

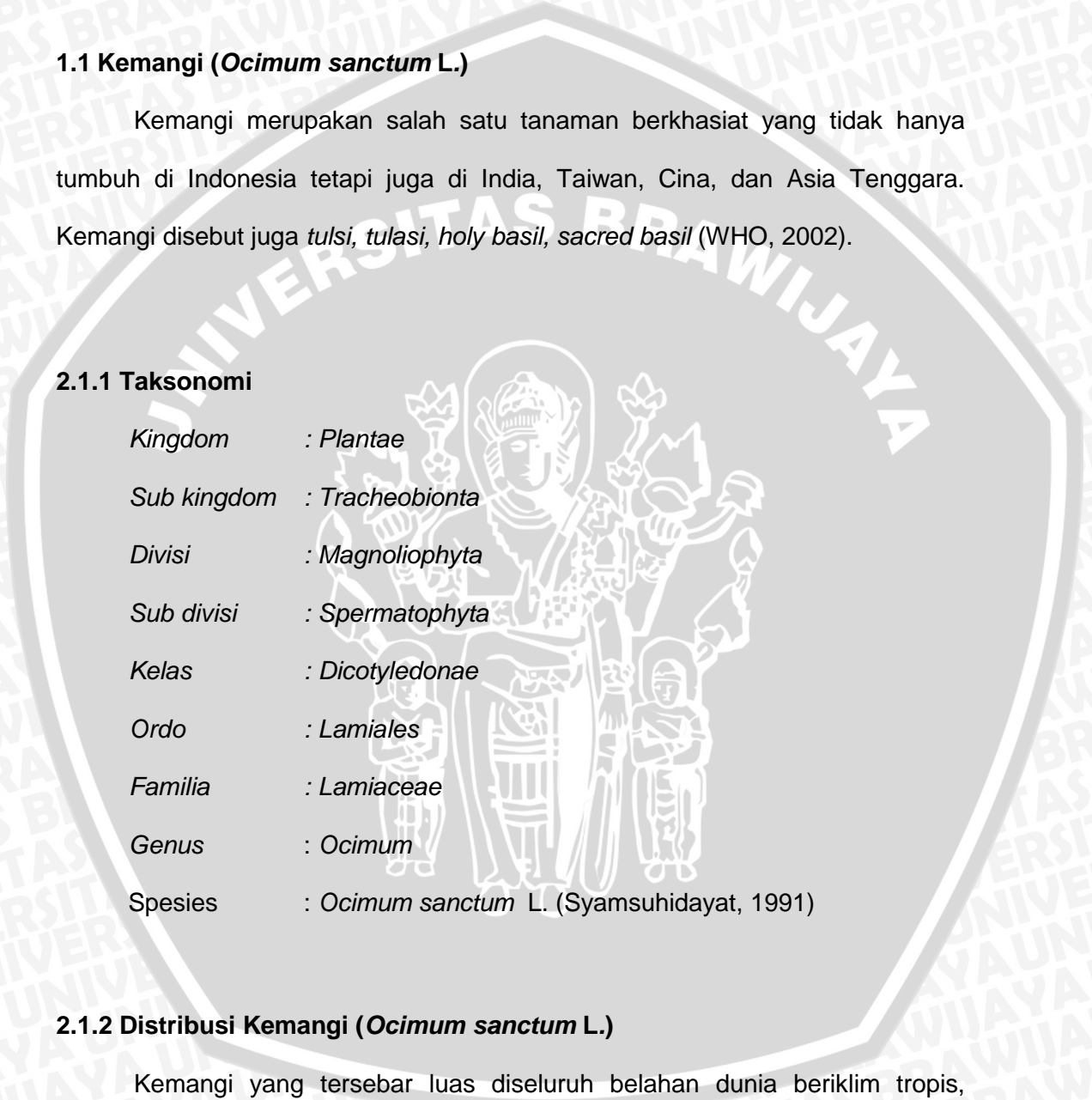
## BAB II

## TINJAUAN PUSTAKA

1.1 Kemangi (*Ocimum sanctum* L.)

Kemangi merupakan salah satu tanaman berkhasiat yang tidak hanya tumbuh di Indonesia tetapi juga di India, Taiwan, Cina, dan Asia Tenggara. Kemangi disebut juga *tulsi*, *tulasi*, *holy basil*, *sacred basil* (WHO, 2002).

## 2.1.1 Taksonomi



Kingdom	: Plantae
Sub kingdom	: Tracheobionta
Divisi	: Magnoliophyta
Sub divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Lamiales
Familia	: Lamiaceae
Genus	: <i>Ocimum</i>
Spesies	: <i>Ocimum sanctum</i> L. (Syamsuhidayat, 1991)

2.1.2 Distribusi Kemangi (*Ocimum sanctum* L.)

Kemangi yang tersebar luas diseluruh belahan dunia beriklim tropis, seperti di benua Eropa, daerah Mediterania, Asia Pasifik, Amerika Selatan dan utara, Timur Tengah, Australia. Kemangi diduga berasal dari India dan kemudian menyebar ke benua Eropa pada abad ke 16 (Kardinan, 2003).

### 2.1.3 Nama Daerah

Tanaman kemangi di Indonesia dikenal juga dengan nama kemangi hutan, selasih atau telasih. Masyarakat Jawa Barat (sunda) mengenal kemangi dengan nama surawung. Masyarakat Sumatera mengenal kemangi dengan nama daun ruku-ruku (Kardinan, 2003).

### 2.1.4 Kegunaan

Kemangi dikenal sebagai makanan fungsional yang lezat sekaligus berkhasiat obat oleh masyarakat Indonesia. Sebagai bahan makanan, orang Indonesia sering menggunakan daunnya untuk lalapan dan bumbu penyedap pemberi aroma karena selain berbau khas juga kaya akan provitamin A. Bijinya khas, seperti telur katak, sering digunakan untuk campuran dalam es buah (Kardinan, 2003). Selain itu biji kemangi juga digunakan untuk mengatasi sembelit, kencing nanah, penyakit mata, borok, penenang, pencahar, peluruh air kencing, peluruh keringat, dan kejang perut (Sudarsono dkk., 2002).

Akar digunakan untuk mengobati penyakit kulit. Semua bagian tanaman digunakan sebagai pewangi, obat perangsang, disentri, dan demam (Sudarsono dkk., 2002)

### 2.1.5 Ciri-ciri Umum

Kemangi merupakan tanaman herba semusim yang tumbuh menegak. Kemangi mempunyai batang basah berbentuk persegi dengan tinggi 0,5-1,5 m, berwarna hijau hingga keunguan, bercabang, dan berbulu, namun tidak berkayu (Kardinan, 2003). Daun tunggal, berhadapan, dan tersusun dari bawah ke atas.

Panjang tangkai daun 0,25-3 cm dengan setiap helaian daun yang berbentuk bulat telur sampai elips, memanjang, dan ujung meruncing atau tumpul (Gambar 2.1). Pangkal daun pasak sampai membulat, di kedua permukaan berambut halus, tepi daun bergerigi lemah, bergelombang, atau rata (Sudarsono dkk., 2002).

Bunga kemangi tersusun pada tangkai bunga berbentuk menegak. Bunganya jenis hemafrodit, berwarna putih dan berbau sedikit wangi (Kardinan, 2003; Sudarsono dkk., 2002). Bentuk dan penampilan kemangi sering berubah-ubah khususnya warna daunnya. Terdapat 50-60 jenis kemangi di dunia. Perubahan bentuk ini belum jelas sebabnya, mungkin karena pengaruh tanah atau iklim (Kardinan, 2003).



Gambar 2.1. Daun kemangi (Sudarsono dkk., 2002)

Buah berbentuk kotak, berwarna coklat tua, tegak, dan tertekan dengan ujung membentuk kait melingkar, panjang kelopak buah 6-9 mm. Biji berukuran kecil, bertipe keras, coklat tua, dan waktu diambil segera membengkak. Tiap buah terdiri dari empat biji. Akar tunggang dan berwarna putih kotor (Sudarsono dkk., 2002).



### 2.1.6 Deskripsi Daun Kemangi

Makroskopis: helaian daun bentuk lonjong, memanjang, bundar, telur, atau bundar telur memanjang, ujung runcing, pangkal daun runcing atau tumpul sampai membulat, tulang-tulang daun menyirip, tepi bergerigi dangkal atau rata dan bergelombang, daging daun tipis, permukaan berambut halus, panjang daun 2,5 cm - 7,5 cm, lebar 1 cm – 2,5 cm, tangkai daun berpenampang bundar, panjang 1 cm – 2 cm, dan berambut halus (Depkes RI, 1995).

Mikroskopis: pada penampang daun melintang melalui tulang daun tampak epidermis atas terdiri dari satu lapis sel kecil, bentuk empat persegi panjang, warna jernih, dinding tipis, kutikula tipis dan licin. Pada pengamatan tangensial berbentuk poligonal, berdinding lurus atau agak berkelok-kelok. Epidermis bawah terdiri dari satu lapis sel kecil bentuk empat persegi panjang, warna jernih, dinding tipis, kutikula tipis dan licin. Rambut penutup, bengkok, terdiri dari satu sel tangkai dan 2-4 sel kepala, bentuk bundar, tipe *Laminaceae*. Jaringan palisade terdiri dari selapis sel berbentuk silindris panjang dan berisi banyak butir klorofil. Jaringan bunga karang, dinding samping lurus atau agak berkelok tipis, mengandung butir klorofil. Berkas pembuluh tipe kolateral terdapat jaringan penguat yaitu kolenkim. Stomata tipe diasitik pada epidermis atas dan bawah (Depkes RI, 1995).

### 2.1.7 Kandungan Bahan Aktif Daun Kemangi

Tanaman kemangi mengandung minyak atsiri (*methilen alkohol, sineol, eugenol, linalool, nerol, thymol*), *karvakrol, asam ursolat, asam askorbat, kampene, betakarotin, tannin, terpineool, xilose, aldehida, alkaloida, flavonoida, asam-asam lemak (linoleat, linolenat, oleat, palmitat, dan asam stearat)*,

*glikosida*, mineral-mineral, *pentosa*, *fenol*, *saponin*, *arginine*, dan *boron* (Mangoting, dkk., 2006; Mardiana, 2007).

Beberapa zat aktif dalam kemangi (*Ocimum sanctum* L.) yang memiliki aktifitas antimikroba antara lain:

- *Eugenol*

*Eugenol* merupakan salah satu turunan *fenol* yang dapat berikatan dengan protein melalui ikatan *hidrogen*. Hal ini dapat menyebabkan denaturasi protein. Sebagian besar struktur dinding sel dan membran sitoplasma bakteri mengandung protein dan lemak. Struktur protein yang rusak menyebabkan ketidakstabilan pada dinding sel dan membran sitoplasma bakteri. Fungsi permeabilitas selektif, fungsi pengangkutan aktif, pengendalian susunan protein dari sel bakteri menjadi terganggu. Gangguan integritas sitoplasma berakibat pada lolosnya makromolekul dan ion dari sel. Sel bakteri menjadi kehilangan bentuk, dan terjadilah lisis (Sipes dan Mattia, 2004).

- *Flavonoid*

Flavonoid mempunyai aktivitas antibakteri karena flavonoid mempunyai kemampuan berinteraksi dengan DNA bakteri. Hasil interaksi tersebut menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom dan lisosom (Sabir, 2003).

- *Saponin*

*Saponin* termasuk golongan terpenoid. *Saponin* menyebabkan destruksi membran. Pada studi laboratorium, *saponin* dengan kadar 0,04%-0,2% dapat merusak permeabilitas membran plasma begitu juga membran interna dari organelle-organelle seperti *reticulum endoplasmic* dan *apparatus golgi*, tetapi tidak dapat menembus membran inti. *Saponin* merusak integritas dinding sel



melalui gugus lipofiliknya. Pertama, melalui interaksinya dengan gugus lipid pada membran luar dan lipopolisakarida pada dinding sel dan yang kedua, dengan penetrasi langsung dinding sel bakteri Gram negatif yang lebih rapuh (Scalbert, 1991).

- *Tanin*

Tanin yang juga merupakan senyawa fenol bekerja dengan cara menghambat pertumbuhan bakteri dengan mengadakan denaturasi protein dan menurunkan tegangan permukaan, sehingga permeabilitas bakteri meningkat. Kerusakan dan peningkatan permeabilitas sel bakteri menyebabkan pertumbuhan sel terhambat dan akhirnya dapat menyebabkan kematian sel (Makkar, 1993).

### 2.1.8 Uji Toksisitas Kemangi

Toksikologi merupakan disiplin ilmu yang mempelajari sifat-sifat racun zat kimia terhadap makhluk hidup dan lingkungan. Setiap zat kimia pada dasarnya bersifat racun, tetapi setiap keracunan ditentukan oleh banyak faktor terutama dosis. Setiap zat kimia yang akan digunakan harus diuji toksisitas dan keamanannya. Setiap zat kimia, bila diberikan dengan dosis yang cukup besar akan menimbulkan gejala-gejala toksik (Rice, 2004).

Untuk mengetahui sifat toksisitas ini pertama-tama harus ditentukan pada hewan coba melalui penelitian toksisitas akut dan subkronik. Selanjutnya, perlu ditentukan NEL (*No Effect Level*) yaitu jumlah atau konsentrasi suatu zat kimia yang ditemukan melalui penelitian atau observasi, yang tidak menimbulkan kelainan buruk, perubahan morfologi atau fungsi organ, pertumbuhan, perkembangan, maupun menguragi lama hidup hewan coba. Selanjutnya,

ditentukan pula ADI (*Acceptable Daily Intake*) yaitu dosis suatu zat kimia yang terbesar, yang dinyatakan dalam satuan mg/kgBB/hari, yang dapat diberikan setiap hari seumur hidup, dan diperkirakan tidak menimbulkan efek kesehatan yang buruk pada manusia, berdasarkan pengetahuan yang ada pada waktu itu (Departemen Farmakologi dan Terapeutik, 2007). Manfaat lain dari pengukuran toksisitas dalam berbagai bidang adalah dapat digunakan sebagai skrining ekstrak tumbuhan untuk kepentingan pengobatan, menentukan pertahanan anti-herbivora pada tumbuhan, menilai potensi dan efek bahaya dari pestisida baru, menilai toksisitas yang mungkin ditimbulkan oleh sumber polusi (Rice, 2004).

*Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) adalah salah satu metode skrining untuk menentukan sifat toksik suatu senyawa atau ekstrak secara akut dengan menggunakan hewan coba *Artemia salina*. Metode ini merupakan metode uji hayati yang sederhana, cepat, murah, dan dapat dipercaya. Daya toksisitas suatu senyawa dapat diketahui dengan menghitung jumlah kematian larva *Artemia salina* dengan parameter *lethal concentration 50* (LC<sub>50</sub>). Suatu ekstrak dinyatakan bersifat toksik menurut metode BST ini jika memiliki LC<sub>50</sub> kurang dari 1000 µg/ml (Firdayani, 2003).

Pengujian terhadap ekstrak etanol daun kemangi menunjukkan harga LC<sub>50</sub> sebesar 5901,815 µg/ml, sehingga dapat dikatakan ekstrak etanol daun kemangi tidak memiliki potensi toksisitas menurut metode BST (Hendrawati, 2009).

## 2.2 *Streptococcus mutans*

*Streptococcus mutans* merupakan bakteri patogen penyebab utama karies gigi. Organisme ini pertama kali diisolasi oleh Clarke pada tahun 1924

yang berasal dari plak gigi. Nama mutans dipilih karena kecenderungan morfologi sel berbentuk kokus dan batang (Beena, 2010).

### 2.2.1 Taksonomi

Kingdom : Monera

Division : Firmicutes

Class : Bacilli

Ordo : Lactobacilales

Family : Streptococcaceae

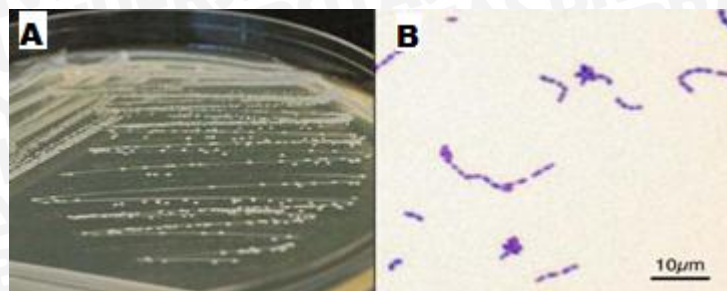
Genus : Streptococcus

Species : *Streptococcus mutans* (Samaranayake, 2006)

### 2.2.2 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 (Gambar 2.2). Bakteri ini tumbuh secara optimal pada suhu sekitar 18°-40°C. *Streptococcus mutans* biasanya ditemukan pada rongga gigi manusia yang luka dan menjadi bakteri yang paling kondusif menyebabkan karies untuk email gigi (Cindananti, 2010).





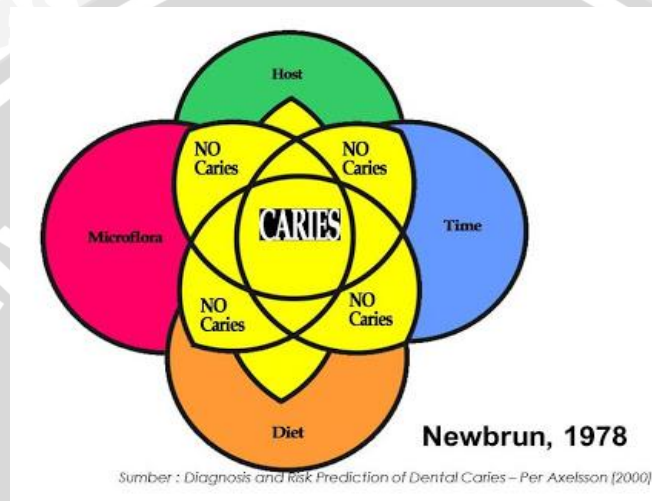
Gambar 2.2. (A) Koloni *Streptococcus mutans* secara makroskopis pada media Agar dan (B) *Streptococcus mutans* Gram positif secara mikroskopis melalui mikroskop (Maria and Liao, 2011)

### 2.2.3 Peran *Streptococcus mutans* dalam karies gigi

Salah satu penyakit yang disebabkan oleh *Streptococcus mutans* adalah karies gigi. Karies gigi disebabkan oleh multifaktor, yaitu *plaque*, mikroorganisme, *host*, dan waktu (Gambar 2.3). Karies terjadi jika keempat faktor tersebut bereaksi bersama. Setelah mengonsumsi sesuatu yang mengandung gula, terutama adalah *sukrosa*, dan bahkan setelah beberapa menit penyikatan gigi dilakukan, *glikoprotein* yang lengket bertahan pada gigi untuk mulai pembentukan plak pada gigi (Gambar 2.4) (Cindananti, 2010). Bakteri menggunakan *fruktosa* dalam suatu metabolisme glikolisis untuk memperoleh energi. Hasil akhirnya dari glikolisis dibawah kondisi-kondisi anaerob adalah asam laktat, asam laktat ini menciptakan kadar keasaman yang ekstra untuk menurunkan pH dengan jumlah tertentu sehingga terjadi penghancuran zat kapur fosfat di dalam email gigi yang mendorong kearah pembentukan suatu rongga atau lubang (Nugraha, 2008).

*Streptococcus mutans* memiliki beberapa kemampuan yang dapat menyebabkan terjadinya karies gigi, yaitu: kemampuan berikatan dengan permukaan gigi dan pembentukan plak, memproduksi glukon dan polisakarida lainnya yang dihasilkan dari karbohidrat sehingga mendukung terjadinya

akumulasi plak, dan menghasilkan asam yang menyebabkan pH menjadi rendah sehingga dapat mendukung pertumbuhan organisme lain yang mampu hidup di lingkungan asam (Nugraha, 2008).



Gambar 2.3. Multifaktor penyebab karies (Samaranayake, 2006)

#### 2.2.4 Sifat

*Streptococcus mutans* termasuk kelompok *Streptococcus viridans* yang merupakan anggota flora normal rongga mulut yang memiliki sifat *a hemolitik*. Berdasarkan sifat hemolitiknya pada lempeng agar darah, bakteri ini membentuk warna kehijau-hijauan dan hemolisis sebagian ini di sekeliling koloninya, bila disimpan dalam peti es zona yang paling luar akan berubah menjadi tidak berwarna (Nugraha, 2008).

*Streptococcus mutans* merupakan agen utama dari formasi biofilm, dan dari formasi biofilm tersebut dapat pula menjadi sarana bakteri melekat pada gigi di mulut. *Streptococcus mutans* juga merupakan bakteri yang dominan di dalam lesi karies dan melekat pada permukaan gigi. Bakteri ini memiliki sifat asidogenik



(menghasilkan asam) dan asidurik (dapat hidup dalam lingkungan yang asam) karakteristik tersebut dapat dikaitkan dengan proses terjadinya karies pada gigi (Nugraha, 2008).

### 2.2.5 Metabolisme *Streptococcus mutans*

Secara umum *Streptococcus mutans* dikenal karena kemampuannya untuk mensintesis polisakarida ekstraselular dari sukrosa, mengalami agregasi sel ke sel ketika bercampur dengan sukrosa atau dekstran, dapat berkembang dalam lingkungan yang mengandung antibiotik *sulfadumetin* dan *bakitrasin* (Calvin, 2008).

*Sukrosa* adalah satu-satunya jenis gula yang dimanfaatkan *Streptococcus mutans* untuk membentuk pelikel. Sebaliknya banyak jenis gula, seperti *glukosa*, *fruktosa*, *laktosa*, dan *sukrosa* dapat dicerna untuk menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir (Calvin, 2008).

Enzim yang sama melanjutkan untuk menambahkan banyak molekul glukosa ke satu sama lain untuk membentuk dextran yang mana memiliki struktur sangat mirip dengan *amylase* dalam tajin. Dextran yang bersama dengan bakteri melekat dengan erat pada gigi enamel dan menuju ke pembentuk plak pada gigi (Nugraha, 2008).

Pada langkah selanjutnya, bakteri menggunakan fruktosa dalam suatu metabolisme glikolisis untuk memperoleh energi. Hasil akhir dari glikolisis dibawah kondisi-kondisi anaerob adalah asam laktat. Asam laktat ini menciptakan kadar keasaman yang ekstrak untuk menurunkan pH yang sejumlah tertentu menghancurkan zat kapur fosfat di dalam email gigi mendorong kearah pembentukan suatu rongga atau lubang (Handaya, 2008).



Kedua hal yaitu membentuk lapisan dasar kompleks biofilm yang disebut plak gigi dan hasil akhir glikolisis dibawah kondisi anaerob yang membentuk asam laktat yang akan mengarah ke pembentukan karies gigi (Handaya, 2008).

### 2.2.6 Antigen dan Dinding Sel

Dinding sel dari bakteri *Streptococcus mutans* merupakan salah satu faktor terjadinya perlekatan bakteri pada lapisan pelikel yang dihasilkan saliva pada gigi. Protein dinding sel bakteri *Streptococcus mutans* tersusun atas 3 molekul utama yaitu dengan berat molekul 185, 59, 29 kDa. Protein kDa mempunyai fungsi perlekatan pada sel inang. Protein 59 kDa berfungsi dalam inisiasi kolonisasi pada *Streptococcus mutans*, sedangkan protein 29 kDa berfungsi dalam mendukung fungsi agregasi (Samaranayake, 2006).

### 2.2.7 Pembenihan *Streptococcus mutans*

Pembuatan media kultur bakteri dilakukan dengan cara memasukan koloni dari *Streptococcus mutans* yang sudah dipilih ke dalam tabung yang berisi cairan *Brain Heart Infussion Broth* (BHI) lalu didiamkan dalam *anaerobic jar* selama 3x24 jam pada suhu 37°C (Handaya, 2008).

### 2.2.8 Karies

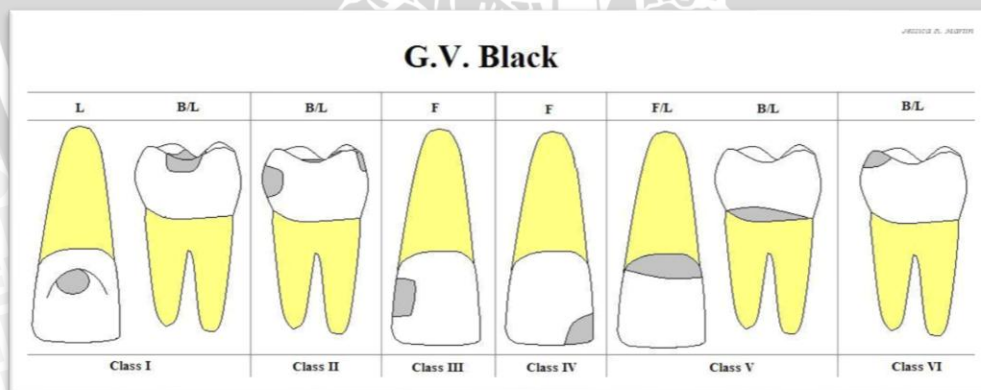
Karies merupakan kerusakan jaringan gigi yang terlokalisir akibat fermentasi karbohidrat oleh bakteri (Samaranayake, 2006).

## 2.2.9 Klasifikasi Karies

### 2.3.2.1 Menurut G.V. Black (Heasman, 2008)

G.V Black mengklasifikasikan lesi karies menurut lokasi (Gambar 2.4), yaitu sebagai berikut:

- Class I : karies di *pit* dan *fissure*, terutama di permukaan *oklusal* gigi *molar* atau *premolar*, walaupun bisa di *buccal fissure* atau *palatal fissure*
- Class II : karies di permukaan *proksimal* gigi *molar* atau *premolar*
- Class III : karies di permukaan *proksimal* gigi *incisor* atau *canine*
- Class IV : karies di permukaan *proksimal* gigi *incisor* atau *canine* yang meluas ke *iscisal edge*
- Class V : kavitas terdapat pada permukaan *cervical* gigi
- Class VI : merupakan tambahan terhadap klasifikasi yang asli, merupakan keausan ujung *occlusal cusp* atau *iscisal cups*



Gambar 2.4 Klasifikasi G.V. Black

### 2.3.2.2 Menurut Mount and Hume (Chaudhary and Chaudhary, 2012)

Karies menurut Mount and Hume diklasifikasikan berdasarkan *site and size* (Tabel 2.1). *Site* ditentukan berdasarkan lokasi lesi sedangkan *size* dinilai berdasarkan perkembangan lesi.

Tabel 2.1 Klasifikasi karies menurut Mount and Hume

Site	Size			
	1	2	3	4
1	1.1	1.2	1.3	1.4
2	2.1	2.2	2.3	2.4
3	3.1	3.2	3.3	3.4

Keterangan

*Site:*

1 = *Pit dan fissure*

2 = permukaan *proximal*

3 = *cervical area*

*Size:*

1 = *Minimum*

2 = *Moderate*

3 = *Enlarge*

4 = *Ekstensif*

#### Site pada lesi karies

- *Site 1* = kerusakan *pits, fissures*, dan enamel di permukaan *occlusal* gigi posterior atau di permukaan lain yang halus, seperti di *pit singulum* pada gigi anterior
- *Site 2* = kerusakan enamel *approximal* di bawah daerah titik kontak dengan gigi sebelahnya
- *Site 3* = kerusakan sepertiga *cervical* mahkota atau mengikuti *resesi gingiva*, akar gigi terlihat secara klinis



### Size pada lesi karies

- Size 1 = keterlibatan *minimum* (sedikit) dentin. Perawatannya dengan *remineralisasi* oleh gigi itu sendiri
- Size 2 = keterlibatan *moderate* (sedang) dentin. Sisa enamel setelah *cavity preparation* masih kuat, didukung dengan baik oleh dentin, dan tidak akan rusak karena beban *occlusal* yang normal, sehingga struktur gigi yang tersisa cukup kuat untuk mendukung *restorasi*
- Size 3 = *cavity enlarge* (meluas) dan sisa struktur gigi melemah. *Cusps* atau *incisal edges* retak, atau mungkin akan rusak karena beban *occlusal* atau *incisal*. *Cavity* perlu diperluas (*enlarged*) lebih jauh, sehingga *restorasinya* bisa di desain untuk mendukung dan melindungi sisa struktur gigi
- Size 4 = karies *extensive* (luas) dengan banyak kehilangan struktur gigi

### 2.2.10 Prevalensi karies

Karies gigi merupakan infeksi yang sering dijumpai dan menimbulkan masalah bagi kesehatan gigi dan mulut. Menurut hasil analisis Riset Kesehatan Dasar Indonesia tahun 2013 menunjukkan adanya peningkatan jumlah kerusakan gigi seiring dengan bertambahnya usia yaitu pada kelompok usia 35-44 tahun DMF-T (*Decay Missing Filling Teeth*) rata-rata 5,4% sedangkan kelompok usia >65 tahun sebesar 18,9%. Keadaan tersebut dapat disebabkan karena kebersihan mulut yang buruk. Hal ini dapat dilihat dari penduduk kelompok usia 35-44 yang menyikat gigi dengan benar (sesudah makan pagi dan sebelum tidur malam) 2,4% sedangkan kelompok usia >65 tahun hanya 1,9%.

### 2.2.11 Etiologi

Pada tahun 1960-an oleh Keyes dan Jordan menyatakan bahwa karies merupakan suatu penyakit multifaktorial yaitu adanya beberapa faktor yang menjadi penyebab terbentuknya karies (Pintauli, 2008). Ada 4 faktor utama yang memegang peranan yaitu faktor *host*, mikroorganisme, substrat dan waktu (Nugraha, 2008).

#### 1. *Host*

Enamel merupakan jaringan keras gigi dengan susunan kimia kompleks yang mengandung 97% mineral (*kalsium, fosfat, karbonat, fluor*), air 1% dan bahan organik 2% (protein). Lapisan luar enamel mengalami mineralisasi yang lebih sempurna dan mengandung banyak *fluor, fosfat*, sedikit *karbonat* dan air. Kepadatan kristal enamel sangat menentukan kelarutan enamel. Semakin banyak enamel yang mengandung mineral maka kristal enamel akan menjadi padat dan enamel semakin resisten. Gigi desidui lebih mudah terserang karies dibandingkan dengan gigi permanen karena enamel gigi desidui mengandung lebih banyak bahan organik dan air sedangkan jumlahnya lebih sedikit daripada gigi permanen (Pintauli, 2008).

#### 2. Mikroorganisme

Berbagai spesies bakteri yang berkoloni di dalam rongga mulut untuk menghasilkan asam sehingga terjadi proses demineralisasi pada jaringan keras gigi. Salah satu spesies bakteri yang dominan di dalam mulut yaitu *Streptococcus mutans*. Beberapa penelitian sebelumnya membuktikan adanya korelasi positif antara jumlah bakteri *Streptococcus mutans* pada plak gigi dengan prevalensi karies gigi (Sabir, 2005). *Streptococcus*



*mutans* sangat *acidogenic* dan *aciduric*. *Streptococcus mutans* menurunkan pH *plaque* hingga di bawah 5,5 sehingga menginisiasi demineralisasi enamel. Bakteri *cariogenic* mampu memetabolisme gula menjadi asam (*acidogenic*), hidup dan tumbuh dalam kondisi pH rendah (*aciduric*), serta mampu mensintesis polisakarida intra dan ekstraseluler (Samaranayake, 2006).

### 3. Substrat

Faktor substrat dapat mempengaruhi pembentukan plak karena membantu perkembangbiakan dan kolonisasi mikroorganisme yang ada pada permukaan enamel (Pintauli, 2008). Karbohidrat terdiri dari *sukrosa*, *glukosa* dan *fruktosa*. Frekuensi makan gula lebih berpengaruh daripada jumlah gula yang dikonsumsi. Gula yang paling *cariogenic* adalah *sukrosa*. *Sukrosa* mudah larut dan berdifusi ke *plaque* gigi. *Sukrosa* bertindak sebagai substrat untuk produksi polisakarida ekstraseluler dan asam. *Streptococcus cariogenic* menghasilkan *glucan* yang tidak larut air dari *sukrosa*. *Glucan* berfungsi memfasilitasi adhesi awal organisme ke permukaan gigi, juga sebagai sumber nutrisi dan matriks untuk pembentukan *plaque* lebih lanjut. *Polyol carbohydrate* dan *sugar alcohols* (misalnya *xylitol*) dengan *cariogenicity* yang rendah telah diproduksi dan dikenal sebagai pengganti gula dalam bentuk permen karet (Samaranayake, 2006).

### 4. Waktu

Secara umum karies dianggap sebagai penyakit kronis pada manusia yang berkembang dalam waktu beberapa bulan atau tahun. Lamanya



waktu yang dibutuhkan karies untuk berkembang menjadi suatu kavitas cukup bervariasi diperkirakan 6-48 bulan (Pintauli, 2008).

### 2.2.12 Pencegahan karies

Dasar-dasar pencegahan karies adalah modifikasi satu atau lebih dari tiga faktor utama penyebab karies. Mengingat karies membutuhkan waktu bulanan sampai tahunan untuk menghancurkan gigi, maka pasienlah yang bisa mengendalikan faktor waktu ini. Secara teori, ada 3 cara mencegah karies (Pickard, 2002):

1. Hilangkan substrat karbohidrat

Penghilangan gula secara total dari diet sehari-hari tidak perlu dilakukan dalam pencegahan karies. Upaya yang relatif sederhana seperti mengurangi frekuensi konsumsi gula dengan membatasi konsumsi gula hanya pada waktu makan.

2. Tingkatkan ketahanan pejamu

Email dan dentin yang terbuka dapat menjadi lebih tahan terhadap karies dengan pemakaian *fluor*. Ceruk dan *fisur* yang dalam dapat dibuat resisten dengan menutup atau menambalnya dengan resin penutup *fisur*.

3. Hilangkan bakteri plak

Secara teoritis permukaan gigi yang bebas plak tidak akan menjadi karies. Tetapi penghilangan total plak secara teratur bukanlah pekerjaan mudah. Tidak semua kuman dalam plak mampu meragikan gula sehingga tidaklah mungkin untuk mencegah karies dengan jalan mengurangi kuman yang kariogeniknya saja.

Pencegahan karies menurut Samaranayake (2006):

1. Penggantian gula

Menghentikan atau mengurangi konsumsi karbohidrat dalam bentuk camilan, atau menggantinya dengan pemanis buatan *non cariogenic*.

2. *Fluoridation*

*Fluoride* berfungsi untuk meningkatkan kekerasan enamel, sehingga struktur gigi menjadi kurang larut terhadap serangan asam. Bila diberikan secara sistemik selama masa kanak-kanak *fluoride* akan berguna untuk *amelogenesis*. Penggunaan *fluoride* yang paling baik adalah sebagai air minum (pada konsentrasi 1 ppm). Tablet dan topikal aplikasi gel *fluoride* atau pasta gigi *fluoride* dapat digunakan jika penggunaan air tidak efektif. Ion *fluoride* memiliki efek *anticariogenic* dengan cara:

- a. Mengganti kelompok *hidroksil* dalam *hydroxyapatite* dan membentuk *fluoroapatite*, yang kurang larut dalam asam selama *amelogenesis*
- b. Remineralisasi lesi karies dini di enamel dan dentin
- c. Memodulasi metabolisme plaque dengan cara mengganggu permeabilitas membran bakteri, mengurangi glikolisis, menghambat sintesis polisakarida intraseluler terutama glikogen

3. *Pit dan fissure sealant*

*Sealant* berfungsi untuk melindungi daerah gigi yang rentan karies (misalnya *pit* dan *fissure*). Daerah tersebut sulit dijaga kebersihannya dari plaque walaupun sudah dilakukan tindakan *oral hygiene* secara rutin. *Sealant* bekerja dengan cara menghilangkan daerah stagnasi dan memblokir rute potensial infeksi.

#### 4. Kontrol bakteri *cariogenic*

Kontrol bakteri perlu dilakukan sehingga walaupun terdapat sukrosa, produksi asam akan minimum. Beberapa hal yang dapat dilakukan adalah sebagai berikut:

##### a. Pembersihan secara mekanik

Menyikat gigi secara konvensional dengan pasta gigi yang mengandung *fluoride* adalah hal yang sering dilakukan. Namun hal tersebut tidak begitu berhasil dalam mengurangi insiden karies karena tergantung pada motivasi dan keterampilan pasien, sehingga perlu ditambahkan *flossing* dan penggunaan sikat gigi interdental.

##### b. Menggunakan agen antimikroba

*Chlorhexidine* merupakan antiseptik dan disinfektan yang mempunyai efek bakterisidal dan bakteriostatik terhadap bakteri Gram (+) dan Gram (-) termasuk bakteri aerob, anaerob, bakteri raji dan fungi (Kidd, 1992). *Chlorhexidine* 0,2% sebagai obat kumur adalah antimikroba yang efektif untuk kontrol *plaque* bakteri. *Chlorhexidine* mengganggu membran sel, permeabilitas dinding sel bakteri, dan perlekatan bakteri ke gigi sehingga mengurangi tingkat akumulasi *plaque*.

Penggunaan *chlorhexidine* memberikan beberapa efek samping. Efek samping *chlorhexidine* yaitu timbulnya *stain* pada gigi, lidah, dan *margin restorasi* yang disebabkan oleh interaksi *chlorhexidine* dengan makanan yang dikonsumsi. *Chlorhexidine* juga dapat memberikan rasa pahit untuk beberapa menit sampai jam tergantung pada tiap individual, dapat menyebabkan ulser pada individu intoleran, serta penggunaan yang berkisar 2 tahun akan menurunkan sensitivitas bakteri (Kidd, 1992).



## 2.3 Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan kering, kental, atau cair dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok di luar pengaruh cahaya matahari langsung (Ansel, 1989). Simplisia yang disari mengandung zat aktif yang dapat larut dan zat aktif yang tidak larut seperti serat karbohidrat, protein dan lain-lain (Haptiasari, 2009). Senyawa aktif yang terkandung dalam simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan *alkaloid*, *flavonoid*, dan lain-lain (Kurniawati, 2008). Ada beberapa metode ekstraksi yang umum dan biasa digunakan yaitu:

### 2.3.1 Ekstraksi dengan Menggunakan Pelarut

#### 2.3.1.1 Cara Dingin

##### 2.3.1.1.1 Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur kamar. Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya (Depkes RI, 2000).

##### 2.3.1.1.2 Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Prosesnya terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahapan maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetasan/ penampungan

ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan (Depkes RI, 2000).

### **2.3.1.2 Cara Panas**

#### **2.3.1.2.1 Soxhletasi**

Soxhletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstrak kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Keuntungan penyarian dengan alat soxhlet adalah (Haptiasari, 2009):

- a. Cairan penyari yang diperlukan lebih sedikit dan secara langsung diperoleh hasil yang lebih pekat.
- b. Serbuk simplisia disari oleh cairan penyari yang selalu baru, sehingga dapat menarik zat aktif yang lebih banyak.
- c. Penyarian dapat diteruskan sesuai dengan keperluan, tanpa menambah volume cairan penyari.

Kerugian penyarian dengan alat soxhlet adalah (Haptiasari, 2009):

- a. Cairan penyari dipanaskan terus menerus, sehingga zat aktif yang tidak tahan pemanasan kurang cocok disari dengan cara ini.
- b. Cairan penyari dididihkan terus menerus, sehingga cairan yang baik harus murni.



#### 2.3.1.2.2 Digestasi

Digestasi adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur kamar, yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40°-50°C (Depkes RI, 2000).

#### 2.3.1.2.3 Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air 96°-98°C (bejana infus tercelup dengan penangas air mendidih selama 15-20 menit) (Depkes RI, 2000).

#### 2.3.1.2.4 Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu sampai 3-5 kali sehingga proses ekstraksi sempurna (Depkes RI, 2000).

#### 2.3.1.2.5 Dekoktasi

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama ( $\geq 30^{\circ}\text{C}$ ) dan temperatur sampai titik didih air (Depkes RI, 2000).

#### 2.3.2 Destilasi Uap

Destilasi uap adalah ekstraksi senyawa kandungan menguap (minyak atsiri) dari bahan (simplisia) dengan uap air berdasarkan peristiwa tekanan

parsial senyawa kandungan menguap dengan fase uap air dari kental secara kontinu sampai sempurna dan diakhiri dengan kondensasi fase uap campuran (senyawa kandungan menguap ikut terdestilasi) menjadi destilat air bersama senyawa kandungan yang memisah sempurna atau memisah sebagian (Kurniawati, 2008).

## 2.4 Metode Pengujian Aktivitas Antimikroba

Uji aktivitas antibakteri mempunyai tujuan mengukur aktivitas daya antibakteri dari suatu senyawa kimia terhadap bakteri dan menentukan konsentrasi suatu antibakteri terhadap cairan tubuh atau jaringan. Uji aktivitas antibakteri untuk menentukan kepekaan suatu bakteri patogen (Odianti, 2010). Metode yang dapat dilakukan adalah sebagai berikut:

### 2.4.1 Metode Difusi

#### 2.4.1.1 Metode *Disk Diffusion* (Metode *Kirby Bauer*)

Metode *Disk Diffusion* (Metode *Kirby Bauer*) untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Piringan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media agar (Pratiwi, 2008). Beberapa koloni kuman dari pertumbuhan 24 jam diambil, disuspensikan ke dalam 0,5 ml *Brain Heart Infusion* (BHI) cair, diinkubasikan 5-8 jam pada 37°C. Suspensi ditambah aquades steril hingga kekeruhan tertentu sesuai dengan standar Brown dengan konsentrasi bakteri  $10^8$  CFU/ml. Kapas lidi steril



dicelupkan ke dalam suspensi bakteri lalu ditekan-tekan pada dinding tabung hingga kapasnya tidak terlalu basah, kemudian dioleskan pada permukaan media agar hingga rata. Kertas samir (disk) yang mengandung antibakteri diletakkan di atasnya, diinkubasi pada 37°C selama 18-24 jam, hasilnya dibaca (Putri, 2010):

- a. **Zona radikal** yaitu suatu daerah disekitar disk dimana sama sekali tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri. Potensi antibakteri diukur dengan mengukur diameter dari zona radikal.
- b. **Zona irradikal** yaitu suatu daerah di sekitar disk dimana pertumbuhan bakteri dihambat oleh antibakteri tetapi tidak dimatikan.

#### 2.4.1.2 *Cup-plate technique* / Cara Sumuran

Metode ini serupa dengan metode *disk diffusion*, dimana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antimikroba yang diuji (Pratiwi, 2008). Beberapa koloni kuman dari pertumbuhan 24 jam diambil, disuspensikan ke dalam 0,5 ml *Brain Heart Infusion* (BHI) cair, diinkubasi pada 37°C selama 5-8 jam. Suspensi ditambah aquades steril hingga kekeruhan tertentu sesuai dengan standar konsentrasi bakteri 10<sup>8</sup>CFU/ml. Kapas lidi steril dicelupkan ke dalam suspensi bakteri lalu ditekan-tekan pada dinding tabung hingga kapasnya tidak terlalu basah, kemudian dioleskan pada permukaan media agar hingga rata. Media agar dibuat sumuran dengan garis tengah tertentu, larutan antibakteri diteteskan ke dalam sumuran, diinkubasi pada 37°C selama 18-24 jam. Hasilnya dibaca seperti *Kirby Bauer* (Putri, 2010).

#### 2.4.1.3 Cara *Pour Plate*

Beberapa koloni kuman dari pertumbuhan 24 jam diambil, disuspensikan ke dalam 0,5 ml *Brain Heart Infusion* (BHI) cair, diinkubasi pada 37°C selama 5-8 jam. Suspensi ditambah aquades steril hingga kekeruhan tertentu sesuai dengan standar konsentrasi bakteri  $10^8$ CFU/ml. Suspensi bakteri diambil satu mata ose dan dimasukkan ke dalam 4ml *agar base* 1,5% yang mempunyai suhu 50°C. Setelah suspensi kuman tersebut homogen dituang ke dalam media *agar Mueller Hinton*, ditunggu sebentar sampai agar tersebut membeku, disk diletakkan di atas media dan diinkubasi 15-20 jam dengan suhu 37°C. Hasil dibaca sesuai dengan standar masing-masing antibakteri (Putri, 2010).

#### 2.4.2 Dilusi

##### 2.4.2.1 Metode dilusi cair / *Broth Dilution Test* / Dilusi Tabung

Metode ini mengukur MIC (*Minimum Inhibitory Concentration* atau Kadar Hambat Minimum, KHM) dan MBC (*Minimum Bactericidal Concentration* atau Kadar Bunuh Minimum, KBM). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji agen antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba, dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah diinkubasi ditetapkan sebagai KBM (Pratiwi, 2008).

#### 2.4.2.2 Metode dilusi padat / *Solid Dilution Test* / Dilusi Agar

Metode ini serupa dengan dilusi cair namun menggunakan media padat. Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Pratiwi, 2008).

#### 2.4.3 Uji Aktivitas Antifungi

Pada uji ini kebutuhan media berbeda dengan menggunakan bakteri. Media yang umum digunakan adalah *Sabouraud Dextrose Liquid/Solid*, *Czapex Dox*, dan media khusus fungi lainnya. Uji ini serupa dengan uji untuk bakteri, dimana spora atau miselium fungi dilarutkan pada larutan agen antimikroba uji, dan selanjutnya pada interval waktu tertentu disubkultur pada media yang sesuai. Setelah diinkubasi, pertumbuhan fungi pun diamati (Pratiwi, 2008).

#### 2.4.4 Uji Bioautografi

Uji bioautografi merupakan metode spesifik untuk mendeteksi bercak pada kromatogram hasil KLT (Kromatografi Lapis Tipis) yang memiliki aktivitas antibakteri, antifungi, dan antivirus. Keuntungan metode ini adalah sifatnya yang efisien untuk mendeteksi adanya senyawa antimikroba karena letak bercak dapat ditentukan walaupun berada dalam campuran kompleks sehingga memungkinkan untuk mengisolasi senyawa aktif tersebut. Kerugiannya adalah metode ini tidak dapat digunakan untuk menentukan KHM dan KBM (Pratiwi, 2008).



## 2.5 Antimikroba

Antimikroba adalah agen yang mampu membunuh atau menekan pertumbuhan dari mikroorganisme. Penggunaan antimikroba dipengaruhi oleh toksisitas selektif, yaitu perbedaan antara struktur sel mikroba dengan sel hospes. Antimikroba memiliki toksisitas selektif yang tinggi karena sel manusia berbeda dengan sel bakteri dalam hal dinding sel, komponen membran sel, struktur ribosom DNA metabolismenya (Dzen dkk., 2003).

Antimikroba yang memiliki kemampuan mematikan bakteri disebut bakterisidal sedangkan antimikroba yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri disebut bakteriostatik. Berdasarkan kemampuan mempengaruhi banyaknya jenis mikroba, antimikroba digolongkan menjadi antimikroba berspektrum sempit dan antimikroba berspektrum luas. Antimikroba berspektrum sempit hanya mempengaruhi beberapa jenis mikroba misalnya golongan penisilin hanya efektif terhadap bakteri Gram positif, sedangkan antimikroba berspektrum luas misalnya klorafenikol dapat mempengaruhi bakteri Gram positif, Gram negatif maupun mikroba lainnya (Dzen dkk., 2003).

Secara umum sifat-sifat obat antimikroba yang baik itu (Dzen dkk., 2003):

- a. Tidak merusak sel hospes dan tidak menyebabkan resistensi pada bakteri
- b. Bersifat bakterisidal dan bukan bakteriostatik serta berspektrum luas
- c. Tidak bersifat alergenik atau menimbulkan efek samping bila digunakan dalam jangka waktu lama.
- d. Tetap aktif dalam plasma, cairan tubuh atau eksudat.
- e. Kadar bakterisidal di dalam tubuh cepat tercapai dan bertahan untuk waktu lama.

### 2.5.1 Jenis antimikroba

#### a. Antimikroba sintetik

Antimikroba sintetik merupakan antimikroba yang dibuat secara kimiawi di laboratorium. Contoh antimikroba sintetik adalah *sulfonamide* (Dzen dkk., 2003).

#### a. Antimikroba alamiah

Bahan metabolit yang dapat menghambat atau membunuh mikroorganisme disebut antibiotika dan cara kerjanya disebut antibiosis. Antibiotika tersebut tersebar di alam dan dari banyak antibiotika yang telah ditemukan hanya beberapa yang tidak toksik untuk dipakai di dalam pengobatan (Dzen dkk., 2003).

#### b. Antimikroba semisintetik

Antimikroba semisintetik diperoleh dengan melakukan modifikasi rumus kimia dari senyawa alamiah. Tujuan pembuatan antimikroba semisintetik adalah untuk memperluas spektrum, menurunkan toksisitas, meningkatkan stabilitas, atau memperbaiki farmakokinetik. Contohnya adalah ampisilin (Dzen dkk., 2003).

### 2.5.2 Mekanisme kerja antibakteri (Farmakologi dan Terapi, 2007)

Antibakteri adalah suatu senyawa yang dapat membunuh atau menghentikan pertumbuhan bakteri. Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibakteri dibagi menjadi 5, yaitu:

#### 2.5.2.1 Menghambat Metabolisme Sel

Bakteri membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya. Asam folat tersebut harus disintesis sendiri oleh bakteri dari asam *amino benzoate*.



Antibakteri seperti *sulfonamide*, *trimetopin*, *asam p-aminosalisilat* dan *sulfon* menghambat proses pembentukan asam folat tersebut.

#### 2.5.2.2 Menghambat Sintesis Dinding Sel

Bakteri memiliki dinding sel dengan tekanan osmotik yang tinggi di dalam sel dan berfungsi untuk mempertahankan bentuk dan ukuran sel. Kerusakan dinding sel bakteri akan menyebabkan terjadinya lisis. Dinding sel bakteri mengandung *peptidoglycan* yaitu suatu kompleks polimer *mukopeptidae* (*glikopeptida*). Lapisan *peptidoglycan* pada dinding sel bakteri Gram positif lebih tebal daripada bakteri Gram negatif. Senyawa yang menghambat sintesis dinding sel bakteri meliputi *penisilin*, *sefalosforin*, *basitrasin*, *vankomisin* dan *sikloserin*.

#### 2.5.2.3 Mengganggu Keutuhan Membran Sel

Membran sitoplasma berfungsi dalam perpindahan molekul aktif dan menjaga keseimbangan zat di dalam sel. Kerusakan membran sitoplasma akan menyebabkan keluarnya makromolekul seperti protein, asam nukleat, dan ion-ion penting sehingga sel menjadi rusak. Antibiotik yang termasuk dalam kelompok ini adalah *polimiksin*.

#### 2.5.2.4 Menghambat Sintesis Protein

Sintesis protein berlangsung di ribosom, dengan bantuan mRNA dan tRNA. Pada bakteri, ribosom terdiri dari dua subunit, yang berdasarkan konstanta sedimentasi dinyatakan sebagai ribosom 30S dan 50S. Untuk berfungsi pada sintesis protein, kedua komponen ini akan bersatu pada pangkal rantai mRNA menjadi ribosom 70S. Penghambatan pada komponen ribosom-ribosom tersebut akan menyebabkan gangguan protein sel. Penghambatan sintesis protein terjadi dengan berbagai cara. Pertama, antimikroba berikatan dengan komponen ribosom 30S dan menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA,



akibatnya akan terbentuk protein yang abnormal dan nonfungsional bagi sel mikroba. Kedua, antimikroba berikatan dengan komponen ribosom 50S dan menghambat translokasi kompleks tRNA-peptida dari lokasi asam amino ke lokasi peptida, akibatnya rantai polipeptida tidak dapat diperpanjang karena lokasi asam amino tidak dapat menerima kompleks tRNA-asam amino yang baru. Antibiotik yang dapat menghambat sintesis protein sel antara lain golongan *aminoglikosida*, *makrolid*, *linkomisin*, *tetrasiklin* dan *kloramfenikol*.

#### 2.5.2.5 Menghambat Sintesis Asam Nukleat

Antibakteri berikatan dengan enzim *polimerase-RNA* (pada subunit) sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut. Mekanisme lain dengan cara menghambat enzim *DNA-girase* pada kuman yang fungsinya menatap kromosom yang sangat panjang menjadi bentuk spiral hingga bisa muat dalam sel kuman yang kecil. Antibiotik yang dapat menghambat sintesis asam nukleat bakteri yaitu *kuinolon*, *rifampisin*, *sulfonamide*, dan *trimetopim*.