

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Perawatan Saluran Akar

Perawatan saluran akar bertujuan mempertahankan gigi agar tetap dapat bertahan dalam rongga mulut walaupun jaringan pulpanya telah mengalami infeksi atau telah non vital. Perawatan ini mengeluarkan seluruh jaringan pulpa gigi pada ruang pulpa dan saluran akar yang rusak dan diikuti dengan pembersihan, perbaikan bentuk dan pengisian sistem saluran akar sehingga gigi dapat tetap menjadi unit fungsional dalam lengkung rahang (Stock *et al.*, 2004).

Tujuan perawatan saluran akar adalah untuk membersihkan ruang pulpa yang terinfeksi serta untuk membentuk saluran akar agar dapat menerima bahan pengisi yang akan menutup seluruh sistem saluran akar. Tujuan lainnya adalah membersihkan dan mendisinfeksi sistem saluran akar sehingga menghilangkan bakteri serta jaringan nekrotik, dan membantu proses penyembuhan periapikal (Rhodes, 2006).

Perawatan saluran akar memiliki tiga prinsip penting dalam tahapan perawatannya, prinsip ini disebut *triad endodontics*, yaitu meliputi preparasi biomekanis saluran akar (pembersihan dan pembentukan), desinfeksi saluran akar, dan obturasi. Tindakan desinfeksi atau irigasi merupakan suatu tahapan kontrol mikroba yang penting pada perawatan saluran akar dalam tiga tahap tersebut (Cohen, 2006).

2.1.1 Irigasi Saluran Akar

Pembersihan dan pembentuk saluran harus selalu diirigasi selama perlakuan dan sesudahnya untuk menghilangkan fragmen jaringan pulpa dan serpihan dentin yang menumpuk. Irigasi juga dapat membersihkan debris makanan bila saluran dibiarkan terbuka untuk drainase selama abses alveolar akut (Grossman *et al.*, 2010). Jumlah debris yang dibuang oleh bilasan larutan irigasi saluran akar merupakan faktor yang lebih berpengaruh terhadap kebersihan saluran akar dibandingkan dengan efek melarutkan jaringan (Winter, 2011). Efektivitas larutan irigasi tergantung pada jumlah larutan irigasi, diameter saluran akar, dan kondisi pulpa (Grossman *et al.*, 2010).

Pembersihan atau debridemen saluran akar dengan menghilangkan seluruh mikroorganisme memegang peranan yang sangat penting dalam keberhasilan perawatan saluran akar. Instrumentasi pada saluran akar tidak dapat membersihkan seluruh mikroorganisme di dalam saluran akar. Bakteri dalam saluran akar dapat ditemukan pada dinding kanal, di antara tubulus dentin, dan di kanal lateral. Desinfeksi saluran akar dapat ditingkatkan dengan penggunaan larutan irigan saluran akar yang diberikan secara terus menerus atau dalam selang waktu tertentu selama instrumentasi. Keadaan yang seperti ini membuat larutan irigasi sangat penting, yaitu untuk membunuh bakteri, mengeliminasi sisa-sisa jaringan organik dan inorganik serta mendesinfeksi area yang tidak tercapai instrument (Winter, 2011).

Bahan irigan yang baik harus mampu mendisinfeksi, memberikan efek antibakteri jangka panjang, menghilangkan lapisan *smear*, harga relatif murah, aplikasi mudah, tidak menyebabkan diskolorasi, tidak beracun, serta non

karsinogenik. Bahan irigasi juga seharusnya tidak memiliki efek yang merugikan pada dentin dan bahan obturasi (Winter, 2011).

2.1.1.1 Jenis- Jenis Larutan Irigasi Saluran Akar

1. Golongan Halogen

a. Klorin

Bahan irigasi yang mengandung klorin telah digunakan sejak bertahun-tahun untuk mengirigasi saluran akar. Bahan irigasi yang mengandung klorin adalah sodium hypochlorite (NaOCl). Bila saluran akar diisi dengan larutan tersebut selama prosedur pembersihan, akan berperan sebagai pelarut jaringan pulpa, antiseptik dan pemutih. Meskipun aksi melarutkan dari sodium hypochlorite telah dapat dibuktikan, peneliti-peneliti lain menemukan bahwa sodium hypochlorite kurang efektif pada saluran akar sempit.

b. Iodida

Larutan organik yang mengandung iodin disebut iodoform. Keuntungan bahan ini adalah dapat membersihkan saluran akar karena mempunyai tegangan permukaan yang lebih rendah, serta iodin yang dikandungnya tidak menimbulkan reaksi alergi. Tetapi sama seperti sodium hypochlorite, iodin mempunyai efek toksik 10 kali lebih besar dibanding efek antimikrobanya. Larutan iodin yang sering digunakan adalah Wescodyne dan Iodopax.

2. Golongan Detergen

Detergen sering digunakan sebagai larutan irigasi, karena sangat efektif menghilangkan sisa jaringan lemak hasil dari jaringan nekrosis. Bahan dari golongan ini yang sering digunakan adalah dari komponen *quaternary ammonium*. Komponen ini dahulunya dianggap sangat optimal untuk terapi antimikroba dan efektif dalam konsentrasi yang rendah. Namun terbukti salah, sebenarnya komponen ini juga lebih toksik dari larutan irigasi lain serta sifat bakterisidalnya yang lemah. Zephiron Chloride adalah suatu komponen yang sering dipakai sebagai bahan irigasi endodontic, tetapi karena bersifat toksisitas serta efektivitas antibakteri yang lemah, maka lebih baik menggunakan larutan lain.

3. Chelating Agent

Larutan *chelating* adalah bahan yang digunakan untuk mendekalsifikasi saluran akar yang sempit. Larutan chelating yang sering digunakan adalah *Tublicid*, *EDTA*, *EDTAC*, *File-Eze*, dan juga *RC Prep*. Di antara semua larutan *chelating*, *EDTA* larutan yang paling aktif karena kemampuannya menghilangkan lapisan *smear*. Namun karena lapisan *smear* terdiri dari komponen organik dan anorganik, maka larutan EDTA saja tidak efektif untuk menghilangkannya (Cohen, 2006).

2.1.1.2 Teknik Irigasi Saluran Akar

Tindakan irigasi dilakukan dengan menggunakan pipet plastik *disposable* atau alat semprit kaca dengan jarum endodontic yang bertakik. Jarum harus dibengkokkan menjadi sudut tumpul untuk mencapai saluran akar gigi depan atau belakang. Jarum dimasukkan sebagian ke dalam saluran dan harus ada

ruang yang cukup antara jarum dan dinding saluran yang memungkinkan pengaliran kembali larutan dan menghindari penekanan ke dalam jaringan periapikal.

Saat membersihkan dan membentuk saluran akar, larutan disemprotkan hati-hati dengan sedikit atau tanpa tekanan serta harus diperhatikan agar saluran selalu penuh dengan larutan baru. Segera setelah preparasi, saluran akar harus dikeringkan dengan memakai *paper point* pada pengeringan terakhir (Grossman *et al.*, 2010).

Penyebab utama kegagalan perawatan saluran akar adalah persistensi infeksi pada saluran akar yang menghambat penyembuhan apikal. Bakteri yang paling banyak ditemukan dalam saluran akar adalah bakteri anaerob, selain itu juga terdapat bakteri mikroaerofili, fakultatif anaerob serta obligat aerob. Bakteri utama penyebab infeksi sekunder pada perawatan saluran akar adalah *Enterococcus faecalis* (Rhodes, 2006).

2.2 Klasifikasi dan Morfologi *Enterococcus faecalis*

Klasifikasi ilmiah *Enterococcus faecalis* :

<i>Kingdom</i>	: <i>Bacteria</i>
<i>Filum</i>	: <i>Firmicutes</i>
<i>Kelas</i>	: <i>Bacilli</i>
<i>Ordo</i>	: <i>Lactobacillales</i>
<i>Family</i>	: <i>Enterococcaceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Enteroccus</i>
<i>Spesies</i>	: <i>Enterococcus faecalis</i>



Gambar 2.1: *Enterococcus faecalis* (Grossman,2010)

Enterococcus faecalis merupakan bakteri kokus gram positif berbentuk ovoid berdiameter antara 0,5 – 1 μm yang dapat berkoloni secara rantai, berpasangan ataupun soliter. Bakteri ini bersifat fakultatif anaerob, mempunyai kemampuan untuk hidup dan berkembang biak dengan oksigen maupun tanpa oksigen. Bakteri ini mengkatabolisme berbagai sumber energi antara lain karbohidrat, gliserol, laktat, malate, sitrat, arginin, agmatin dan asam α keto lainnya. Bakteri ini merupakan mikroorganisme yang dapat bertahan dalam lingkungan yang sangat ekstrim, termasuk pH yang sangat alkalis dan konsentrasi garam yang tinggi (Davies, 2002). *E. faecalis* dapat bertahan pada pH 4 – 11 dan pada suhu 5° C - 50° C. Mikroorganisme ini dapat diisolasi dari berbagai infeksi rongga mulut serta berhubungan erat dengan respon inflamasi periradikular (Walton & Torabinejad, 2008).

Enterococcus faecalis merupakan bakteri yang biasa ditemukan dalam saluran akar dan biasanya tetap bertahan di dalamnya meskipun telah dilakukan perawatan. Bakteri ini bertanggung jawab terhadap 80-90 % infeksi saluran akar yang biasanya merupakan satu-satunya spesies *Enterococcus* yang diisolasi dari saluran akar yang telah selesai dilakukan perawatan (Peciuliene, 2000). Suatu

hasil penelitian lain juga menyebutkan bahwa 63% dari kegagalan perawatan saluran akar mengalami infeksi ulang disebabkan oleh bakteri ini. Kemampuan bakteri ini untuk bertahan hidup dalam lingkungan pH yang tinggi dan bertahan dalam saluran akar yang dapat menginvasi tubuli dentin, menyebabkan *E. faecalis* menjadi bakteri *pathogen* dan dapat menyebabkan kegagalan perawatan saluran akar. Bakteri ini juga biasa ditemukan dalam saluran akar yang telah diobturasi dan menjadi penanda adanya periodontitis apikalis kronis (Phillips, 2009).



Gambar 2.2: *Enterococcus faecalis* pada petri dish

Sumber: [internet]. Accessed on: 3 Januari 2015. Available from: <http://images.frompo.com/d7b7ef238a092d7bb283891cdca8ce6c>

Virulensi bakteri ini disebabkan kemampuannya dalam pembentukan kolonisasi pada *host*, dapat bersaing dengan bakteri lain, resisten terhadap mekanisme pertahanan *host*, menghasilkan perubahan *pathogen* baik secara langsung melalui produksi toksin atau secara tidak langsung melalui rangsangan terhadap mediator inflamasi. Faktor-faktor virulen yang berperan

adalah komponen *aggregation substance* (AS), *surface adhesins*, *sex pheromones*, *lipoteichoic acid* (LTA), *extraceluller superoxide production* (ESP), *gelatinase lytic enzyme*, *hyalurodinase*, dan *cytolysin toxin* (Bhardwaj, 2013).

Agregation substance (AS) membantu untuk berikatan dengan *protein extracellular matrix* (ECM), termasuk kolagen tipe I yang merupakan komponen organik utama dentin. Ikatan dengan kolagen ini kemungkinan akan menyebabkan infeksi endodontik. AS bersama dengan BS (*binding substance*) menginduksi proliferasi sel-T, diikuti dengan pelepasan *tumor necrosis factor beta* (TNF- β) dan *gamma interferon* (IFN- γ), kemudian mengaktifkan makrofag melepaskan *tumor necrosis factor alpha* (TNF- α). Sitokin TNF- α dan TNF- β terlibat dalam resorpsi tulang, sementara IFN- γ dianggap sebagai faktor dalam pertahanan *host* terhadap infeksi, tapi pada saat bersamaan juga sebagai mediator inflamasi. IFN- γ menstimulasi produksi agen *sitotoksik nitric oxide* (NO) oleh makrofag dan neutrofil dan menyebabkan kerusakan jaringan (Bhardwaj, 2013).

Sex pheromones merupakan plasmid yang bersifat kemotaktik terhadap neutrofil manusia serta menginduksi produksi *superoxide* dan sekresi *lysosomal enzymes*. Resistensi antibiotik dan sifat-sifat virulensi lainnya, seperti produksi *cytolysin* dapat disebarluaskan di antara *strain E.faecalis* melalui sistem *sex pheromones*. Enzim ini mengaktifasi sistem komplemen, yang memperbesar resorpsi tulang pada jaringan periapikal baik berupa kerusakan tulang maupun dengan menghambat pembentukan tulang baru.

Lipoteichoic acid (LTA) mampu menstimulasi leukosit untuk melepaskan beberapa mediator yang berperan dalam respon inflamasi, seperti TNF- α , interleukin 1 beta (IL-1 β), interleukin 6 (IL-6), interleukin 8 (IL-8), prostaglandin

(PGE2), *lysosomal enzymes* dan *superoxide anion*. Mediator-mediator tersebut berperan dalam kerusakan jaringan (Nurdin, 2011).

Superoxide anion yang terdapat pada *extracellular superoxide* merupakan radikal oksigen yang sangat reaktif terlibat dalam kerusakan sel dan jaringan pada proses inflamasi. *Superoxide anion* juga dihasilkan oleh osteoklas dan berperan dalam resorpsi tulang. *Gelatinase* berkontribusi terhadap resorpsi tulang dan degradasi dentin matriks organik. Hal ini berperan penting terhadap timbulnya inflamasi periapikal (Nurdin, 2011).

Hyaluronidase membantu degradasi *hyaluronan* pada dentin dan dihubungkan dengan kerusakan jaringan. Peranan lain *hyaluronidase* ialah menyuplai nutrisi untuk bakteri, karena produk degradasi dari substrat target merupakan disakarida yang diangkut dan dimetabolisme pada intraselular bakteri (Halkai *et al.*, 2012).

2.2.1 Identifikasi Bakteri *Enterococcus faecalis*

2.2.1.1 Tes Pewarnaan Gram

Tes pewarnaan Gram dilakukan untuk membedakan dua kelompok bakteri, yaitu bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif yang diamati menggunakan mikroskop. Bahan yang digunakan pada tes ini adalah kristal violet, lugol, alkohol, dan safranin (Tortora *et al.*, 2010).

Bakteri yang telah difiksasi dengan panas sehingga membentuk noda pada kaca objek diwarnai dengan pewarna basa yaitu kristal violet. Warna ungu mewarnai seluruh sel, maka pewarna ini disebut pewarna primer. Noda dicuci dan pada noda spesimen ditetesi lugol yang merupakan *mordant*. Tahap setelah lugol dicuci, baik bakteri Gram positif maupun Gram negatif tampak berwarna ungu. Noda spesimen kemudian dicuci dengan alkohol yang merupakan

decolorizing agent (senyawa peluntur warna) yang pada spesies bakteri tertentu dapat menghilangkan warna ungu dari sel. Tahap selanjutnya, alkohol dicuci, noda spesimen diwarnai kembali dengan safranin yang merupakan pewarna basa berwarna merah. Bakteri yang tetap berwarna ungu digolongkan ke dalam Gram positif, sedangkan bakteri yang berwarna merah digolongkan ke dalam Gram negatif (Tortora *et al.*, 2010).

Perbedaan warna antara bakteri Gram negatif dan bakteri Gram positif disebabkan oleh adanya perbedaan struktur pada dinding selnya. Dinding Gram positif mengandung banyak peptidoglikan, sedangkan dinding bakteri Gram negatif banyak mengandung lipopolisakarida (Tortora *et al.*, 2010).

2.2.1.2 Tes Katalase

Mikroorganisme harus bergantung pada mekanisme pertahanan yang memungkinkan mereka untuk memperbaiki atau menghindari kerusakan oksidatif hidrogen peroksida (H_2O_2) untuk bertahan hidup. Beberapa bakteri menghasilkan enzim katalase yang memfasilitasi detoksifikasi seluler. Katalase menetralkan efek bakterisida hidrogen peroksida dan konsentrasi dalam bakteri telah berkorelasi dengan patogenisitas. Enzim katalase berfungsi untuk menetralkan efek bakterisida hidrogen peroksida. Katalase mempercepat pemecahan hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen ($H_2O_2 + \text{Katalase} \rightarrow H_2O + O_2$) (Reiner, 2013).

Tes ini menggunakan H_2O_2 3%. Hasilnya, jika pada tes ini terlihat gelembung udara maka menunjukkan hasil positif dan jika tidak terlihat gelembung udara maka hasilnya adalah negatif (Reiner, 2013).

2.2.1.3 Tes Toleransi Garam (*Salt Tolerance Test*)

Tes ini digunakan untuk mengetahui kemampuan suatu mikroorganisme untuk tumbuh dalam konsentrasi garam yang tinggi. Hal ini digunakan untuk membedakan *enterococci* (positif) dari *non-enterococci* (negatif). *E.faecalis* dapat hidup pada 6,5% NaCl *broth* (Halkai *et al.*, 2012).

Brain Heart Infusion Broth (BHIB) yang mengandung 6,5% NaCl digunakan sebagai media uji. BHIB ini juga mengandung sedikit glukosa dan bromkresol ungu sebagai indikator untuk produksi asam. Dilakukan pengamatan maksimal 48 jam. Hasil diamati jika BHIB terlihat keruh dengan atau tanpa perubahan warna dari ungu menjadi kuning maka hasilnya adalah positif dan jika tidak terlihat keruh dan tidak ada perubahan warna maka hasilnya adalah negatif (Forbes, 2007).

2.2.1.4 Tes Biokimia

Tes biokimia dilakukan untuk mengidentifikasi bakteri *Enterococcus sp.* Berdasarkan tes biokimia, spesies *Enterococcus* dibagi menjadi 5 grup dan *E. faecalis* berada dalam satu grup dengan *E. faecium*, *E. casseliflavus*, *E. gallinarum*, *E. mundtii* dan *Lactococcus sp* (Stuart *et al.*, 2006).

Tes ini digunakan untuk mengidentifikasi bakteri *E. faecalis* menggunakan bahan kimia, diantaranya adalah L-arabinose, arginin dihidrolase, dan manitol. Tahap berikutnya, dilakukan pengamatan pada sumur uji biokimia. Bakteri *E. faecalis* akan menunjukkan hasil tes positif terhadap *arginin dihidrolase* dan *manitol*, serta hasil tes negatif terhadap *L-arabinose* (Stuart *et al.*, 2006).

2.2.1.5 Tes Hemolisis

Tes hemolisis dilakukan untuk mengetahui enzim hemolitik yang dimiliki oleh bakteri. Bakteri memiliki hemolisin yang dapat mengubah warna *blood agar* yang jelas di sekitar koloni. *Enterococcus faecalis* memiliki hemolisin (*cytolysin*) sebagai faktor virulensi (Bhardwaj, 2013).

Hemolisis alfa akan terbentuk zona hambatan di sekeliling koloni berwarna kehijauan sampai kecokelatan. Diskolorisasi ini terjadi akibat destruksi eritrosit parsial. Hemolisis beta akan terbentuk zona hambatan yang jelas tidak berwarna (transparan) di sekitar koloni akibat destruksi eritrosit secara sempurna. Hemolisis gamma atau non-hemolitik tidak terjadi hemolisis eritrosit atau tidak terjadi diskolorisasi pada media agar darah (Buxton, 2013).

2.3 Uji Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri suatu bahan dapat diukur untuk menentukan kemampuan suatu bahan untuk melawan bakteri, mendeteksi mekanisme resistensi bakteri, dan mengukur interaksi bahan dengan mikroorganisme. Penentuan aktivitas bahan antimikroba dapat dilakukan dengan dua metode (Forbes, 2007).

2.3.1 Metode Dilusi

2.3.1.1 Dilusi Tabung

Cara ini menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan sejumlah sel bakteri tertentu yang akan diuji. Masing-masing tabung diisi dengan obat yang telah diencerkan secara serial. Seri tabung diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan pada tabung.

Konsentrasi terendah obat pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba) adalah Kadar Hambat Minimal (KHM) dari obat. Biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar padat, diinkubasikan, dan keesokan harinya diamati ada tidaknya koloni bakteri yang tumbuh. Konsentrasi terendah obat pada biakan yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri adalah Kadar Bunuh Minimal (KBM) dari obat terhadap bakteri yang diuji. Menentukan KHM obat juga dilakukan dengan cara menggunakan medium agar padat yang disebut dengan metode *E test* (Dzen *et al.*, 2003).

2.3.1.2 Dilusi Agar

Metode dilusi agar dapat digunakan untuk mengukur Kadar Hambat Minimal (KHM) namun tidak dapat mengukur Kadar Bunuh Minimal (KBM). Metode ini memanfaatkan media padat berupa agar yang diletakkan pada cawan petri, kemudian ditambahkan bahan uji antibakteri lalu dibiarkan mengeras dan disimpan di dalam kulkas dengan suhu 5°C sampai siap dipakai. Inokulum bakteri ditetaskan pada agar pada hari dilakukannya perlakuan sekitar 0,001 ml dengan menggunakan pipet. Selanjutnya dilakukan inkubasi cawan petri pada suhu 37°C selama 16-18 jam kemudian dapat dilihat terdapat pertumbuhan bakteri atau tidak (Dzen *et al.*, 2003).

2.3.2 Metode Difusi

Tes ini dikerjakan dengan menggunakan kertas saring yang mengandung bahan antimikroba yang telah ditentukan kadarnya. Cakram kemudian ditempatkan pada media padat yang telah diberi bakteri uji. Setelah diinkubasi, diameter area hambatan dihitung sebagai daya hambat obat terhadap bakteri uji.

Area hambatan yang terbentuk ditunjukkan sebagai daerah yang tidak memperlihatkan adanya pertumbuhan bakteri disekitar cakram kertas saring (Brooks *et al.*, 2013).

Cara untuk mengevaluasi hasil uji kepekaan tersebut apakah isolat mikroba sensitif atau resisten terhadap obat, dapat dilakukan dua cara seperti berikut ini:

- a. Cara Kirby Bauer, yaitu dengan membandingkan diameter area jernih (zona hambatan) di sekitar cakram dengan tabel standar yang dibuat oleh NCCLS (*National Commitee for Clinical Laboratory Standard*). Melalui tabel NCCLS ini dapat diketahui kriteria sensitif, sedang, atau resisten.
- b. Cara Joan-Stokes, yaitu dengan membandingkan radius zona hambatan yang terjadi antara bakteri kontrol yang sudah diketahui kepekaannya terhadap obat tersebut dengan isolat bakteri yang diuji. Menggunakan cara ini, prosedur uji kepekaan untuk bakteri kontrol dan bakteri uji bersama-sama dalam satu piring agar (Dzen *et al.*, 2003).

2.4 Tanaman Kumis Kucing (*Orthosiphon aristatus*)

2.4.1 Deskripsi Tanaman Kumis Kucing

Tanaman kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) merupakan salah satu tanaman obat yang sudah lama dikenal dan dimanfaatkan sebagai obat tradisional di dalam dan di luar negeri. Tanaman ini telah lama dikenal sebagai obat penyakit ginjal, arteriosclerosis, melancarkan pengeluaran air seni, radang kandung kemih, dan rematik (Keng *et al.*, 2006). Tanaman ini didistribusikan di seluruh Asia Tenggara dan Australia tropis. Tumbuhan ini terlihat mirip dengan

peppermint, tetapi tanaman ini lebih kering, asin, dan rasanya pahit (Bakti Husada, 2001). Tanaman ini memiliki taksonomi sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Sub Kelas	: Sympetaleae
Ordo	: Tubiflorae
Famili	: Labiatae (Lamiaceae)
Genus	: Orthosiphon
Species	: <i>Orthosiphon Aristatus</i> Miq (Mahendra dkk., 2005)

Tanaman ini memiliki beberapa sinonim nama latin, antara lain *Orthosiphon stamineus* Benth., *O. grandiflorum* auct. Non Terrac., *O. spicatus* auct. non Benth. Ada tiga varietas tanaman kumis kucing, yaitu varietas berbunga ungu, berbunga ungu muda, dan berbunga putih. Menurut Sumaryono, varietas berbunga putih (*Orthosiphon aristatus*) merupakan simplisia yang dianjurkan sebagai bahan baku, disamping itu varietas ini memiliki kandungan sinensetin yang lebih tinggi. Hal ini didukung oleh penelitian sebelumnya, didapatkan kandungan sinensetin yang tertinggi dari tanaman berbunga putih.

Tanaman ini berjenis akar tunggang. Batangnya berbentuk persegi empat agak beralur dan berwarna hijau keunguan. Daun berbentuk bulat telur, lonjong, berwarna hijau, panjang kurang dari 10 cm dan lebarnya 3 – 5 cm. Posisi daun pada batang berhadapan dengan tulang daun bercabang-cabang. Apikal daunnya mengerucut dengan pangkal daun tajam (Keng *et al.*, 2006).

Tanaman kumis kucing dapat dibudidayakan mulai dataran rendah sampai ketinggian 1200 m di atas permukaan air laut, akan tetapi ketinggian di atas 700 m di atas permukaan laut dapat menghambat pertumbuhan tanaman tersebut. Bagian tanaman yang sering digunakan sebagai obat adalah bagian herba (terutama daunnya), baik yang segar maupun yang telah dikeringkan (Herold, 2007).



Gambar 2.3: Tanaman Kumis Kucing varietas berbunga putih
Sumber: [internet]. Accessed on: 24 November 2014. Available from: <http://pics.davesgarden.com/pics/2001/10/01/Floridian/a320c0.jpg>

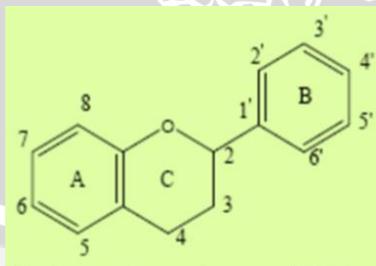
2.4.2 Kandungan Daun Kumis Kucing

Daun tanaman kumis kucing mengandung mineral hingga 12% dengan garam kalium sebagai komponen terbanyaknya (600-700 mg/ 100g daun segar), juga mengandung kurang lebih 0.2% flavonoid lipofilik, termasuk di dalamnya sinensetin dan flavonol glikosida. Kandungan lainnya antara lain saponin, orthosiphon glikosida, myo-inositol dan kandungan minyak atsiri yang mencapai 0.7% (Dzulkarnain dkk., 2000). Myo inositol juga memiliki peran, yaitu membantu diferensiasi jaringan, sedangkan minyak atsiri dapat mengganggu fungsi membran sel bakteri.

2.4.2.1 Flavonoid

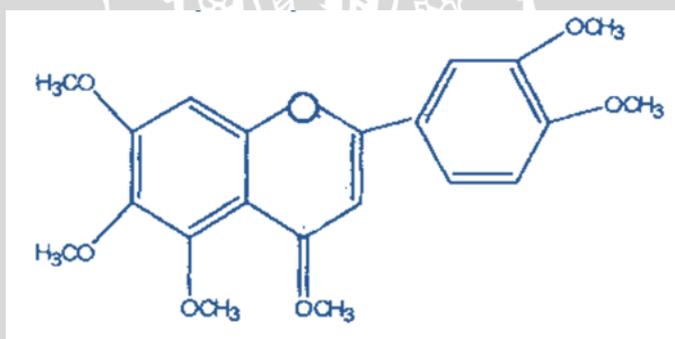
Senyawa-senyawa flavonoid adalah senyawa organik bahan alam yang bersifat larut air (hidrofilik) dan merupakan senyawa polifenol yaitu senyawa fenolik yang memiliki lebih dari satu gugus hidroksil. Flavonoid mempunyai 15 atom karbon, terdiri dari dua cincin benzena yang dihubungkan menjadi satu oleh rantai linier yang terdiri dari tiga atom karbon. Senyawa-senyawa flavonoid adalah senyawa 1,3 diaril propana, senyawa isoflavonoid adalah senyawa 1,2 diaril propana, sedangkan senyawa-senyawa neoflavonoid adalah 1,1 diaril propana (Lewis *et al.*, 2007).

Flavonoid merupakan senyawa fenol yang bersifat desinfektan yang bekerja dengan cara mendenaturasi protein yang dapat menyebabkan aktivitas metabolisme sel bakteri berhenti karena semua aktivitas metabolisme sel bakteri dikatalis oleh suatu enzim yang merupakan protein. Berhentinya aktivitas metabolisme ini akan mengakibatkan kematian sel bakteri (Rosilawati dkk., 2010). Flavonoid mampu membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler sehingga mengganggu integritas membran sel bakteri (Mutmainnah, 2012). Flavonoid juga mampu menghambat sintesis dinding sel bakteri (Rosilawati dkk., 2010).



Gambar 2.4: Struktur kimia dasar Flavonoid (Shimamura, 2006)

Turunan flavonoid dengan metilasi gugus hidroksil menghasilkan beberapa senyawa sebagai contoh senyawa sinensetin. Sinensetin merupakan senyawa hasil metabolisme sekunder. Senyawa yang disintesis makhluk hidup bukan untuk memenuhi kebutuhan dasar, melainkan untuk kebutuhan sekunder yakni mempertahankan eksistensinya dalam berinteraksi dengan ekosistem. Keberadaan senyawa sinensetin dapat dijadikan sebagai petunjuk adanya daun kumis kucing dalam suatu campuran, karena sinensetin merupakan senyawa yang paling stabil. Sinensetin merupakan senyawa aglikon flavonoid yang bersifat semipolar. Proses ekstraksinya dengan menggunakan proses maserasi dan pelarut methanol-air (Sofiani, 2003).



Gambar 2.5: Struktur kimia sinensetin (Sofiani, 2003)

2.4.2.2 Saponin

Saponin adalah senyawa aktif yang kuat dan menimbulkan busa jika digosok dalam air sehingga bersifat seperti sabun dan memiliki efek antibakteri. Saponin dapat meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri sehingga dapat mengubah struktur dan fungsi membran, menyebabkan denaturasi protein membran sehingga membran sel akan rusak dan lisis. Saponin memiliki molekul yang hidrofilik dan molekul yang

melarutkan lemak (lipofilik) sehingga dapat menurunkan tegangan permukaan sel yang akhirnya menyebabkan kehancuran bakteri (Sparg, 2004).

2.4.3 Peran Daun Kumis Kucing sebagai Antibakteri

Zat antibakteri adalah zat yang dapat mengganggu pertumbuhan atau metabolisme bakteri. Berdasarkan aktivitasnya zat antibakteri dibedakan menjadi dua jenis, yaitu yang memiliki aktivitas bakteriostatik (menghambat pertumbuhan bakteri) dan yang memiliki aktivitas bakterisidal (membunuh bakteri). Bakteriostatik memiliki kemampuan menghambat perkembangan bakteri. Perkembangbiakan akan berlangsung bila zat antibakteri telah tiada. Bakteriosidik memiliki sifat mematikan bakteri, bakteri tidak dapat pulih lagi, dimana bakteri yang sudah dimatikan tidak dapat berkembangbiak meskipun tidak terkena zat antimikroba (Pratiwi, 2008)

Banyak penelitian yang mengamati peran flavonoid sebagai antimikroba. Mekanisme flavonoid, khususnya isoflavon sebagai antimikroba adalah dengan cara menurunkan kekentalan membran membran sel di dalam dan luar sehingga fungsi membran sitoplasma terganggu serta menghambat metabolisme energi yang mengakibatkan terganggunya sintesis DNA, RNA, protein, dan dinding sel. Semua mekanisme tersebut mengakibatkan matinya bakteri-bakteri patogen (Lewis, 2007)

Beberapa peneliti (Chun-Hoong *et al*, 2010) melaporkan aktivitas antimikroba kumis kucing terhadap *Vibrio parahaemolyticus* dan *Streptococcus mutans*. Beberapa ekstrak yang berbeda dari daun ini diuji untuk kegiatan antimikroba terhadap bakteri secara *in vitro*. Seluruh daun kumis kucing dicoba dengan berbagai konsentrasi (0%, 25%, 50%, 75%, dan 100%) dari metanol. *Orthosiphon aristatus* diekstraksi dengan

50% metanol, 75% metanol dan fraksi 5 dari ekstrak metanol 50% menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap bakteri tersebut.

2.4.4 Ekstraksi

Ekstraksi adalah penarikan zat aktif yang diinginkan dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut tertentu yang dipilih dengan tujuan zat yang diinginkan dapat larut. Bahan mentah obat yang berasal dari tumbuh – tumbuhan atau hewan dikumpulkan, dibersihkan atau dicuci, dikeringkan dan dijadikan serbuk. Hasil dari ekstraksi disebut ekstrak. Ekstrak adalah sediaan kering, kental, atau cair dibuat dengan menyari *simplisia* nabati atau hewani menurut cara yang cocok, di luar pengaruh cahaya matahari langsung. Pemilihan terhadap metode ekstraksi disesuaikan dengan kepentingan dalam memperoleh sari yang baik (Haptiasari, 2009). Proses ekstraksi pada dasarnya dibedakan menjadi dua fase, yaitu fase pencucian dan fase ekstraksi. Fase pencucian adalah fase pertama, dimana sebagian bahan aktif berpindah ke dalam bahan pelarut. Semakin halus serbuk, maka semakin optimal jalannya proses pencucian. Fase ekstraksi merupakan fase dimana membran sel yang mengering dan menciut yang terdapat dalam ekstrak mula-mula harus diubah dalam suatu keadaan yang memungkinkan suatu perlintasan bahan pelarut ke dalam bagian dalam sel. Hal itu terjadi melalui pembengkakan yang kemudian terbentuk ruang antar sel, yang memungkinkan bahan ekstraksi mencapai ke dalam ruang sel secara osmose (Ansel, 2005).

Mengalirnya bahan pelarut ke dalam ruang sel menyebabkan protoplasma membengkak dan bahan kandungan sel akan terlarut sesuai dengan kelarutannya. Gaya yang bekerja adalah adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan cairan ekstraksi yang mula-mula masih tanpa bahan aktif yang mengelilinginya. Bahan kandungan sel akan mencapai ke dalam cairan di sebelah luar

selama difusi melintasi membran sampai terbentuknya keseimbangan konsentrasi antara larutan di sebelah dalam dan larutan di sebelah luar sel (Ansel, 2005)

Beberapa metode yang digunakan untuk ekstraksi dengan bahan pelarut adalah cara dingin dan cara panas (Sampurno, 2000).

2.4.4.1 Cara dingin

- Maserasi, yaitu proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan atau pengocokan pada suhu ruangan.
- Perkolasi, yaitu metode umum ekstraksi yang bubuk ujinya dikemas dalam perkolator, dan pelarut ditambahkan terus menerus supaya meresap melalui kemasan bubuk dan dikumpulkan.

2.4.4.2 Cara panas

- *Refluks*, yaitu proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut pada temperature titik didihnya, selama waktu tertentu, dan jumlah pelarut terbatas yang relative konstan dengan adanya pendinginan balik
- *Sohxlet*, yaitu menggunakan pelarut yang selalu baru yang dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi terus menerus dengan jumlah pelarut relative konstan dengan adanya pendinginan balik.
- *Digesti*, yaitu proses ekstraksi maserasi kinetik (pengadukan kontinu) pada suhu yang lebih tinggi dari suhu kamar umumnya pada suhu 40-50° C
- *Infus*, yaitu sediaan cair yang dibuat dengan mengekstraksi simplisia nabati dengan air pada temperatur 90° C selama 15-20 menit.

2.5 Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM)

Keefektifan antimikroba terhadap bakteri berhubungan dengan konsep KHM. KHM adalah konsentrasi antimikroba terendah yang bisa menghambat

pertumbuhan bakteri. KBM adalah konsentrasi antimikroba terendah yang bisa membunuh bakteri. Bakteri dikatakan mati apabila tidak tumbuh pada inokulasi ke dalam medium kultur yang secara normal mendukung pertumbuhannya.

KHM sangat penting dalam diagnosis laboratoris untuk mengkonfirmasi resistensi mikroorganisme terhadap bahan antimikroba dan juga untuk memonitor aktivitas bahan antimikroba baru. KHM biasanya berkenaan dengan pengukuran laboratoris dasar dari aktivitas bahan, antimikroba yang melawan mikroba (Brooks *et al.*, 2013).

