang disertai vasodilatasi pada kelenjar menyebabkan sekresi saliva banyak dan encer. Sistem parasimpatis yang berperan lebih banyak dalam mengatur sekresi saliva. Sistem parasimpatis akan menghantarkan impuls saraf ke nukleus salivarius, nukleus salivarius superior akan meneruskan rangsang saraf ke kelenjar sublingual dan kelenjar submandibular, nukleus salivarius inferior akan meneruskan rangsang saraf ke kelenjar parotis, sedangkan kelenjar saliva minor akan dipersarafi oleh serabut jaringan parasimpatis dari saraf fasial (Astiti, 2010).

Sekresi kelenjar saliva dapat distimulasi dengan beberapa cara seperti rangsangan mekanis dengan mengunyah makanan, rangsangan kimiawi dengan rasa makanan yaitu asam, manis, asin, pahit, pedas, rangsangan neuronal melalui saraf otonom, rangsangan psikis, serta rangsangan rasa sakit. Refleksi saliva dapat dirangsang dengan gerakan mekanis dalam mulut dengan menstimulasi reseptor pengecap oleh *Nervus Trigeminal* (V) dan *Nervus Fasialis* (V2) (Karuniawati, 2014).

Sebagian besar sekresi saliva dihasilkan pada saat pengecapan dan pengunyahan makanan. Pada saat tidak sedang makan saliva tetap ada, namun aliran saliva dalam rongga mulut sangat sedikit. Pada individu sehat, saliva tetap berada dalam rongga mulut sebanyak 0,5 ml sehingga gigi akan terendam dalam

saliva (*resting saliva*) dan membantu mempertahankan integritas gigi, melindungi gigi, lidah, membran mukosa mulut, dan orofaring (Kusumasari, 2012).

Kelenjar saliva dapat dirangsang dengan berbagai cara, yaitu :

- 1) Mekanis, dilakukan dengan cara mengunyah.
- 2) Kimiawi, diantaranya dengan rangsangan rasa seperti asam, manis, asin, pahit, pedas.
- 3) Neural, dengan cara mempengaruhi sistem saraf autonom.
- 4) Psikis, stres menghambat sekresi, sedangkan ketegangan dan kemarahan dapat memacu stimulasi kelenjar saliva.
- 5) Rangsang sakit dapat menstimulasi sekresi (Kusumasari, 2012).

2.1.3 Komposisi Saliva

Beberapa komposisi saliva adalah (Purba, 2009) :

1. Protein

Beberapa jenis protein yang terdapat didalam saliva adalah :

a) *Mucoid*

Merupakan sekelompok protein yang sering disebut dengan *mucin* dan memberikan konsistensi mukus pada saliva. *Mucin* juga berperan sebagai glikoprotein karena terdiri dari rangkaian protein yang panjang dengan ikatan rantai karbohidrat yang lebih pendek.

b) Enzim

Enzim yang ada pada saliva dihasilkan oleh kelenjar saliva dan beberapa diantaranya merupakan produk dari bakteri dan leukosit yang ada pada rongga mulut. Beberapa enzim yang terdapat dalam saliva adalah *amylase* dan *lysozyme* yang berperan dalam mengontrol pertumbuhan bakteri di rongga mulut.

c) Protein Serum

Saliva dibentuk dari serum maka sejumlah serum protein yang kecil ditemukan didalam saliva. *Albumin* dan *globulin* termasuk kedalam serum saliva.

d) Waste Products

Pada saliva juga ditemukan sebagian kecil dari *waste product* pada serum, urea dan *uric acid*.

2. Ion-ion Inorganik

Ion-ion utama yang ditemukan dalam saliva adalah kalsium dan fosfat yang berperan penting dalam pembentukan kalkulus. Ion-ion lain yang memiliki jumlah yang lebih kecil terdiri dari sodium, potasium, klorida, dan sulfat.

3. Gas

Pembentukan pertama saliva, saliva mengandung gas oksigen yang larut, nitrogen dan karbon dioksida dengan jumlah yang sama dengan serum. Ini memperlihatkan bahwa konsentrasi karbon dioksida cukup tinggi dan hanya dapat dipertahankan pada larutan yang memiliki tekanan didalam kelenjar duktus, tetapi pada saat saliva mencapai rongga mulut banyak karbon dioksida yang lepas.

4. Zat-zat Aditif di Rongga Mulut

Merupakan berbagai substansi yang tidak ada didalam saliva pada saat saliva mengalir dari dalam duktus, akan tetapi menjadi bercampur dengan saliva di dalam rongga mulut. Zat aditif antara lain mikroorganisme, leukosit dan *dietary substance*.

2.1.4 Fungsi Saliva

Saliva mempunyai fungsi yang sangat penting untuk kesehatan rongga mulut karena mempunyai hubungan dengan proses biologis yang terjadi dalam rongga mulut. Fungsi saliva sebagai berikut (Almeida *et al.*, 2008) :

- 1) Sebagai cairan pelumas mempermudah proses menelan dengan membasahi partikel-partikel makanan sehingga saling menyatu dengan menghasilkan *mucus* yang kental dan licin, melapisi dan melindungi mukosa terhadap iritasi mekanis, kimiawi, termis, membantu pelancaran aliran udara, dan membantu dalam proses berbicara;
- 2) Sebagai cadangan ion karena cairannya yang jenuh terutama dengan ion kalsium akan memfasilitasi proses mineralisasi gigi;
- 3) Berperan sebagai *buffer* yang membantu menetralkan pH plak sesudah makan, sehingga mengurangi waktu terjadinya demineralisasi serta mengatur pH rongga mulut tetap normal karena mengandung bikarbonat, fosfat dan protein amfoter;
- 4) Sebagai pembersih sisa makanan dan membantu proses penelanan makanan;
- 5) Sebagai antimikroba dan juga mengontrol mikroorganisme rongga mulut secara spesifik misal dengan IgA dan non spesifik misal dengan adanya lisosim, laktoferin, sialoperoxidase;
- 6) Kemampuan aglutinasi dengan adanya agregasi dan mempercepat pembersihan sel-sel bakteri;
- 7) Membantu proses digestif (pencernaan makanan) dengan memecah polisakarida menjadi monosakarida dengan bantuan enzim *amylase*;

- 8) Membentuk pelikel yang berfungsi sebagai barier misalnya terhadap asam hasil fermentasi sisa-sisa makanan;
- 9) Berperan dalam pengecapan rasa, dapat melarutkan substansi pengecapan dari berbagai macam bentuk sifat fisik makanan baik padat maupun larutan. Substansi ini kemudian dibawa oleh saliva ke tempat sel reseptor pengecapan yang terdapat pada *taste buds*;
- 10) Eksresi secara teknis, rongga mulut langsung berhubungan dengan bagian luar tubuh, substansi yang disekresikan akan dibuang.

2.1.5 pH (*Potensial Of Hidrogen*) Saliva

Derajat keasaman suatu larutan dinyatakan dengan pH untuk larutan yang netral sama dengan 7 dan turun dengan naiknya kekuatan asam $\text{pH} < 7$, suatu larutan adalah basa pada $\text{pH} > 7$. Susunan kuantitatif dan kualitatif elektrolit dalam saliva terutama susunan bikarbonat menentukan pH dan kapasitas buffer saliva. Derajat keasaman (pH) dan kapasitas buffer saliva dipengaruhi oleh beberapa faktor berikut (Almeida *et al.*, 2008) :

a. Irama siang dan malam

pH saliva meningkat dan kemudian turun kembali dengan cepat pada keadaan istirahat atau segera setelah bangun. Seperempat jam setelah makan (stimulasi mekanik), pH saliva juga tinggi dan turun kembali dalam waktu 30-60 menit kemudian. pH saliva sedikit meningkat sampai malam, setelah itu turun kembali.

b. Diet

Diet kaya karbohidrat dapat menurunkan kapasitas *buffer* saliva dan meningkatkan metabolisme produksi asam oleh bakteri di rongga

mulut, sedangkan diet kaya serat dan protein mempunyai efek meningkatkan buffer saliva dan meningkatkan sekresi zat-zat seperti ammonia.

c. Rangsangan kecepatan sekresi

Hal ini berkaitan dengan ion bikarbonat yang meningkat jika terjadi peningkatan dari laju aliran saliva sehingga saliva meningkat.

d. Jenis kelamin

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, laju aliran saliva perempuan cenderung lebih rendah dibandingkan pria. Hal ini disebabkan kelenjar saliva yang dimiliki perempuan lebih kecil jika dibandingkan dengan pria. Dengan demikian, pH saliva pada perempuan lebih rendah dibandingkan dengan pria.

e. Status psikologis

Penurunan kecepatan sekresi saliva saat keadaan tertekan sehingga menyebabkan penurunan pH saliva.

f. Usia

Kelenjar submandibula mengalami atrofi seiring bertambahnya usia sehingga sekresi saliva menurun dan terjadi penurunan pH saliva. Penurunan saliva akibat penuaan sangat kecil jika dibandingkan dengan penurunan akibat penyakit atau medikasi tertentu.

g. Perubahan hormonal

Perubahan hormon kelamin akan berubah saat wanita mengalami menopause. Hal ini menyebabkan sekresi saliva menurun sehingga pH saliva juga menurun.

h. Penyakit sistemik

Diabetes mellitus merupakan salah satu penyakit sistemik yang mempengaruhi produksi saliva. Penderita diabetes mellitus memiliki kelenjar saliva yang kurang dapat menerima stimulus sehingga mengurangi kemampuan kelenjar saliva untuk mensekresi saliva dan menyebabkan pH saliva turun.

i. Radioterapi

Pengobatan radioterapi dapat mengakibatkan rusaknya sel-sel sekresi kelenjar saliva sehingga dapat muncul gejala mulut kering, laju aliran saliva akan menurun, dan pH saliva juga akan menurun.

j. Medikasi tertentu

Beberapa obat dapat menyebabkan kekeringan pada rongga mulut, misalnya antidepresan, antipsikotik, antikolinergik, dan antihipertensi. Kemoterapi dan obat-obatan sitotoksik yang berfungsi mengatasi malignansi biasanya juga menyebabkan gejala mulut kering yang akut.

2.2 Saliva Buatan

2.2.1 Saliva Buatan dalam Kedokteran Gigi

Saliva buatan merupakan suatu larutan yang dibuat untuk keperluan penelitian *in vitro*. Di Indonesia terdapat beberapa penelitian yang menggunakan saliva buatan. Penelitian Bjorklund M tahun 2011 yang berjudul “Improved Artificial for Studying The Cariogenic Effect of Carbohydrates” menunjukkan bahwa *Streptococcus mutans* dapat bertahan hidup dan mampu dikembangkan dalam media saliva buatan.

2.2.2 Komposisi Saliva Buatan

Bahan	g/Liter Aquadest
NaHCO ₃	9.8
Na ₂ HPO ₄ ·7H ₂ O	7
NaCl	0,47
KCl	0,57
CaCl ₂	0,04
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,06

Tabel 2.1 Komposisi Saliva Buatan (Sumber: Ardhy *et al.*, 2015)

2.3 *Streptococcus mutans*

2.3.1 Sejarah

Streptococcus mutans dikemukakan pertama kali oleh Jk Clark pada tahun 1924 setelah ia mengisolasinya dari suatu lubang luka tetapi sampai pada tahun 1960-an mikroba tersebut tidak ditemukan. Mikroba tersebut dihasilkan ketika peneliti mulai belajar kerusakan pada gigi. Secara biokimia sangat serupa tetapi setelah membawa juru gambar antigenik berbeda, semuanya menjadi 7 serotypes yaitu a, b, c, d, e, f dan g yang diuraikan (Nugraha, 2008).

2.3.2 Morfologi

Streptococcus mutans merupakan bakteri gram positif, bersifat nonmotil (tidak bergerak), bakteri anaerob fakultatif. Memiliki bentuk kokus yang sendirian berbentuk bulat atau bulat telur dan tersusun dalam rantai. Secara khas *Streptococcus mutans* berbentuk bulat yang membentuk pasangan atau rantai selama masa pertumbuhannya dengan diameter sel 0,5- 0,7 µm. Bakteri ini tumbuh secara optimal pada suhu sekitar 18⁰-40⁰ Celsius. *Streptococcus mutans* biasanya ditemukan pada rongga gigi manusia yang luka dan menjadi bakteri yang paling kondusif menyebabkan karies untuk email gigi (Nugraha, 2008).

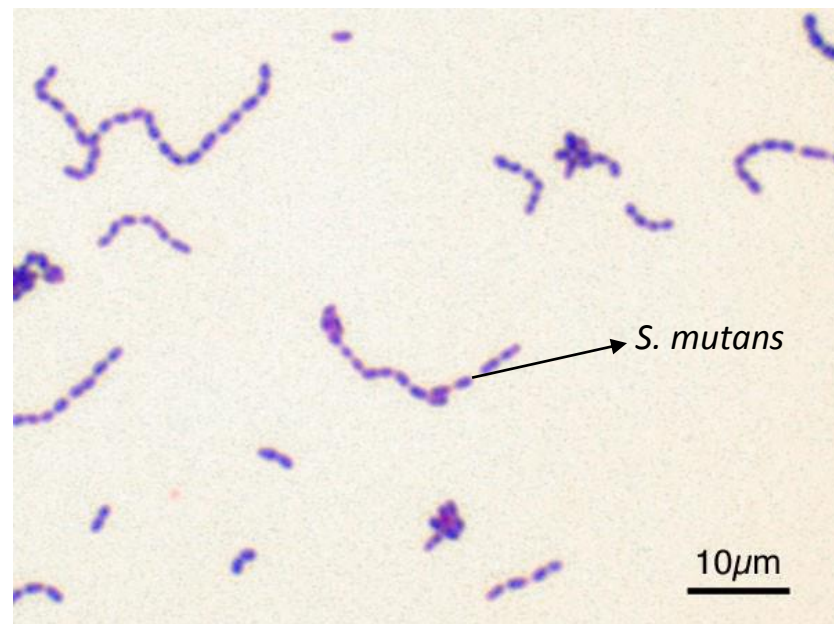
Streptococcus mutans adalah bersifat asidogenik yaitu menghasilkan asam dan asidurik mampu hidup atau bertahan pada lingkungan asam serta menghasilkan suatu polisakarida yang lengket disebut *dextran* sehingga mendukung pertumbuhan bakteri lain (Nugraha, 2008; Brooks *et al.*, 2007).

2.3.3 Taksonomi dan Klasifikasi

Klasifikasi dari *S. mutans* menurut Bergey (dalam Capuccino, 2001) adalah:

Kingdom	: <i>Monera</i>
Divisio	: <i>Firmicutes</i>
Class	: <i>Bacilli</i>
Order	: <i>Lactobacilalles</i>
Family	: <i>Streptococcaceae</i>
Genus	: <i>Streptococcus</i>
Species	: <i>Streptococcus mutans</i>

Secara serologis *Streptococcus mutans* dapat dibedakan menjadi 8 serotipe berdasarkan spesifitas karbohidrat pada dinding selnya. Serotipe a disebut *S. cricetus*, serotipe b disebut *S. ratius*, Serotipe c, e, dan f disebut *S. mutans*, serotipe d dan g disebut *S. sobrinus*, serotipe h yang disebut *S. downer*. Semua serotipe, kecuali *S. ratius*, akan mengekspresikan *major cell surface-associated* protein yang disebut antigen I atau antigen II, antigen B. *Streptococcus mutans* serotipe c dan *S. cobrinus* yang disebut *S. mutans* serotipe g dinyatakan sebagai agen etiologi karies yang utama. Bakteri golongan *Streptococcus* mempunyai beberapa *strain*, tetapi yang dominan dan banyak sekali ditemukan dalam rongga mulut manusia adalah jenis *S. mutans* (strain c, e, f) dan *S. sobrinus* (strain d, g) (Brooks *et al.*, 2007).



Gambar 2.1 *S. mutans* (Sumber: Manton, 2010)

2.3.4 Habitat

Habitat utama *Streptococcus mutans* ialah permukaan gigi. Bakteri ini tidak dapat tumbuh secara menyeluruh pada permukaan gigi, tetapi sering tumbuh pada area tertentu di permukaan gigi. Biasanya kita dapat menemukan koloni *Streptococcus mutans* dalam pit dan fisur, permukaan oklusal, area proksimal gigi, gingiva atau pada lesi karies gigi. Koloni kuman ini memerlukan permukaan yang tidak deskuamatik, karena itu didalam mulut pertama kali ditemukan pada plak gigi. Jumlah populasi *Streptococcus mutans* dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu: sukrosa, topikal aplikasi fluor, penggunaan antibiotik, obat kumur dengan antiseptik dan *oral hygiene* (Nugraha, 2008).

Pertumbuhan *Streptococcus mutans* menjadi kurang subur pada perbenihan padat atau kaldu, kecuali diperkaya darah atau cairan jaringan (Brooks *et al.*, 2007). Media lain yang dapat dipakai untuk menumbuhkan *Streptococcus mutans* adalah *Brain Heart Infusion Broth (BHI-B)*, *Trypton Yeast*

Cystein (TYC) dan agar darah (Sukanto *et al.*, 2002). Sebagian besar *Streptococcus* tumbuh dalam media padat sebagai koloni diskoid, mempunyai diameter 1-2 mm (Brooks *et al.*, 2007).

Pada pertumbuhannya secara anaerob, *Streptococcus mutans* dapat menggunakan amoniak sebagai satu-satunya sumber nitrogen. Hasil fermentasi dari glukosa termasuk *lactate*, *acetate*, *ethanol* dan *formate* pada kultur anaerob dan *seton* pada kultur aerob. Berbeda dengan kebanyakan *Streptococcus* mulut lainnya, manitol dan sorbitol tidak difermentasikan oleh semua bakteri *Streptococcus mutans* (Nolte dalam Dewi, 2009).

2.3.5 Identifikasi Bakteri

a. Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram atau metode Gram adalah suatu metode empiris untuk membedakan spesies bakteri menjadi dua kelompok besar, yakni gram positif dan gram negatif. Metode ini ditemukan oleh ilmuwan bernama Denmark Hans Christian Gram (1853–1938) yang mengembangkan teknik ini pada tahun 1884 untuk membedakan antara *pneumococcus* dan bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Bakteri gram positif akan mempertahankan zat warna kristal violet dan akan tampak berwarna ungu tua di bawah mikroskop. Adapun bakteri gram negatif akan kehilangan zat warna kristal violet setelah dicuci dengan alkohol, dan sewaktu diberi zat pewarna air *fuchsin* atau safranin akan tampak berwarna merah (Arrachman, 2016).

b. Uji Katalase

Uji katalase ini dilakukan untuk mengidentifikasi kelompok bakteri bentuk kokkus, dalam membedakan *Staphylococcus* dan *Streptococcus*. *Streptococcus* bersifat katalase negatif dan *Staphylococcus* bersifat katalase positif. Penentuan adanya katalase ini terlihat dari pembentukan gelembung udara di sekitar koloni setelah ditambahkan larutan H₂O₂ 3% (Yurdakul, 2013)

2.4 Tomat

Tomat (*Solanum lycopersicum*) merupakan salah satu tanaman yang sangat dikenal oleh masyarakat Indonesia. Namun pemanfaatannya terbatas sebagai bahan tambahan dalam masakan. Kandungan senyawa dalam buah tomat di antaranya alkaloid solanin (0,007%), saponin, asam folat, asam sitrat, flavonoid, klorin sulfur, protein, lemak, gula (glukosa, fruktosa), adenine, trigonelin, kholin, tomatin, mineral seperti Ca, Mg, P, K, Na, Fe, sulfur, chlorine, dan vitamin seperti B1, B2, B6, C, E, likopen, niasin, serta histamine (Suhartati, 2015). Tomat ditanam sebagai tanaman buah di ladang, pekarangan, atau ditemukan liar pada ketinggian 1-1600 mdpl. Ada lebih dari 1000 varietas tomat yang beragam dalam bentuk, ukuran (2,5-15 cm), ataupun warnanya (kuning, merah, orange, hijau, dan coklat) (Dalimartha dan Adrian, 2011).



Gambar 2.2 Tomat (*Solanum lycopersicum*) (Sumber: Jones, 2008)

2.4.1 Klasifikasi

Klasifikasi buah tomat adalah sebagai berikut (Jones, 2008):

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Ordo	: <i>Solanales</i>
Famili	: <i>Solanaceae</i>
Genus	: <i>Solanum</i>
Spesies	: <i>Solanum lycopersicum</i> L. var. <i>roma</i>

2.4.2 Morfologi

Terna atau tumbuhan berbatang lunak, tumbuh tegak atau bersandar pada tanaman lain, tinggi 5-2,5 m, bercabang banyak, berambut, dan berbau kuat. Batang bulat, menebal pada buku-bukunya, berambut kasar warnanya hijau keputihan. Daun meajemuk menyirip, letak berseling, bentuknya bundar telur sampai memanjang, ujung runcing, pangkal mebulat, helaian daun besar, tepinya bergerigi, panjang 10-40 cm, warnanya hijau muda. Bunga majemuk terdiri dari 4-14 bunga, leak bunga diantara buku pada ruas, menggantung, bunga berkumpul dalam rangkaian berupa tandan, bertangkai, mahkota berbentuk

bintang warnanya kuning. Buahnya buni, berdaging, kulitnya tipis, licin mengkilap, beragam bentuk, warnanya kuning atau merah (Dalimartha, 2003).

Bagian buah tomat meliputi *eksocarp*, *mesocarp*, dan *endocarp*. *Eksocarp* adalah lapisan terluar dari buah dan sering mengandung zat warna buah terdiri dari dinding pericarp dan kulit buah. *Pericarp* meliputi dinding luar dan dinding radial (septa) yang memisahkan rongga lokula. *Mesocarp* adalah lapisan yang paling dalam berupa selaput terdiri dari parenkim dengan ikatan pembuluh (jaringan tertutup) dan lapisan bersel tunggal yaitu lokula. *Endocarp* adalah lapisan paling dalam terdiri dari biji, plasenta, dan *columella* (Jones, 2008).

2.4.3 Kandungan

Kandungan kimia pada tomat antara lain alkaloid solanin (0,007%), saponin, asam folat, asam sitrat, flavonoid, klorin sulfur, protein, lemak, gula (glukosa, fruktosa), adenine, trigonelin, kholin, tomatin, mineral seperti Ca, Mg, P, K, Na, Fe, sulfur, chlorine, dan vitamin seperti B1, B2, B6, C, E, likopen, niasin, serta histamine (Suhartati, 2015). Diantara banyaknya kandungan pada tomat senyawa flavonoid, alkaloid, saponin diketahui memiliki sifat antibakteri.

a. Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu senyawa aktif pada tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri, antioksidan dan antiinflamasi (Fitriana, 2012). Mekanisme flavonoid, seperti quercetin sebagian besar disebabkan oleh penghambatan DNA *gyrase*. *Sophoraflavone G* dan *epigallocatechin gallate* telah diusulkan dapat menghambat fungsi membran sitoplasma, sedangkan *lipo-chalcones A* dan *C* dapat menghambat metabolisme energi sehingga mengganggu aktivitas sel dan pertumbuhan dari bakteri (Suteja *et al.*, 2016).

b. Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa yang bersifat polar, sehingga akan mampu tertarik dalam pelarut etanol. Alkaloid memiliki aktivitas biologis yang berbeda-beda pada masing-masing penggunaannya seperti antivirus, antijamur dan antibakteri. Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri, dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel bakteri tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel bakteri (Robinson, 1995)

c. Saponin

Saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya dalam membentuk busa. Senyawa saponin dapat bekerja sebagai bakteriostatik dengan cara merusak membran sitoplasma. Saponin berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan, lalu mengikat membran sitoplasma dan mengganggu dan mengurangi kestabilan itu. Hal ini menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel. Agen antimikroba yang mengganggu membran sitoplasma bersifat bakterisida (Cavalieri *et al.*, 2005 dalam Ngajow *et al.*, 2013).

2.5 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan peristiwa pemindahan zat terlarut antara dua pelarut yang tidak saling bercampur. Proses ekstraksi bertujuan untuk mendapatkan bagian-bagian tertentu dari bahan yang mengandung komponen-komponen aktif. Teknik ekstraksi yang tepat berbeda untuk masing-masing bahan. Hal ini

dipengaruhi oleh tekstur kandungan bahan dan jenis senyawa yang ingin didapat (Nielsen, 2003).

2.5.1 Metode

Metode pembuatan ekstrak menurut Ditjen POM (2000) ada 2, yaitu dengan ekstraksi cara dingin dan ekstraksi cara panas.

2.5.1.1 Ekstraksi Cara Dingin

Metode ini artinya tidak ada proses pemanasan selama proses ekstraksi berlangsung, tujuannya untuk menghindari rusaknya senyawa yang dimaksud rusak karena pemanasan. Jenis ekstraksi dingin adalah maserasi dan perkolasi

a. Metode Maserasi

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dengan adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel.

b. Metode Perkolasi

Perkolasi adalah proses penyarian simplisia dengan jalan melewati pelarut yang sesuai secara lambat pada simplisia dalam suatu perkolator. Perkolasi bertujuan supaya zat berkhasiat tertarik seluruhnya dan biasanya dilakukan untuk zat berkhasiat yang tahan ataupun tidak tahan pemanasan.

Cairan penyari dialirkan dari atas ke bawah melalui serbuk tersebut, cairan penyari akan melarutkan zat aktif sel-sel yang dilalui sampai mencapai keadaan jenuh. Gerak kebawah disebabkan oleh kekuatan gaya beratnya sendiri dan cairan di atasnya, dikurangi dengan daya kapiler yang cenderung untuk menahan. Kekuatan yang berperan pada perkolasi antara lain: gaya berat, kekentalan, daya larut, tegangan permukaan, difusi, osmosa, adesi, daya kapiler dan daya geseran (friksi).

2.5.1.2 Ekstraksi Cara Panas

Metode ini pastinya melibatkan panas dalam prosesnya. Dengan adanya panas secara otomatis akan mempercepat proses penyarian dibandingkan cara dingin. Metodanya adalah refluks, ekstraksi dengan alat soklet dan infusa.

a. Metode Refluks

Salah satu metode sintesis senyawa anorganik adalah refluks, metode ini digunakan apabila dalam sintesis tersebut menggunakan pelarut yang volatil. Pada kondisi ini jika dilakukan pemanasan biasa maka pelarut akan menguap sebelum reaksi berjalan sampai selesai. Prinsip dari metode refluks adalah pelarut volatil yang digunakan akan menguap pada suhu tinggi, namun akan didinginkan dengan kondensor sehingga pelarut yang tadinya dalam bentuk uap akan mengembun pada kondensor dan turun lagi ke dalam wadah reaksi sehingga pelarut akan tetap ada selama reaksi berlangsung. Sedangkan aliran gas N_2 diberikan agar tidak ada uap air atau gas oksigen yang masuk terutama pada senyawa organologam untuk sintesis senyawa anorganik karena sifatnya reaktif.

b. Metode Soklet

Sokletasi adalah suatu metode atau proses pemisahan suatu komponen yang terdapat dalam zat padat dengan cara penyaringan berulang-ulang dengan menggunakan pelarut tertentu, sehingga semua komponen yang diinginkan akan terisolasi. Sokletasi digunakan pada pelarut organik tertentu. Dengan cara pemanasan, sehingga uap yang timbul setelah dingin secara kontinyu akan membasahi sampel, secara teratur pelarut tersebut dimasukkan kembali ke dalam labu dengan membawa senyawa kimia yang akan diisolasi tersebut.

2.5.2 Pelarut

Macam-macam pelarut yang digunakan dalam ekstraksi (Tiwari *et al.*, 2011) :

a. Air

Air merupakan pelarut universal. Para penyembuh tradisional menggunakan air sebagai pelarut utama, tetapi ekstrak tanaman yang menggunakan pelarut organik memberikan efek yang lebih konsisten dibandingkan ekstrak yang menggunakan pelarut air.

b. Aseton

Aseton melarutkan sebagian besar komponen hidrofilik dan lipofilik serta dalam air, stabil dan memiliki toksitas rendah.

c. Alkohol

Aktivitas pelarut alkohol lebih tinggi dari air, hal ini didapatkan lebih banyaknya polifenol yang ikut pada alkohol. Alkohol lebih efektif di dinding sel dan degradasi yang mempunyai sifat nonpolar yang menyebabkan polifenol lebih

mudah ditarik. Alkohol terutama etanol dapat mempenetrasi membrane dari tumbuhan lebih mudah sehingga lebih banyak zat aktif dalam tumbuhan.

2.6 Uji Aktivitas Antibakteri

Penentuan kepekaan bakteri patogen terhadap antimikroba dapat dilakukan dengan salah satu dari dua metode pokok yaitu dilusi atau difusi. Penting sekali menggunakan metode standar untuk mengendalikan semua faktor yang mempengaruhi aktivitas antimikroba.

a. Metode Dilusi

Metode ini menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap, baik dengan media cair atau padat. Kemudian media diinokulasi bakteri uji dan dieramkan. Tahap akhir dilarutkan antimikroba dengan kadar yang menghambat atau mematikan. Uji kepekaan cara dilusi agar memakan waktu dan penggunaannya dibatasi pada keadaan tertentu saja (Jawetz *et al*, 2001).

b. Metode Difusi

Metode yang paling sering digunakan adalah metode difusi agar. Cakram kertas saring berisi sejumlah tertentu obat ditempatkan pada permukaan medium padat yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji pada permukaannya. Setelah inkubasi, diameter zona hambatan sekitar cakram dipergunakan mengukur kekuatan hambatan obat terhadap organisme uji. Metode ini dipengaruhi oleh beberapa faktor fisik dan kimia, selain faktor antara obat dan organisme (misalnya sifat medium dan kemampuan difusi, ukuran molekular dan stabilitas obat). Meskipun demikian, standarisasi faktor-faktor tersebut memungkinkan melakukan uji kepekaan dengan baik (Jawetz *et al*, 2001).

2.7 Spektrofotometer

Spektrofotometer adalah alat yang digunakan untuk mengukur absorbansi dengan cara melewatkan cahaya dengan rentang panjang gelombang sesuai dengan sumber cahaya. Dimana zat yang terdapat dalam sel sampel disinari dengan panjang gelombang tertentu, sehingga didapatkan ukuran suatu konsentrasi dari sampel tersebut. Ketika cahaya mengenai sampel, sebagian akan diserap sebagian akan dihamburkan dan sebagian akan diteruskan. Cahaya yang diserap diukur sebagai absorbansi (Prasetia, 2014). Nilai absorbansi digunakan untuk menentukan banyaknya jumlah koloni bakteri yang terkandung dalam suatu media cair. Parameter yang diukur adalah tingkat kekeruhan suatu media cair yang digunakan untuk sampel penelitian. Dimana semakin besar nilai absorbansi, maka semakin banyak bakteri yang terkandung dalam media cair tersebut (Lasmayanty, 2007).