

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Karies

2.1.1 Definisi

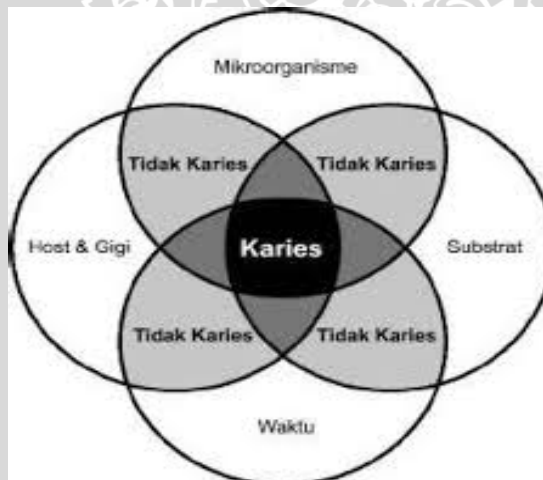
Karies adalah suatu penyakit jaringan keras gigi, yang terdiri dari email, dentin, dan sementum, yang disebabkan oleh aktivitas suatu jasad renik dalam suatu karbohidrat yang diragikan. Proses karies ditandai dengan terjadinya demineralisasi jaringan keras gigi yang kemudian diikuti oleh kerusakan bahan organik. Hal ini akan menyebabkan terjadinya invasi bakteri dan kerusakan bahan pada jaringan pulpa serta penyebaran infeksi ke jaringan periapikal dan menimbulkan rasa nyeri. Walaupun demikian, mengingat mungkin terjadi remineralisasi, pada stadium yang sangat dini penyakit ini dapat dihentikan (Kidd dan Bechal, 2012). Karies gigi merupakan penyakit jaringan gigi yang ditandai dengan kerusakan jaringan, dimulai dari permukaan gigi (ceruk, fisura, dan daerah interdental proksimal) meluas ke arah pulpa (Tarigan, 2013).



Gambar 2.1 Karies Gigi (Kidd dan Bechal, 2012).

2.1.2 Etiologi

Karies gigi adalah penyakit multifaktorial. Multifaktorial penyebab karies gigi yaitu agen (*agent*) atau mikroorganisme, substrat, tuan rumah (*host*) terdiri dari gigi dan saliva, waktu. Karies terjadi bukan disebabkan karena satu kejadian saja seperti penyakit menular lainnya, tetapi disebabkan oleh serangkaian proses yang terjadi selama beberapa kurun waktu. Beberapa jenis karbohidrat makanan misalnya sukrosa dan glukosa, dapat diragikan oleh bakteri tertentu dan membentuk asam sehingga pH plak akan turun sampai di bawah 5 dalam 1-3 menit. Proses terjadinya karies dimulai dengan adanya demineralisasi pada permukaan gigi akibat adanya penurunan pH yang berulang-ulang dalam waktu tertentu (Kidd dan Bechal, 2012).



Gambar 2.2. Empat faktor etiologi karies gigi (Kidd dan Bechal, 2012).

Berikut ini faktor-faktor penyebab karies adalah:

a. Faktor Agen atau Mikroorganisme

Plak gigi memegang peranan penting dalam menyebabkan terjadinya karies. Plak adalah suatu lapisan lunak yang terdiri atas kumpulan mikroorganisme yang berkembang biak di atas suatu matriks yang terbentuk dan melekat erat pada

permukaan gigi yang tidak dibersihkan. Plak mengandung bakteri yang hidup maupun mati, produk ekstraseluler bakteri dan komponen-komponen yang terdapat pada saliva (Samaranayake, 2007). Plak gigi terbentuk melalui serangkaian tahapan. Email pada gigi akan ditutupi oleh lapisan amorf yang disebut pelikel. Pelikel ini terdiri dari glikoprotein yang diendapkan dari saliva dan terbentuk segera setelah penyikatan gigi. Sifatnya sangat lengket dan mampu membantu melekatkan bakteri-bakteri tertentu pada permukaan gigi. Bakteri terbanyak yang mula-mula terdapat pada pelikel adalah bakteri berbentuk kokus gram positif, yaitu *Streptococcus*. Bakteri yang paling banyak dijumpai pada awal pembentukan plak ini adalah *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitis* dan *Streptococcus salivarius* serta beberapa strain lainnya (Pintauli dan Hamada, 2008). Organisme tersebut tumbuh, berkembang biak dan mengeluarkan gel ekstrasel yang lengket dan akan menjerat berbagai bentuk bakteri yang lain. Dalam beberapa hari plak ini akan bertambah tebal dan terdiri dari berbagai macam mikroorganisme. Akhirnya, flora plak yang awalnya didominasi oleh kokus berubah menjadi flora campuran yang terdiri atas kokus, batang dan filamen (Kidd dan Bechal, 2012).

b. Faktor Substrat

Faktor substrat atau diet dapat mempengaruhi pembentukan plak karena membantu perkembangbiakan dan kolonisasi mikroorganisme yang ada pada permukaan enamel. Selain itu, dapat mempengaruhi metabolisme bakteri dalam plak dengan menyediakan bahan-bahan yang diperlukan untuk memproduksi asam serta bahan aktif lainnya sehingga dapat menyebabkan timbulnya karies. Hasil penelitian menunjukkan bahwa orang yang banyak mengonsumsi karbohidrat terutama

sukrosa cenderung mengalami kerusakan pada gigi, sebaliknya pada orang dengan diet yang banyak mengandung lemak dan protein hanya sedikit atau sama sekali tidak mempunyai karies gigi. Hal ini penting untuk menunjukkan bahwa karbohidrat memegang peranan penting dalam terjadinya karies (Pintauli dan Hamada, 2008).

c. Faktor Host (Gigi dan Saliva)

Ada beberapa faktor yang dihubungkan dengan gigi sebagai tuan rumah terhadap karies yaitu faktor morfologi gigi (ukuran dan bentuk gigi), struktur enamel, faktor kimia dan kristalografis. *Pit* dan *fissure* pada gigi posterior sangat rentan terhadap karies karena sisa-sisa makanan mudah menumpuk di daerah tersebut terutama *pit* dan *fissure* yang dalam. Selain itu, permukaan gigi yang kasar juga dapat menyebabkan plak mudah melekat dan membantu perkembangan karies gigi (Samaranayake, 2007). Enamel merupakan jaringan tubuh dengan susunan kimia kompleks yang mengandung 97% mineral (kalsium, fosfat, karbonat, fluor), air 1% dan bahan organik 2% (Kidd dan Bechal, 2012). Bagian luar enamel mengalami mineralisasi yang lebih sempurna dan mengandung banyak flour, fosfat dan sedikit karbonat dan air. Kepadatan kristal enamel sangat menentukan kelarutan enamel. Semakin banyak enamel mengandung mineral maka kristal enamel semakin padat dan enamel akan semakin resisten (Pintauli dan Hamada, 2008).

d. Faktor Waktu

Secara umum, karies dianggap sebagai penyakit kronis pada manusia yang berkembang dalam waktu beberapa bulan atau tahun. Hal tersebut dikarenakan kemampuan saliva untuk mendepositkan kembali mineral selama berlangsungnya

proses karies, menandakan bahwa proses karies tersebut terdiri atas periode perusakan dan perbaikan yang silih berganti (Kidd dan Bechal, 2012).

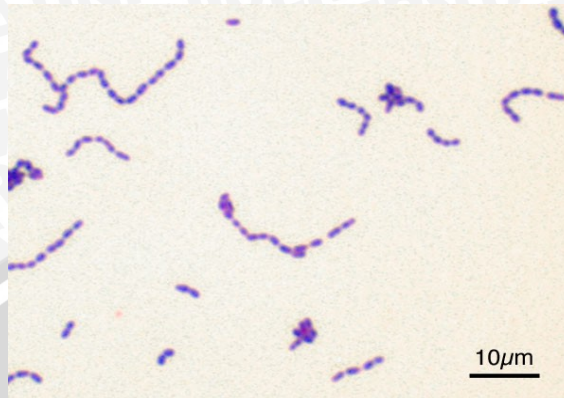
2.2 *Streptococcus mutans*

Streptococcus mutans merupakan bakteri yang sering ditemukan pada rongga mulut manusia dan menjadi bakteri yang paling kondusif menyebabkan karies gigi (Kidd dan Bechal, 2012). Berdasarkan struktur antigen pada dinding sel bakterinya maka *Streptococcus mutans* yang telah ditemukan lokasinya terlihat tumbuh dan berkembang pada manusia. *Streptococcus mutans* menghasilkan glukukan dari sukrosa, yang memfasilitasi adhesi awal mikroorganisme pada permukaan gigi sebagai sumber makanan dan matriks untuk pertumbuhan plak selanjutnya (Sarmanayake, 2007).

2.2.1 Taksonomi

Menurut Samaranayake (2007), taksonomi bakteri *Streptococcus mutans* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Monera
Divisio	: Firmicutes
Class	: Bacilus
Order	: Lactobacilalles
Family	: Streptococcaeae
Genus	: Streptococcus
Species	: Streptococcus mutans



Gambar 2.3 Bakteri *Streptococcus mutans*

Keterangan: Gram Staining, Perbesaran 1.000x

([http://commons.wikimedia.org/wiki/File: Streptococcus_mutans_Gram.jpg](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Streptococcus_mutans_Gram.jpg)).

2.2.2 Morfologi

Mikroba ini pertama kali ditemukan oleh Clarke pada tahun 1924. Clarke (1924) memberi nama *Streptococcus* karena morfologinya yang bervariasi. Nama *mutans* adalah hasil dari transisi dari bentuk kokus ke kokobaktil. Sehingga *Streptococcus mutans* merupakan kumpulan dari sel-sel berbentuk bulat atau oval yang tersusun seperti rantai atau berpasang-pasangan (Handaya, 2008). *Streptococcus mutans* merupakan bakteri gram positif, bakteri anaerob fakultatif karena dapat tumbuh dengan atau tanpa adanya oksigen. Biasanya pertumbuhan optimal terjadi pada keadaan anaerob yang mengandung gas nitrogen, 5% CO₂. Memiliki bentuk kokus yang sendirian berbentuk bulat atau bulat telur dan tersusun dalam rantai. Bakteri ini tumbuh secara optimal pada suhu sekitar 37°C. *Streptococcus mutans* biasanya ditemukan pada rongga mulut manusia dan menjadi bakteri yang paling kondusif menyebabkan karies untuk email gigi. Berwarna opak, berdiameter 0,5-1 mm, permukaannya kasar (hanya 7% yang licin dan bersifat mukoid). Beberapa koloni *Streptococcus mutans* menunjukkan hemolisis pada

media agar darah. Keadaan ini disebabkan karena bakteri ini membuat hemolisis yang menyebabkan pemecahan eritrosit disekitar koloni (Devijanti, 2005).

2.2.3 Karakteristik

Streptococcus mutans bersifat non motil (tidak bergerak), selain itu juga bersifat asidogenik karena dapat menghasilkan asam dari makanan yang mengandung karbohidrat dan juga bersifat asidurik karena mampu bertahan dan berkembang biak dalam suasana asam hingga pH 4,5. Bakteri ini juga dapat menghasilkan suatu polisakarida yang lengket yang disebut dengan dekstran. Oleh karena kemampuan ini, *Streptococcus mutans* bisa menyebabkan lengket dan mendukung bakteri lain menuju ke email gigi, menjadikan suasana asam sehingga melarutkan email gigi (Jawetz, 2005).

2.2.4 Peranan Bakteri Pada Proses Karies

Penyakit yang disebabkan oleh *Streptococcus mutans* adalah karies gigi, beberapa hal yang menyebabkan karies gigi bertambah parah adalah seperti sukrosa, saliva, dan juga bakteri pembusuknya. Setelah memakan sesuatu yang mengandung gula terutama adalah sukrosa, bahkan setelah beberapa menit penyikatan gigi dilakukan, glikoprotein yang lengket (kombinasi molekul protein dan karbohidrat) bertahan pada gigi untuk mulai pembentukan plak pada gigi. Pada waktu yang bersamaan berjuta-juta bakteri yang dikenal sebagai *Streptococcus mutans* juga bertahan pada glikoprotein itu. Walaupun banyak bakteri lain yang juga melekat, hanya *Streptococcus mutans* yang dapat menyebabkan rongga atau lubang pada gigi (Pintauli dan Hamada, 2008).

Pada langkah selanjutnya, bakteri menggunakan fruktosa dalam suatu metabolisme glikolisis untuk memperoleh energi. Dan hasil akhir dari glikolisis di bawah kondisi anaerob adalah asam laktat. Asam laktat ini menciptakan kadar keasaman yang ekstra untuk menurunkan pH pada jumlah tertentu sehingga dapat menghancurkan zat kapur fosfat di dalam email gigi, pada kondisi beginilah yang nantinya akan mendorong ke arah pembentukan rongga atau lubang pada email gigi. Tidak seperti bakteri *oral* yang lain, *Streptococcus mutans* berkembang dalam keadaan asam dan menjadi bakteri yang dominan seiring menurunnya pH. Selain itu metabolisme *Streptococcus mutans* ini juga meningkat dalam pH rendah, dimana hal ini berhubungan dengan sistem transportasi proton yang digunakan untuk memindahkan nutrisi melalui dinding sel pada lingkungan pH rendah atau konsentrasi gula tinggi dimodulasi oleh ion hidrogen. Dengan cara ini, *Streptococcus mutans* dapat terus menurunkan pH di dalam mulut sehingga meningkatkan derajat keasaman yang tinggi, menciptakan keadaan yang disukai untuk proses metabolismenya namun tidak disukai oleh bakteri lain (Simon, 2007).

2.3 Pare (*Momordica charantia* L.)

2.3.1 Taksonomi

Menurut (Subahar *et al.*, 2004), taksonomi pare (*Momordica charantia* L.) adalah sebagai berikut:

Kingdom : *Plantae*
Divisi : *Spermatophyta*
Subdivisi : *Angiospermae*

Kelas : *Dicotyledonae*
Ordo : *Cucurbitales*
Familia : *Cucurbitaceae*
Genus : *Momordica*
Species : *Momordica charantia* Linn



Gambar 2.4 Daun Pare (Dokumen Pribadi, UPT Materia Medica Kota Batu)

2.3.2 Morfologi

Tanaman pare (*Momordica charantia* L.) merupakan jenis tanaman tropis semak semusim yang tumbuh menjalar atau merambat dengan menggunakan sulur yang panjang dan hidup didataran rendah. Tanaman semusim berumur hanya setahun, perambat dengan sulur tumbuh disamping daun yang sering membentuk spiral membelit kuat untuk merambat. Pare mudah tumbuh dan tidak memerlukan banyak sinar matahari, sehingga dapat tumbuh subur di tempat yang teduh dan terlindung dari sinar matahari. Tanaman ini memiliki aroma atau bau langu yang khas. Akarnya berupa akar tunggang berwarna putih. Mempunyai banyak cabang, batangnya segi lima. Struktur batang pare tidak berkayu. Batang tegaknya berusuk lima dan berwarna hijau. Batang mudanya berambut dan akan menghilang setelah tua (Subahar *et al.*, 2004).

Pare berdaun tunggal, berjajar diantara batang berselang-seling, bentuknya bulat panjang, dengan panjang daun 3,5 - 8,5 cm, lebar daun 4 cm, berbagi menjari 5 - 7, pangkal berbentuk jantung. Daun pare berbulu, dan berlekuk. Susunan tulang daunnya menjari. Tangkai daun tumbuh dari ketiak daun. Panjang tangkai daunnya mencapai 7 - 12 cm. Daunnya berwarna hijau tua dibagian permukaan atas dan permukaan bawahnya berwarna hijau muda atau kekuningan. Letak daun pare berseling dengan panjang tangkai 1,5 - 5,3 cm (Subahar *et al.*, 2004).

Bunga pare tumbuh dari ketiak daun dan berwarna kuning menyala. Bunga pare terdiri dari bunga jantan dan bunga betina yang berduri tempel, halus, dan berambut. Kelopak bunga berbentuk lonceng dan berusuk banyak, panjang tangkai bunga jantan mencapai 2 - 5,5 cm, sedangkan tangkai bunga betina panjangnya 1 - 10 cm (Subahar *et al.*, 2004).

Buah pare berasal dari bunga pare betina yang telah mengalami proses penyerbukan. Buah ini berbentuk bulat memanjang dengan permukaan berbintil-bintil dan berasa pahit. Bagian buah yang matang berwarna jingga. Daging buahnya tebal dan di dalamnya terdapat biji yang banyak. Biji pare berbentuk bulat putih dan permukaannya tidak rata. Biji pare keras karena memiliki kulit yang tebal dengan warna coklat kekuning-kuningan. Biji-biji ini dapat digunakan sebagai alat perbanyakan tanaman pare secara generatif (Subahar *et al.*, 2004).

2.3.3 Nama Daerah

Wilayah penyebaran pare yang sangat luas menyebabkan tanaman ini dikenal dengan berbagai nama daerah. Masyarakat Jawa menyebut tanaman ini dengan nama pare. Berbeda dengan masyarakat Batak, Bugis, Bima, Makasar, dan

Sunda yang menyebutnya paria. Dibeberapa wilayah di Sumatera, pare dikenal dengan nama prieu, paria, folia, dan kembeh. Nama lainnya adalah papare (Jakarta); pepareh (Madura); paya (Bali); prien (Gayo); popare (Manado); papare, papalia (Maluku); paya, pariak (Nusa Tenggara); dan foria (Nias) (Subahar *et al.*, 2004).

2.3.4 Asal dan Letak Geografis

Pare bukan tanaman asli Indonesia. Tanaman ini diperkirakan berasal dari Asia tropis, terutama Myanmar dan India bagian barat, tepatnya di Assam. Tanaman ini juga ditemukan di Nepal, Sri Lanka, Cina, dan dibeberapa Negara Asia Tenggara, termasuk Indonesia. Namun, belum ada data secara rinci kapan tanaman ini masuk ke Indonesia. Secara umum, pare banyak tumbuh didaerah tropis, termasuk di wilayah Amazon, Afrika, Asia, dan Karibia. Tanaman pare ini ada yang liar dan ada juga yang dibudidayakan. Salah satu sumber sejarah yang paling awal tentang budidaya pare ditemukan dalam uraian yang bertulis oleh Li (1578). Li menjelaskan bahwa pare telah dibudidayakan di Cina bagian selatan pada abad ke-16. Menurut William dan NG peneliti asal Vietnam, jenis tanaman pare yang dibudidayakan diwilayah Cina tersebut sama dengan yang dibudidayakan di Indonesia. Di Jepang pare juga telah lama dikenal terutama oleh penduduk Okinawa. Sementara itu, penduduk wilayah Amazon sudah banyak yang menanam pare di pekarangan rumahnya (Subahar *et al.*, 2004).

2.3.5 Kandungan Kimia

Hasil dari uji fitokimia daun pare menunjukkan adanya kandungan kimia seperti momordisin, karotonoid, vitamin A, B, C, flavonoid, saponin, triterpenoid, dan alkaloid (Subahar *et al.*, 2004).

Senyawa Kimia	Hasil Uji Fitokimia
Flavonoid	+
Saponin	+
Tannin	-
Kuionon	-
Triterpenoid	+
Alkaloid	+
Polifenolat	-
Steroid	-
Monoterpen	-
Seskuiterpen	-

Tabel 2.1. Uji fitokimia ekstrak daun pare (Azhari, 2015).

2.3.5.1 Flavonoid

Senyawa flavonoid yang dapat diidentifikasi dalam ekstrak daun pare adalah kuersetin. Kuersetin merupakan senyawa kelompok flavonoid terbesar dengan jumlah sekitar 60 - 75% yang berfungsi sebagai antibakteri, antitusif, dan antiinflamasi (Zhou *et al.*, 2003). Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Flavonoid ditemukan dalam tumbuhan sebagai zat berwarna kuning (Bakti, 2001). Flavonoid berperan sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri (Ajizah, 2004; Akiyama, 2001). Para peneliti lain juga menyatakan pendapat sehubungan dengan mekanisme kerja dari flavonoid dalam menghambat pertumbuhan bakteri, antara lain bahwa flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri (Sabir, 2005).

2.3.5.2 Saponin

Saponin dapat ditemukan pada daun tanaman pare. Saponin telah diketahui memiliki aktivitas sebagai antibakteri, antitumor, antivirus, kekebalan tubuh, antikanker, menurunkan kadar kolesterol dan antioksidan (Astuti et al, 2011)

Saponin bekerja sebagai antibakteri dengan mengganggu permeabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan sel bakteri lisis. Saponin menurunkan permeabilitas membran sel, mengakibatkan kerusakan membran sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukelat dan nukleotida (Darsana *dkk.*, 2012).

2.3.5.3 Triterpenoid

Triterpenoid adalah senyawa metabolisme sekunder yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan (unit) isoprene dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C₃₀ asiklik, yaitu skualena. Lebih dari 4000 jenis triterpenoid telah diisolasi dengan lebih dari 40 jenis kerangka dasar yang sudah dikenal dan pada prinsipnya merupakan proses siklisasi dari skualen. Senyawa ini tidak berwarna, berbentuk kristal, bertitik leleh tinggi dan bersifat optis aktif (Widiyati, 2005).

Mekanisme antibakteri senyawa triterpenoid umumnya terjadi melalui pengerusakan membran sel bakteri karena sifat senyawa triterpenoid cenderung lipofilik. Kerusakan membran sel dapat terjadi ketika senyawa aktif antibakteri bereaksi dengan sisi aktif dari membran atau dengan melarutkan konstituen lipid dan meningkatkan permeabilitas. Membran sel bakteri terdiri dari fosfolipid dan molekul protein. Berakibat peningkatan permeabilitas, senyawa antibakteri dapat masuk ke

dalam sel. Ketika di dalam sel, senyawa tersebut dapat melisis membran sel atau mengkoagulasi sitoplasma dari sel bakteri tersebut (Widiyati, 2005).

2.3.5.4 Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa-senyawa organik yang sering terdapat dalam tanaman, bersifat basa dan struktur kimianya memiliki sistem lingkaran heterosiklis dengan nitrogen sebagai hetero atomnya (Sumardjo, 2009). Alkaloid termasuk golongan zat tumbuhan sekunder yang terbesar. Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri yang mekanismenya diduga dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Darsana dkk., 2012).

2.4 Antibakteri

Antibakteri adalah senyawa kimia yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri. Bahan antibakteri yang baik adalah bahan yang efektif dalam membunuh bakteri tetapi tidak mengiritasi jaringan sekitarnya (Newman *et al.*, 2001). Antibakteri terdiri dari dua macam berdasarkan sifatnya yaitu antiseptik dan desinfektan. Antiseptik merupakan bahan yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) sedangkan desinfektan tidak hanya dapat menghambat pertumbuhan bakteri tetapi juga dapat membunuh bakteri dengan cara menghancurkan dinding selnya (bakteriosidik) (Katzung, 2011). Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri dikenal sebagai kadar hambat minimal (KHM) sedangkan kadar minimal yang diperlukan untuk membunuh bakteri

dikenal sebagai kadar bunuh minimal (KBM). Antibakteri tertentu dapat meningkatkan efektivitasnya dari bakteriostatik menjadi bakteriosidik bila kadar antibakterinya ditingkatkan melebihi KHM (Jawetz *et al.*, 2005).

2.4.1 Mekanisme Kerja Antibakteri

Mekanisme kerja antibakteri dalam menghambat dan membunuh bakteri dapat dikelompokkan dalam lima kelompok yaitu:

a. Menghambat Metabolisme Sel Bakteri

Bakteri membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya. Berbeda dengan mamalia yang mendapatkan asam folat dari luar, bakteri harus mensintesis sendiri asam folat dari asam amino benzoat (PABA) untuk kebutuhan hidupnya. Analog asam folat yang non fungsional dapat terbentuk ketika suatu agen antibakteri dapat membentuk asam folat yang biasanya dibentuk oleh PABA, akibatnya kehidupan bakteri tersebut dapat terganggu (Jawetz *et al.*, 2005).

b. Menghambat Sintesis Dinding Sel Bakteri

Dinding sel bakteri, terdiri dari petidoglikan yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Antibakteri dapat menghambat sintesa dinding sel bakteri yaitu dengan menghambat pembentukan peptidoglikan, ketika aktivitas antibakteri menyebabkan tekanan osmotik dalam sel bakteri lebih tinggi daripada di luar sel maka terjadilah kerusakan dinding sel bakteri yang pada akhirnya menyebabkan terjadinya lisis (Jawetz *et al.*, 2005).

c. Mengganggu Keutuhan Membran Sel Bakteri

Senyawa antibakteri dapat menyerang membran sitoplasma dan mempengaruhi integritasnya (Pelczar dan Chan, 2005). Kerusakan pada membran

sitoplasma mengakibatkan peningkatan permeabilitas dan terjadi kebocoran sel yang diikuti dengan keluarnya materi intraseluler seperti protein, asam nukleat, nukleotida, dan lain-lain (Jawetz *et al.*, 2005).

d. Menghambat Sintesis Protein Sel Bakteri

Sel bakteri perlu mensintesis sebagai protein untuk bertahan hidup. Sintesis protein berlangsung di ribosom, dengan bantuan mRNA dan tRNA. Pada bakteri, ribosom terdiri atas dua sub unit yang berdasarkan konstanta sedimentasi dinyatakan sebagai ribosom 30S dan 50S. Kedua komponen ini perlu bersatu pada pangkal rantai mRNA menjadi ribosom 30S agar berfungsi pada sintesis protein. Penghambatan sintesis protein terjadi dengan berbagai cara. Senyawa antibakteri mampu menghambat sintesis protein bakteri yaitu senyawa tersebut dapat berikatan dengan komponen sel ribosom 30S yang menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA pada waktu sintesis protein, akibatnya akan terbentuk protein yang abnormal dan nonfungsional bagi sel bakteri (Jawetz *et al.*, 2005).

e. Menghambat Sintesis Asam Nukleat Sel Bakteri

Senyawa antibakteri ini akan berikatan dengan enzim polymerase-RNA sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut. Senyawa antibakteri ini juga menghambat enzim DNA girase yang fungsinya menata kromosom yang sangat panjang menjadi bentuk spiral hingga bisa muat dalam sel bakteri yang kecil (Jawetz *et al.*, 2005).

2.5 Metode Ekstraksi Bahan Alam

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Sebelum ekstraksi dilakukan, bahan-bahan dikeringkan terlebih dahulu kemudian dihaluskan. Beberapa metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut yaitu (Ditjen POM, 2000):

2.5.1 Cara Dingin

a. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstraksian sederhana dengan cara merendam sampel dalam pelarut selama waktu tertentu dan dilakukan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu kamar, sehingga sampel menjadi lunak dan larut. Jumlah pelarut yang dipakai tergantung pada banyaknya sampel. Pelarut akan menembus di dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif yang akan larut, karena adanya perbedaan konsentrasi larutan zat aktif di dalam sel dan di luar sel maka larutan terpekat di desak keluar. Proses ini berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di dalam dan di luar sel. Pelarut yang digunakan dapat berupa air, etanol, metanol, etanol-air atau pelarut lainnya (Ditjen POM, 2000).

Keuntungan cara ekstraksi dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Kerugiannya adalah pengerjaannya lama dan ekstraksi kurang sempurna (Ditjen POM, 2000).

b. Perkolasi

Perkolasi adalah proses pengekstraksian dengan melewati pelarut yang sesuai secara lambat pada sampel dalam suatu perkolator. Cara ini lebih sempurna

dari maserasi. Zat berkhasiat yang rusak atau tidak rusak dengan pemanasan dapat tertarik seluruhnya, tetapi dibutuhkan pelarut yang lebih banyak. Perkolasi menggunakan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada suhu ruangan. Prosesnya terdiri dari tahap pengembangan bahan, maserasi antara, perkolasi sebenarnya (penetesan/ penampungan ekstrak) secara terus menerus sampai diperoleh ekstrak yang jumlahnya satu sampai lima kali volume bahan (Ditjen POM, 2000).

2.5.2 Cara Panas

a. Refluks

Refluks merupakan ekstraksi dengan pelarut yang dilakukan pada titik didih pelarut tersebut, selama waktu tertentu dan sejumlah pelarut tertentu dengan adanya pendingin balik (kondensor). Umumnya dilakukan tiga sampai lima kali pengulangan proses pada residu pertama, sehingga termasuk proses ekstraksi sempurna (Ditjen POM, 2000).

b. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengaduk kontinyu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50° Celcius (Ditjen POM, 2000).

c. Sokletasi

Sokletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut sangat sedikit dan terus menerus diperbarui, umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi konstan dengan adanya pendingin balik (kondensor) (Ditjen POM, 2000).

d. Infusum

Infusum adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur 90° Celcius selama 15 menit (Ditjen POM, 2000).

e. Dekok

Dekok adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur 90° Celcius selama 30 menit (Ditjen POM, 2000).

2.6 Uji Kepekaan Bakteri

Uji kepekaan bakteri terhadap obat-obatan secara *in vitro* bertujuan untuk mengetahui obat antibakteri yang masih dapat digunakan untuk mengatasi infeksi oleh bakteri tersebut. Uji kepekaan terhadap obat antibakteri pada dasarnya dapat dilakukan melalui dua cara (Dzen *dkk.*, 2003), yaitu:

2.6.1 Metode Dilusi

Terdapat dua macam metode dilusi yaitu:

a. Metode Dilusi Tabung

Cara ini digunakan untuk menentukan KHM (Kadar Hambat Minimal) dan KBM (Kadar Bunuh Minimal) dari suatu ekstrak. Prinsip dari metode ini adalah dengan menggunakan satu seri tabung reaksi dan sejumlah sel bakteri yang diuji, kemudian masing-masing tabung diisi obat yang telah diencerkan secara serial, selanjutnya seri tabung diinkubasi pada suhu 37° Celcius 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 bakteri) adalah KHM dari ekstrak tersebut. Biakan dari semua tabung

yang jernih diinokulasikan pada media agar padat, diinkubasikan dan keesokan harinya diamati ada tidaknya koloni mikroba yang tumbuh. Konsentrasi terendah ekstrak pada biakan padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni adalah KBM dari suatu ekstrak terhadap bakteri uji (Dzen dkk., 2003).

b. Metode Dilusi Agar

Metode dilusi agar (*agar dilution test*) dapat digunakan untuk mengukur Kadar Hambat Minimal (KHM) namun tidak dapat mengukur Kadar Bunuh Minimal (KBM). Pada metode ini beberapa konsentrasi agen mikroba dicampur dengan *plate agar*, satu *plate* untuk masing-masing konsentrasi yang diuji. Isolat bakteri diinokulasikan ke dalam *nutrient broth* dan diinkubasi selama 18-24 jam sampai terjadi kekeruhan. Kekeruhan distandarisasi dengan *Mc Farland* 0,5 (1×10^6 CFU/ml), kemudian diambil sejumlah 0,001 ml dan ditetaskan pada permukaan agar dengan menggunakan mikropipet. Setelah diinkubasi semalam dilihat pertumbuhan koloni bakteri pada permukaan agar. Kadar Hambat Minimal (KHM) ditandai dengan tidak terdapatnya pertumbuhan bakteri pada media agar padat yang telah tercampur bahan antibakteri yang telah diberi bakteri uji tersebut (Mahon *et al.*, 2011).

2.6.2 Metode Difusi

Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan. Metode difusi menurut Kusmiyati dan Ni Wayan Sri Agustini (2007), terdiri dari 3 cara yaitu:

a. Metode Difusi Silinder

Metode difusi silinder dilakukan dengan cara meletakkan beberapa silinder yang terbuat dari gelas atau besi tahan karat di atas media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri. Masing-masing silinder ditempatkan sedemikian rupa

hingga berdiri di atas media agar, diisi dengan larutan yang akan diuji dan diinkubasi. Setelah diinkubasi diamati pertumbuhan bakteri untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling silinder (Kusmiyati dan Agustini, 2007).

b. Metode Difusi Sumuran

Metode difusi sumuran dilakukan dengan cara membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diisi dengan larutan yang akan diuji. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling lubang (Kusmiyati dan Agustini, 2007).

c. Metode Difusi Cakram Kertas

Metode cakram kertas atau sering disebut sebagai uji Kirby-Bauer, digunakan untuk mengetahui kemampuan sebuah antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Metode cakram kertas dilakukan dengan cara meletakkan cakram kertas yang telah direndam larutan uji di atas media padat yang telah diinokulasi dengan bakteri, setelah diinkubasi pada suhu 37° Celcius selama 18-24 jam (Dzen dkk, 2003). Pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling cakram. Metode ini adalah metode yang paling luas digunakan (Brooks *et al.*, 2007).