

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Apel

2.1.1 Morfologi Tanaman Apel (*Malus domestica*)

Apel adalah tanaman buah yang biasa tumbuh di iklim subtropis, apel di Indonesia dikembangkan di beberapa wilayah, terutama di wilayah Pasuruan, khususnya di Kecamatan Tuter Nongkojajar. Tanaman apel dapat menghasilkan buah yang baik kalau ditanam pada daerah yang mempunyai ketinggian 700-1200 meter di atas permukaan laut. Untuk pertumbuhan apel secara teladan, lebih baik kalau curah hujan adalah antara 1600 sampai 2600 mm setahun, dengan antara 110 sampai 150 hari hujan setahun. Baik kecamatan Bumiaji maupun kecamatan Batu berada dengan kondisi-kondisi tersebut sehingga buah apel mampu ditanam disana (Soelarso, 1997).

Tinggi pohon apel dapat mencapai 3-6 hingga 10-14 m. Diameter batangnya mencapai 90 cm. Bentuk pelebaran mahkota dari ranting-rantingnya terkadang membulat atau ovoid. Tunasnya berbulu halus dan berberntuk ovoid-konikal. Panjang daun 5-10 cm, ovoid, dengan ujung meruncing dan berbentuk hati, bergerigi, dan berbulu halus. Mahkota bunga berdiameter 1-2 atau 4-5 cm, berwarna putih atau kemerahmudaan. Buah apel bervariasi dalam bentuk, ukuran (diameter biasanya lebih dari 3 cm), warna, dan tekstur kulit, waktu kematangan, dan kualitas dalam penyimpanan. Buah apel memiliki rasa asam, asam-manis, atau manis. Rata-rata berat buahnya berkisar antara 150-160 g, tetapi terkadang dapat mencapai 600 g (Antonovka Polutorafuntovaja) dan bahkan 900 g (Aport Alexandr). Berbunga pada bulan April – Juni, berbuah pada bulan Agustus–Oktober (Doronina & Terekhina, 2016).

2.1.2 Taksonomi Tanaman Apel (*Malus domestica*)

Kingdom: Plantae

Sub Kingdom: Tracheobionta

Superdivision: Spermatophyta

Division: Magnoliophyta

Class: Magnoliopsida

Subclass: Rosidae

Order: Rosales

Family: Rosaceae

Subfamily: Amygdaloideae

Tribe: Maleae

Subtribe: Malinae

Genus: *Malus*

Species: *Malus domestica* Borkh. (Canadian Food Inspection Agency, 2004)

2.1.3 Apel Malang

Apel malang atau biasa disebut rome beauty, memiliki diameter buah 5–12 cm dan berat 75–300 gram/buah. Biasanya berbentuk bulat dan beberapa ada yang jorong. Pucuk buahnya berlekuk dangkal sampai agak dalam. Mempunyai kulit buah yang berpori agak tebal dan kasar. Karena mengandung cukup banyak air, aroma yang dihasilkannya tidak tajam dan rasanya segar. Daging buahnya berwarna kekuningan dan agak kasar. Kulitnya berwarna merah pada bagian yang terkena sinar matahari, dan berwarna hijau pada bagian yang tidak terkena sinar matahari (Yulianti, 2007).



Gambar 2.1 Apel Malang (Nafilah, 2015)

Keterangan: Apel Malang memiliki ciri-ciri kulit berwarna hijau bersemburat merah dengan bentuk sedikit membulat.

2.1.3.1 Taksonomi Tanaman Apel Malang (*Malus Sylvestris* (L.) Mill.)

Kingdom: Plantae

Sub Kingdom: Tracheobionta (berpembuluh)

Divisi: Spermatophyta

Subdivisi: Angiospermae

Kelas: Dicotyledonae

Bangsa: Rosales

Suku: Rosaceae

Marga: *Pyrus*

Jenis: *Pyrus malus* L. var. *rome beauty*

Nama umum: Apel rome beauty (*Dinas Kesehatan Propinsi Jawa Timur, 2016*)

2.1.3.2 Kandungan Kimia Kulit Apel Malang

Kulit apel bermanfaat sebagai antibakteri, antioksidan dan antiproliferatif.

Kulit apel mengandung beberapa fitokimia, antara lain kuersetin, katekin, *phloridzin*, dan asam klorogenik. Ekstrak kulit apel juga telah diteliti memiliki

aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (Jannata dkk., 2014).

Senyawa fitokimia pada apel yang berfungsi sebagai antioksidan primer adalah senyawa fenolik, golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol dan asam-asam organik polifungsional. Apel juga mengandung betakaroten. Betakaroten memiliki aktivitas sebagai provitamin A yang berguna untuk menangkal serangan radikal bebas penyebab berbagai penyakit degeneratif. Vitamin C dan vitamin A merupakan antioksidan sekunder (Susanto dan Setyohadi, 2011).

2.1.3.2.1 Polifenol

Kulit apel malang diolah dengan dicelupkan kedalam asam sitrat, asam askorbat, dan di rendam di air mendidih sebelum di keringkan di dalam panggangan pada suhu 60°C. Hanya dengan merendam di air mendidih, dapat menjaga kandungan fenol, dan perendaman kulit di air mendidih selama 10 detik akan mendapatkan kadar fenol yang tertinggi. Kulit apel malang setelah direndam pada air mendidih selama 10 detik dan dikeringkan dengan berbagai teknik (dikeringkan dengan pemanggang pada suhu 40, 60, or 80°C, dengan udara, atau dengan membekukan). Total kandungan fenol adalah sebesar 3342 ± 12 mg asam galat setara dengan/100 g kulit kering (Wolfe & Liu, 2003).

2.1.3.2.3 Flavonoid

Kulit apel malang dan apel idared memiliki kandungan flavonoid tertinggi (306.1 ± 6.7 dan 303.2 ± 41.5 mg katekin setara dengan/100 g kulit apel). Daging apel malang ditambah dengan kulitnya, menunjukkan kandungan flavonoid yang

lebih tinggi dibandingkan apel jenis idared, Cortland, dan golden delicious (Wolfe, dkk., 2003).

Kuersetin merupakan salah satu dari kelompok pigmen tanaman, bernama flavonoid, yang memberikan warna pada buah, bunga, dan sayur-sayuran. Flavonoid, seperti kuersetin, merupakan jenis dari antioksidan. Mereka mengambil partikel radikal bebas didalam tubuh yang dapat menyebabkan kerusakan pada membran sel, DNA, dan bahkan menyebabkan kematian sel. Antioksidan dapat menetralisasi radikal bebas. Ia dapat mengurangi atau bahkan membantu mencegah kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas. Di dalam tabung reaksi, kuersetin memiliki sifat antioksidan yang kuat. Tetapi, para peneliti tidak yakin apakah mengkonsumsi kuersetin (dan antioksidan lainnya) punya kesamaan efek yang bekerja di dalam tubuh. Kuersetin dapat membantu melindungi dari penyakit jantung dan kanker. Kuersetin juga dapat menstabilkan sel yang melepaskan histamin di dalam tubuh dan dengan demikian mempunyai efek antiinflamasi dan antihistamin (Ehrlich, 2015).

2.1.4 Apel Washington

Apel ini merupakan salah satu kultivar terkenal di dunia. Di Indonesia buah inipun mudah dijumpai di pasar swalayan dan pasar tradisional. Apel amerika ini berasal dari varietas tua yang bernama red delicious. Ukuran buah apel ini tergolong besar (70 x 70 mm). Bentuknya *oblong* atau *oblong konikal*. Pangkal buah mendatar dan sisi-sisinya bulat. Pucuk buah agak datar. Tangkai buah agak tebal dengan panjang sekitar 19-22 mm. Bekas kelopak bunga berukuran sedang dan terbuka. Daging buahnya putih, berair banyak dengan tekstur renyah. Rasanya manis. Garis tengah buah berbentuk median. Bijinya bulat berujung tumpul. Daunnya berukuran kecil, sempit, dan berujung runcing.

Permukaannya datar, agak tebal, dan tepinya bergerigi. Tajuknya tegak dan lebar. Warna bunga putih dengan semburat merah muda (Untung, 1996).



Gambar 2.2 Apel Washington (Wikia, 2016)

Keterangan: Apel Washington memiliki ciri-ciri kulit buah berwarna merah segar dan bentuk sedikit lonjong memanjang.

2.1.4.1 Taksonomi Tanaman Apel Washington (*Malus Sylvestris* (L.) Mill)

Kingdom: Plantae

Sub Kingdom: Tracheobionta (berpembuluh)

Divisi: Spermatophyta

Subdivisi: Angiospermae

Kelas: Dicotyledonae

Bangsa: Rosales

Suku: Rosaceae

Marga: Malus

Jenis: *Malus domestica* 'Red delicious'

Nama umum: Apel washington (Dinas Kesehatan Propinsi Jawa Timur, 2016)

2.1.4.2 Kandungan Kimia Kulit Apel Washington

2.1.4.2.1 Polifenol

Polifenol — fitokemikal yang berperan seperti zat yang menyusutkan —

adalah sumber terbesar antioksidan di apel, tetapi jenis polifenol yang paling berperan aktif dalam buah masih belum ditemukan secara pasti oleh para ilmuwan. Tsao dan kawannya menggunakan tiga laboratorium yang berbeda untuk mengevaluasi aktivitas polifenol di apel yang populer di Kanada: Red Delicious, McIntosh, Cortland, Northern Spy, Ida Red, Golden Delicious, Mutsu and Empire apples (*American Chemical Society*, 2005).

2.1.4.2.2 Flavonoid

Apel fuji mengandung senyawa fenolik dan flavonoid tertinggi. Apel washington juga cukup tinggi, dan kandungan senyawa fenolik dan flavonoid terendah adalah apel empire dan apel NY647. Aktivitas antioksidan dari apel beragam dari setiap varian, hal ini berhubungan dengan kadar dari total senyawa fenol (Boyer & Liu, 2004).

Kuersetin merupakan flavanol dominan dalam apel, lebih besar ditemukan pada jaringan kulit dari varietas yang memiliki konsentrasi paling tinggi, yaitu red delicious. Kuersetin ditemukan pada kulit apel red delicious sebanyak ± 260 mg/100 g dan pada daging apel red delicious sebanyak ± 10 mg/100 g FW (Andrews, 2008). Apel merupakan sumber makanan yang mengandung kuersetin, menurut laporan di *Psychology Today*. Departemen Pertanian Amerika Serikat menemukan bahwa apel segar dan utuh mengandung sekitar 4,4 miligram kuersetin untuk setiap 100 gram apel. Umumnya, apel berukuran sedang, biasanya sekitar 150 gram, mengandung sampai sekitar 10 miligram kuersetin di dalamnya (Stone, 2015).

2.1.5 Tabel Perbandingan Kandungan Kimia Apel Malang dan Apel Washington

Jenis Apel	POLIFENOL	FLAVONOID	KUERSETIN
Apel Malang	500.02 \pm 13.7mg	306.1 \pm 6.7 mg	477.96 \pm 11.27 mg/L
Apel Washington	\pm 110.90 mg	\pm 98 mg	206.54 \pm 8.42 mg/L

Tabel 2.1 Tabel Perbandingan Kandungan Polifenol, Flavonoid, dan Kuersetin dalam Varietas Apel Malang dan Apel Washington (Fattouch et al., 2008; Cempaka dkk., 2014)

Keterangan: Kandungan fenol, flavonoid, dan kuersetin dalam kulit apel malang dan apel washington.

2.2 *Streptococcus mutans*

2.2.1 Klasifikasi

Kingdom: Bacteria

Phylum: Firmicutes

Class: Bacilli

Order: Lactobacillales

Family: Streptococcaceae

Genus: Streptococcus

Species: *Streptococcus mutans* (Georgia Gwinnet College, 2011)

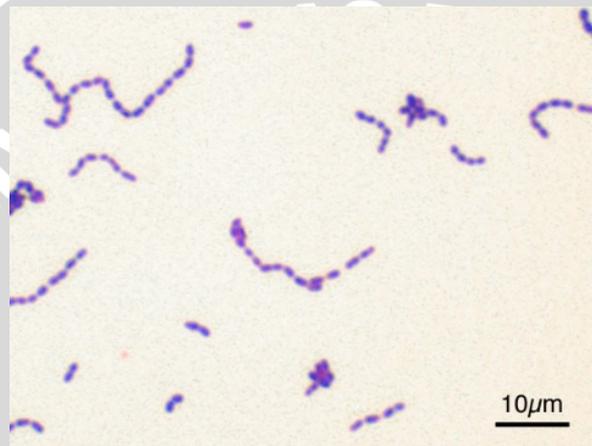
2.2.2 Morfologi Bakteri *Streptococcus mutans*

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. Bakteri ini tumbuh biasanya ditemukan pada rongga gigi manusia yang luka dan menjadi bakteri yang paling kondusif menyebabkan karies untuk email

gigi. *Streptococcus mutans* adalah bersifat asidogenik yaitu menghasilkan asam, asidodurik, mampu tinggal pada lingkungan asam, dan menghasilkan suatu polisakarida yang lengket disebut dextran. Oleh karena kemampuan ini, *Streptococcus mutans* bisa menyebabkan lengket dan mendukung bakteri lain menuju ke email gigi, lengket mendukung bakteri- bakteri lain, pertumbuhan bakteri asidodurik yang lainnya, dan asam melarutkan email gigi (Nugraha, 2008).

Streptococcus mutans termasuk dalam streptokok viridans, biasanya mereka bersifat α -hemolitik, tetapi ada pula yang bersifat nonhemolitik. Pertumbuhannya tidak dihambat oleh optokin, dan koloninya tidak larut dalam empedu (deoksikolat). Streptokok viridans adalah anggota flora normal yang paling umum ditemukan pada saluran napas atas dan keberadaannya penting untuk kesehatan membrane mukosa. Mereka dapat mencapai aliran darah akibat trauma dan merupakan penyebab utama endocarditis pada katup jantung abnormal. Beberapa streptokok viridans (misalnya, *Streptococcus mutans*) menyintesis polisakarida besar, seperti dekstran atau levan, dari sukrosa dan berperan penting pada terbentuknya karies dentis. Setelah pencabutan gigi, sedikitnya 30% pasien mengalami bacteremia streptokokus viridans (Jawetz, *et al.*, 2001). Menurut Bergeys (dikutip dalam Al-Jumaily, *et al.*, 2014) identifikasi dari *Streptococcus mutans* didasarkan kepada bentuk sel khusus pada mikroskop cahaya, karakteristik pertumbuhan yang spesifik, dan fermentasi gula. Selain itu *Streptococcus mutans* yang diisolasi diidentifikasi dengan *commercial biochemical test system API 20 strep*.

Dari sekitar 300 macam spesies bakteri di rongga mulut, hanya sebagian diantaranya, yang dikenal dengan *Streptococcus mutans* (SM), merupakan organisme penyebab karies. SM adalah penyebab utama karies pada mahkota karena sifatnya yang: (1) menempel pada email; (2) menghasilkan dan dapat hidup di lingkungan asam; (3) berkembang pesat di lingkungan yang kaya sukrosa; dan (4) menghasilkan bakteriosin, substansi yang dapat membunuh organisme kompetitornya (Putri *dkk.*, 2010).



Gambar 2.3 *Streptococcus mutans* dalam Pewarnaan Gram (*Wikimedia Commons, 2015*)

Keterangan: Bakteri *Streptococcus mutans* bersifat gram positif dimana pada hasil pewarnaan Gram akan berwarna ungu. Bentuk bakteri ini adalah kokus berantai.

2.2.3 Produk Ekstraseluler: Enzim Glikosiltransferase dan Antigen Protein

Sejumlah antigen yang telah ditemukan yang terpenting adalah protein, yang terdiri dari enzim glukosiltransferase dan antigen protein. Enzim glukosiltransferase berfungsi sebagai enzim yang mengubah sukrosa menjadi glukosa. Sedangkan antigen protein yang bersifat hidrofobik berfungsi pada proses interaksi *Streptococcus mutans* dan pelikel-pelikel di permukaan gigi (Bidarisugma *dkk.*, 2012). *Streptococcus mutans* merupakan bakteri tahan asam yang berperan dalam pembentukan karies. Bakteri ini

merupakan bakteri penghasil enzim glikosiltransferase yang mampu memecah sukrosa menjadi glukosa. Secara molekuler enzim glikosiltransferase dikode oleh gen GTF yang terdiri dari *GTF A, B, C, dan D*. *GTF A* mengkode glukosa yang tidak mudah cair dan banyak di kode oleh *Lactobacillus reuteri* sedangkan *GTF B* mengkode glukosa yang tidak mudah cair, *GTF C* mengkode glukosa mudah cair dan tidak mudah cair sedangkan *GTF D* mengkode glukosa yang mudah cair. Keempat GTF ini yang paling berperan pada pembentukan karies adalah GTF yang sukar larut yaitu *GTF B* dan *GTF C*. Berdasarkan produksi GTF inilah maka dapat dikatakan bahwa *Streptococcus mutans* adalah bakteri utama penyebab karies karena GTF yang dihasilkan lebih ditujukan pada *GTF B* dan *C* (Satari *dkk.*, 2011).

Enzim glikosiltransferase mampu memecah sukrosa menjadi glukosa, rafinosa, dan fruktan tapi tidak mampu memecah fruktosa, glukosa, maltosa, dan laktosa. Glukosa inilah yang membentuk komponen matriks plak yang dikenal sebagai Ekstrapolisakarida (EPS). Menurut Feretty *dkk.*, (dalam Satari *dkk.*, 2011), *Streptococcus mutans* memiliki lebih dari satu macam GTF, umumnya yaitu *GTF B, C, dan D*. Kopec *dkk.*, Chia *dkk.* (dalam Satari *dkk.*, 2011) menyatakan bahwa yang paling berperan pada pembentukan karies yaitu *GTF B, C*. Kedua GTF ini terlibat dalam sintesis glukosa yang tidak larut dengan membentuk ikatan alfa (1-3) bagi *GTF B* dan *C*, sedangkan *GTF C* selain membentuk glukosa yang tak larut dengan membentuk ikatan alfa (1-6) yang larut. *GTF D* sendiri membentuk ikatan glukosa alfa (1-6) yang larut. Wolinsky (dalam Satari *dkk.*, 2011) menyatakan bahwa glukosa yang tak larut memberikan kontribusi terhadap intensitas ketebalan dan integritas struktur plak gigi yang nantinya berkembang menjadi karies.

Antigen protein yang bersifat hidrofobik berfungsi pada proses

interaksi *Streptococcus mutans* dan pelikel-pelikel di permukaan gigi. *S.mutans* mempunyai *Glukan Binding Protein* (GBP) yang berfungsi mengikat glukan ekstraseluler. GBP menyebabkan terjadinya akumulasi *S.mutans* pada plak. *S.mutans* mempunyai beberapa GBP, antara lain dengan berat molekul 74, 64, dan 59 kDa. Komponen GBP menyebabkan proteksi respon imun terhadap karies yang dilakukan dalam imunisasi sistemik maupun lokal. Faktor – faktor virulensi yang dimiliki *S.mutans* tersebut akan menyebabkan *S.mutans* mudah untuk melekatkan diri pada permukaan sel *host*, berkolonisasi dan beragregasi, hal tersebut merupakan langkah awal terjadinya patogenesis *S.mutans* sebagai etiologi karies gigi (Bidarisugma *dkk.*, 2012).

2.2.4 Ciri-ciri Pertumbuhan dan Media Pertumbuhan *Streptococcus mutans*

Terdapat lima media selektif untuk pertumbuhan *Streptococcus mutans* yang umum digunakan, yaitu Mitis Salivarius-Bacitracin (MSB), Mitis Salivarius-Bacitracin-Kanamycin (MSKB), Glucosa-Sucrose-Tellurite-Bacitracin (GSTB), Trypticase-Yeast-Cystein-Sucrose 20%-Bacitracin (TYS20B), Tryptone-Yeast extract-Cystein-Sucrose-Bacitracin (TYCSB). Media TYS20B dilaporkan sebagai media yang lebih baik untuk isolasi *Streptococcus mutans* dan perhitungannya dapat dilakukan dengan jumlah koloni atau *Colony Forming Unit* (CFU/ml) (Wardhani, 2012).

TYCSB merupakan media yang paling baik dilihat dari sensitivitasnya. Dalam konsentrasi bakterial 1×10^6 per mL, penemuan *Streptococcus mutans* di TYCSB 4,5 kali lebih banyak daripada MSB dan TYS20B masing-masing, 90 kali lebih banyak daripada GSTB, dan melampaui 300 kali lebih

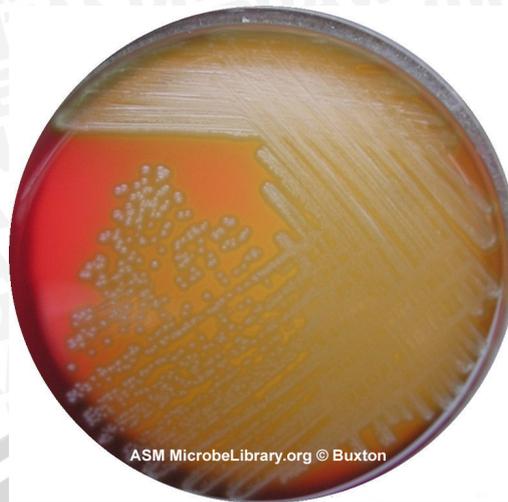
banyak daripada MSKB. Selain itu, TYCSB adalah media paling selektif yang telah diuji untuk *Streptococcus mutans*, dan merupakan media yang paling tidak mendukung non-*Streptococcus mutans*. Karakteristik ini menambah keakuratan dan kemudahan enumerasi *Streptococcus mutans* dibandingkan dengan media lain seperti GSTB yang mendukung pertumbuhan signifikan dari non-*Streptococcus mutans* (Wan et al., 2002).

Kebanyakan spesies streptokokal dapat diisolasi dari berbagai macam daerah di rongga mulut menggunakan medium selektif, mitis salivarius (MS) agar. Walaupun MS agar sebenarnya dirancang oleh Chapman untuk mengisolasi streptokokus fekal, seperti *Streptococcus mutans*, karena sifatnya yang selektif dan diferensial. Pada medium MS agar, kebanyakan streptokokus oral menunjukkan karakteristik morfologis kolonial yang memungkinkan diferensiasi sementara. Biasanya, plat agar di inkubasi dalam atmosfer yang mengandung 95% nitrogen dan 5% karbon dioksida pada suhu 37° C dalam satu hingga dua hari, diikuti oleh inkubasi di udara untuk satu hingga dua hari selanjutnya. Oral streptokokus dapat berdiferensiasi dengan kemampuannya dalam memfermentasikan beberapa gula (terutama mannitol dan sorbitol) dan untuk adhesi pada permukaan yang halus pada sukrosa (Hamada & Slade, 1980).

Selain itu, terdapat juga *blood agar* atau agar darah biasanya dibuat dari *Tryptic Soy Agar* atau *Columbia Agar Base* dengan darah domba 5% atau bias juga darah kelinci atau kuda dapat digunakan untuk pertumbuhan organisme yang membutuhkan NAD, seperti spesies *Haemophilus*. Penggunaan darah manusia tidak disarankan karena kemungkinan paparan patogen melalui darah manusia seperti HIV atau hepatitis (Buxton, 2013).

Pada pengambilan spesimen bakteri ini dilakukan beberapa tes untuk membedakan *Streptococcus mutans* dengan bakteri lainnya, seperti:

1. Pengecatan gram, pewarnaan ini mampu mendeferensiasi atau membedakan bakteri, sehingga bakteri dapat digolongkan menjadi dua kelompok, yaitu gram negatif dan gram positif (Goonerette, 2014). Pada hasil akan terlihat bakteri berbentuk bulat dengan rantai panjang dan berwarna ungu tua.
2. Pengulturan bakteri pada media *blood agar plate* (agar darah) dilakukan untuk melihat sifat hemolisisnya. Bakteri *Streptococcus mutans* yang termasuk bakteri grup alfa hemolitikus akan menunjukkan hasil berupa hemolisis sebagian dari sel darah merah yang menandakan bahwa bakteri adalah bakteri grup alfa hemolitikus. Hal ini menyebabkan perubahan warna hijau kecoklatan dalam medium (Buxton, 2013).
3. Tes katalase, dapat membedakan koloni *Staphylococcus sp.* (katalase positif) dari koloni *Sterptococcus sp.* (katalase negatif) (Amelia, 2014).
4. Uji saring Diagnosa SBHA dapat ditegakkan berdasarkan kepekaannya terhadap basitrasin. Lebih dari 95% SBHA peka/sensitif terhadap basitrasin (Amelia, 2014).



Gambar 2.4 Koloni *Streptococcus mutans* pada BAP untuk Melihat Sifat Hemolisisnya (Buxton, 2013)

Keterangan: Hemolisis alfa adalah reduksi dari sel darah merah hemoglobin menjadi methemoglobin pada medium di sekitar koloni. Hal ini menyebabkan diskolorisasi warna menjadi hijau atau coklat pada media.

2.2.5 Uji Sensitivitas Bakteri

Uji aktivitas antibakteri *Streptococcus mutans* dapat dilakukan dengan menggunakan dua metode, yaitu metode difusi (*Disk Diffusion Test*) dan metode dilusi tabung (*Tube Dilution Test*). Uji ini digunakan untuk mengetahui batas kepekaan senyawa antibakteri terhadap bakteri tertentu.

1. Metode Difusi

Metode ini merupakan metode yang paling sering digunakan. Metode ini dipengaruhi oleh beberapa faktor fisika dan kimia, selain faktor antara obat dan organisme (misalnya sifat medium dan kemampuan difusi, ukuran molekular dan stabilitas obat). Meskipun demikian, standarisasi faktor-faktor tersebut memungkinkan melakukan uji kepekaan dengan baik. Dalam difusi agar ada tiga metode, yaitu metode silinder, metode perforasi dan metode cakram kertas. Cakram kertas saring berisi sejumlah tertentu obat ditempatkan pada permukaan medium padat yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji pada permukaannya. Setelah inkubasi, diameter zona

hambatan sekitar cakram dipergunakan mengukur kekuatan hambatan obat terhadap organisme uji. Metode ini dipengaruhi oleh beberapa faktor fisik dan kimia, selain faktor antara obat dan organisme (misalnya sifat medium dan kemampuan difusi, ukuran molekular dan stabilitas obat). Meskipun demikian, standarisasi faktor-faktor tersebut memungkinkan melakukan uji kepekaan dengan baik (Jawetz *et al.*, 2001).

2. Metode Dilusi

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

a. Metode Dilusi Cair (*Broth Dilution Test*)

Metode ini mengukur MIC (*minimum inhibitory concentration*) atau kadar hambat minimum dan MBC (*minimum bactericidal concentration*) atau kadar bunuh minimum. Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji 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 pertumbuhan mikroba uji ataupun agen mikroba, dan diinkubasi selama 18–24 jam. Media cair

yang tetap terlihat jernih setelah diinkubasi ditetapkan sebagai KBM (Pratiwi, 2008).

b. Metode Dilusi Padat (*Solid Dilution Test*)

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

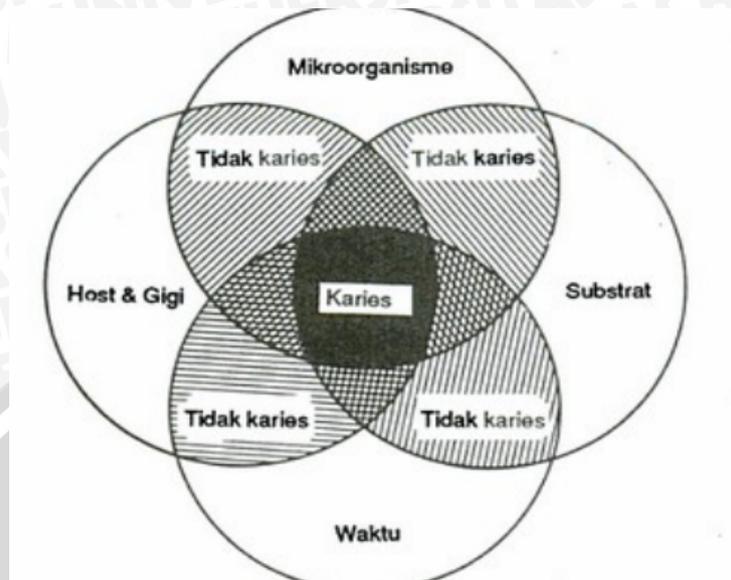
2.3 Gambaran klinis

2.3.1 Karies Gigi

Karies merupakan suatu penyakit jaringan keras gigi, yaitu email, dentin, sementum, yang disebabkan oleh aktivitas suatu jasad renik dalam suatu karbohidrat yang dapat diragikan. Tandanya adalah adanya demineralisasi jaringan keras gigi yang kemudian diikuti oleh kerusakan bahan organik. Akibatnya, terjadi invasi bakteri dan kematian pulpa serta penyebaran infeksi ke jaringan periapiks yang dapat menyebabkan nyeri. Walaupun demikian, mengingat mungkin terjadi remineralisasi, pada stadium yang sangat dini penyakit ini dapat dihentikan (Kidd *et al.*, 1991).

Beberapa jenis *karbohidrat* makanan misalnya sukrosa dan glukosa, dapat diragikan oleh *bakteri* tertentu dan membentuk asam sehingga pH plak akan menurun sampai di bawah 5 dalam tempo waktu 1-3 menit. Penurunan pH yang berulang-ulang dalam *waktu* tertentu akan mengakibatkan demineralisasi permukaan gigi yang rentan dan proses kariespun dimulai. Paduan keempat factor penyebab tersebut kadang-kadang digambarkan sebagai empat lingkaran yang bersitumpang (Gambar 2.5). Karies baru bisa

terjadi hanya kalau keempat faktor tersebut di atas ada (Kidd *et al.*, 1991).



Gambar 2.5 Empat Lingkaran Faktor Penyebab Karies Gigi (Kidd *et al.*, 1991)

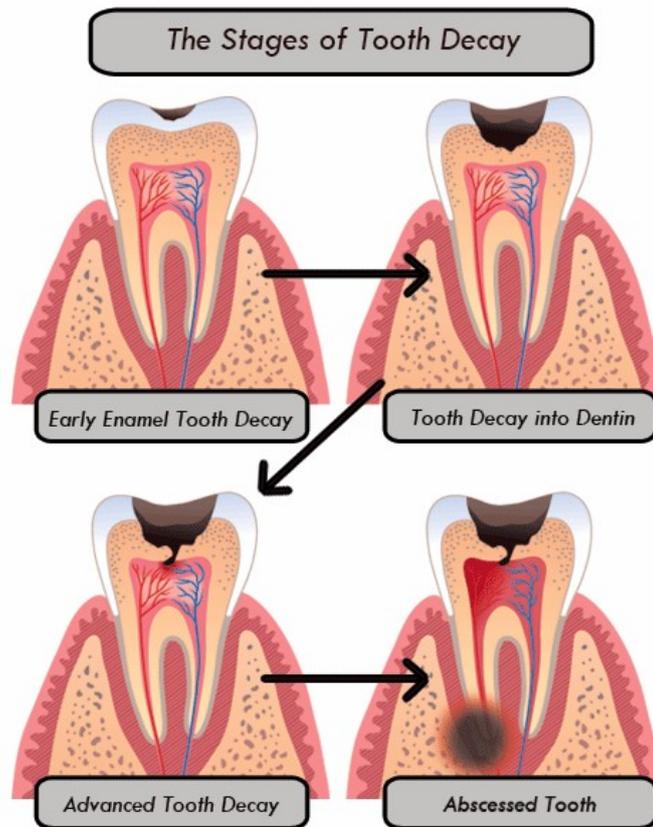
Keterangan: Empat lingkaran yang menggambarkan paduan factor penyebab karies. Karies baru akan timbul hanya kalau keempat factor penyebab tersebut bekerja secara simultan.

Plak gigi merupakan lengketan yang berisi bakteri beserta produk-produknya, yang terbentuk pada semua permukaan gigi. Akumulasi bakteri ini tidak terjadi secara kebetulan melainkan terbentuk melalui serangkaian tahapan. Jika email yang bersih terpapar di rongga mulut maka akan ditutupi oleh lapisan organik yang amorf yang disebut pelikel. Pelikel ini terutama terdiri atas glikoprotein yang diendapkan dari saliva dan terbentuk segera setelah penyikatan gigi. Sifatnya sangat lengket dan mampu melekatkan bakteri-bakteri tertentu pada permukaan gigi. Bakteri yang mula-mula menghuni pelikel terutama yang berbentuk kokus. Yang paling banyak adalah streptokokus. Organisme tersebut tumbuh, berkembang biak dan mengeluarkan gel ekstra-sel 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

tadinya didominasi oleh bentuk kokus berubah menjadi flora campuran yang terdiri atas kokus, batang, dan filamen (Kidd *et al.*, 1991).

Streptococcus mutans dan laktobasilus merupakan kuman kariogenik karena mampu segera membuat asam dari karbohidrat yang dapat diragikan. Kuman-kuman tersebut dapat tumbuh subur dalam suasana asam dan dapat menempel pada permukaan gigi karena kemampuannya membuat polisakarida ekstra sel yang sangat lengket dari karbohidrat makanan. Polisakarida ini, yang terutama terdiri dari polimer glukosa, menyebabkan matriks plak gigi mempunyai konsistensi seperti gelatin. Akibatnya, bakteri-bakteri terbantu untuk melekat pada gigi serta saling melekat satu sama lain. Dan karena plak makin tebal maka hal ini akan menghambat fungsi saliva dalam menetralkan plak tersebut (Kidd *et al.*, 1991).

Bakteri asidurik, asidogenik diketahui menjadi agen primer yang bertanggung jawab atas terjadinya penurunan pH di rongga mulut, yang berakibat disolusi/demineralisasi gigi. Walaupun ekosistem pada oral kompleks dan ada kemungkinan efek poten/kuat dari berbagai vareietas spesies bakteri pada karies gigi, inisiator utama dari karies enamel adalah *Streptococcus mutans*. Spesies lain, seperti *Lactobacilli*, berkaitan dengan perluasan lesi karies gigi, seperti *Actinomyces* pada sementum akar. Spesies-spesies ini tinggal di biofilm pada permukaan gigi – plak gigi; dibiarkan dan setelah metabolisme diet karbohidrat difermentasi, seperti sukrosa, produk-produk dari bakteri asidik menurunkan pH. Selama jangka waktu pH turun (rata-rata 5.5 untuk enamel, 6.5 untuk dentin), mineral seperti fosfat dan ion hidroksil keluar dari gigi ke rongga mulut (Quock, 2015).



Gambar 2.6 Tahapan Terjadinya Karies Gigi (Valadez, 2015)

Keterangan: Bermula dari lesi karies pada enamel berlanjut hingga bagian dentin gigi dan pulpa. Infeksi yang berlanjut dari pulpa dapat membentuk eksudat purulen di apeks gigi yang disebut abses.

Gigi manusia tertanam pada tulang alveolar dengan selimut ligamen (ligamen periodontal) dan terbuat dari tiga lapisan yang berbeda secara histologi. Lapisan paling dalam, pulpa, terdiri dari vaskularisasi dan saraf ke sistemik – yang memberikan vitalitas gigi. Pulpa terlindungi dengan dentin, yang mempunyai kandungan mineral sekitar 75%; sel blastik pada dentin (odontoblas) dapat ditemukan di perbatasan pulpa-dentin. Dentin pada mahkota (bagian gigi yang secara klinis terlihat di rongga mulut) tertutup dengan enamel, yang lebih termineralisasi daripada dentin di atas 95% -- ini adalah substansi terkeras di tubuh manusia. Sementum menutupi akar gigi dan sebaliknya hanya sekitar 50% termineralisasi (Quock, 2015).

Tanda klinis pertama dari demineralisasi adalah sedikit perubahan warna pada permukaan enamel – lesi inisial karies; jika pH oral kembali pada tingkat lebih netral dengan menghilangkan plak bakteri dan/atau karbohidrat,

maka kalsium, fosfat, dan ion hidroksil yang ada di saliva dan plak berpartisipasi dalam pembentukan struktur enamel kristalin. Dengan demikian karies gigi diketahui sebagai penyakit kronis dan berlangsung terus-menerus, dengan pendulum berayun antara demineralisasi dari struktur gigi selama pH rendah dan remineralisasi selama pH netral/lebih tinggi. Ketika gigi terdemineralisasi untuk jangka waktu yang lebih lama pada pH rendah, total mineral yang hilang pada akhirnya terlalu banyak untuk menanggulangi remineralisasi dan sub-struktur enamel hancur, membentuk sebuah kavitas (Quock, 2015).

Untuk ditinjau, bakteri asidogenik seperti *Streptococcus mutans* membentuk produk asam, yang mengakibatkan demineralisasi struktur gigi. Bakteri asidogenik ini bermetabolisme dari memfermentasikan karbohidrat, seperti sukrosa, untuk memproduksi produk asam – hal ini membuat diet pasien dan kebersihan rongga mulut merupakan aspek penting untuk dikontrol dari proses penyakit ini. Data menunjukkan bahwa ketika asupan gula terbatas pada energi < 10%, insiden terjadinya karies berkurang. Selanjutnya, waktu sangat berperan penting dalam proses karies – semakin lama gigi dan bakteri terekspos dengan karbohidrat, maka lebih lama waktu bagi bakteri untuk membentuk produk asam dan produk ini lah yang membuat gigi terdemineralisasi (Quock, 2015).

Dari perspektif medis, perkembangan lokal dari karies gigi dapat mengakibatkan implikasi serius. Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya, waktu yang lama dari induksi bakteri dan pH rendah dalam rongga mulut mendorong terjadinya demineralisasi konstan di enamel gigi. Jika kandungan mineral yang cukup tersebut hilang, substruktur matrix enamel apatit hancur

membentuk suatu kavitas, atau “lubang”, dan tidak dapat di remineralisasi. Selanjutnya, kavitas ini adalah ceruk (acap kali sulit dibersihkan) untuk bakteri kariogenik. Mengingat dentin mempunyai kandungan mineral yang lebih rendah dari enamel, ketika kavitas sudah penetrasi ke dentin, perkembangan dari karies akan lebih cepat. Untuk hal ini, perawatan yang dianjurkan untuk lesi kavitas karies adalah menempatkan semacam bahan pengisi sintetis untuk menutup lubang. Demineralisasi terus-menerus dari dentin, disertai dengan proliferasi bakteri kariogenik, menyebabkan karies berkontak menginfeksi daerah pulpa – saraf dan suplai darah untuk gigi. Pulpitis, atau inflamasi pulpa, dapat muncul karena kedekatan dengan lesi karies, dan menyebabkan ketidaknyamanan/nyeri yang intens (Quock, 2015).

Hubungan fisik yang sebenarnya antara bakteri kariogenik dan pulpa gigi biasanya mengakibatkan *pulpitis irreversible* dan/atau nekrosis pulpa. Dalam kasus ini, biasanya terbentuk abses pada apeks akar gigi, dekat dengan lubang kecil untuk vaskularisasi dan koneksi saraf dari gigi ke sistemik. Eksudat purulen yang berasal dari jaringan pulpa yang terinfeksi terbatas pada ruangan akar yang sangat sempit dan harus mengalir ke ujung akar, sehingga membentuk abses. Infeksi akan bertahan, kecuali abses di drainase dengan ekstraksi gigi atau pulpektomi (pengambilan jaringan pulpa, sebagai pendahuluan untuk perawatan saluran akar), antibiotik saja tidak akan efektif dalam mengeliminasi penyakit ini (Quock, 2015).

2.4 Identifikasi Kadar Hambat Minimal dan Kadar Bunuh Minimal

KHM merupakan suatu tolak ukur. KHM digunakan untuk mengetahui hubungan antara bakteri patogen dan antimikrobal tertentu. KHM atau Kadar Hambat Minimum, merupakan takaran konsentrasi minimal dari bahan coba

yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri setelah bakteri tersebut diinkubasi selama 24 jam. Metode untuk mengetahui KHM adalah metode dilusi agar. Cara melihat bahwa koloni bakteri sudah tidak tumbuh adalah dengan mengamati kekeruhan pada media perbenihannya dengan metode tersebut. KBM atau Kadar Bunuh Minimum merupakan suatu konsentrasi minimal yang dibutuhkan untuk membunuh suatu koloni dari bakteri patogen. Hal ini ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan dari koloni bakteri.

