

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Streptococcus mutans*

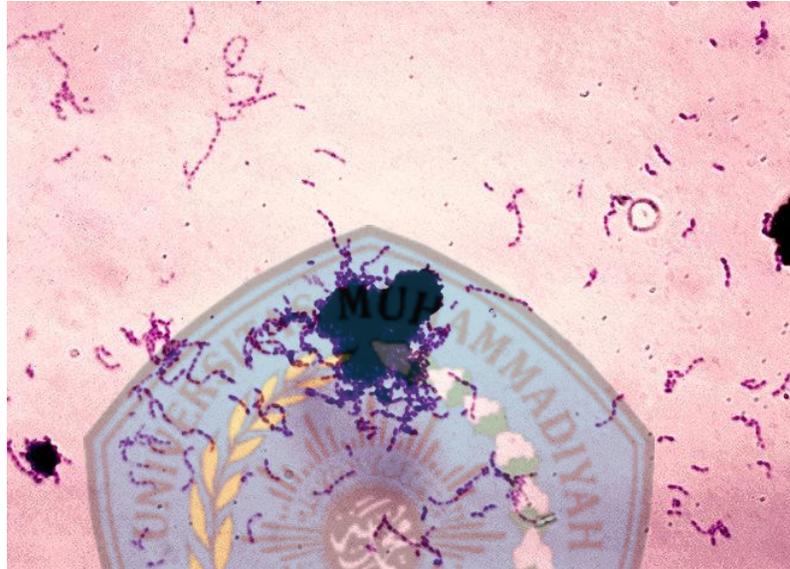
2.1.1. Morfologi *Streptococcus mutans*

Streptococcus mutans merupakan bakteri anaerob fakultatif gram-positif berbentuk bulat yang khas membentuk pasangan atau rantai selama masa pertumbuhannya. Bakteri ini anggota flora normal yang paling banyak ditemukan napas atas dan penting untuk menjaga kesehatan membrane mukosa. *Streptococcus mutans* biasanya ditemukan pada rongga mulut manusia, dan memegang peranan terhadap terjadinya kerusakan gigi. Kerusakan gigi dapat berpengaruh pada kesehatan secara keseluruhan individu (Gunawan et al., 2014).

Streptococcus mutans tumbuh pada suhu antara 18-40°C. Bakteri ini pertama kali diisolasi oleh Clark tahun 1924 dari gigi manusia yang mengalami karies. Disebut sebagai *Streptococcus mutans* karena diambil berdasarkan hasil pemeriksaan mikrobiologi dengan pengecatan gram yang menunjukkan bakteri ini memiliki bentuk oval dan lain dari bentuk spesies *Streptococcus* yang lain, sehingga disebut mutan dari *Streptococcus* (Warna, Fatmawati, 2011).

Streptococcus mutans merupakan bakteri kokus tunggal berbentuk bulat atau bulat telur dan tersusun dalam rantai. Rantai – rantai *Streptococcus mutans* tampak sebagai diplokokkus dan bentuknya kadang – kadang menyerupai batang (Nuzulia P, 2017). Bakteri ini juga disebut mikroorganisme kariogenik karena karakteristik dari

Streptococcus mutans yang dapat memecah gula untuk dijadikan energi dan menghasilkan lingkungan asam, yang mana berpengaruh pada demineralisasi struktur gigi.



Gambar 1. Bakteri *Streptococcus mutans* pada pengecatan gram (https://id.wikipedia.org/wiki/Berkas:Streptococcus_mutans, 2018)

2.1.2. Klasifikasi *Streptococcus mutans*

Menurut Jawetz dkk 2005 klasifikasi *Streptococcus mutans* adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Divisi	: Firmicutes
Ordo	: Lactobacillales
Famili	: Streptococcaceae
Genus	: Streptococcus
Spesies	: <i>Streptococcus mutans</i>

2.1.3. Patogenitas *Streptococcus mutans*

Salah satu penyakit yang diakibatkan oleh bakteri *Streptococcus mutans* yaitu karies gigi. Karies gigi merupakan suatu keadaan dimana adanya kerusakan pada struktur jaringan pembentuk gigi yang disebabkan oleh aktivitas bakteri. Proses karies gigi diawali dengan terjadinya demineralisasi gigi oleh adanya asam laktat dan asam organik lain yang tertumpuk atau terakumulasi di dalam permukaan gigi melalui plak (Nuzulia P, 2017).

Demineralisasi gigi terjadi pada jaringan keras gigi yaitu email, dentin, dan sementum. Demineralisasi terjadi oleh asam laktat yang dihasilkan oleh *Streptococcus mutans* yang dapat memetabolisme karbohidrat. Kemudian diikuti dengan kerusakan bahan organik lainnya. Hal ini menyebabkan terjadinya pelepasan ion kalsium dan fosfat serta meningkatkan daya larut kalsium pada jaringan keras gigi. Kemudian mulai terjadi invasi bakteri dan kerusakan jaringan pulpa serta penyebaran infeksi ke jaringan sehingga terjadi plak pada gigi. Karies didefinisikan sebagai penghancuran lokal jaringan gigi akibat fermentasi karbohidrat dari aktivitas bakteri (Annisa, 2015).

2.2. *Klebsiella pneumonia*

2.2.1. Morfologi *Klebsiella pneumonia*

Klebsiella pneumonia merupakan bakteri fakultatif anaerob gram negative (-) berbentuk batang. Dikatakan fakultatif anaerob karena bakteri ini dapat hidup dengan baik pada lingkungan tanpa oksigen maupun dengan oksigen. *Klebsiella pneumonia*

merupakan kelompok dari Enterbacteriaceae. Karakter yang menunjukkan sifat – sifat family ini yaitu (Soedarto, 2015):

- Bakteri berbentuk batang dengan ukuran 1 – 5 mikron
- Sifat pewarnaan adalah gram negative
- Sifat hidup anaerob fakultatif
- Memfermentasi gula menghasilkan asam laktat dan berbagai produk lainnya
- Mengubah nitrat (NO_3) menjadi nitrit (NO_2)
- Oksidase negative
- Klebsiella non motil
- Tidak membentuk spora
- Dinding sel bersifat kompleks
- Mempunyai pili/fimbre

Pada media kultur, *Klebsiella pneumonia* akan menunjukkan pertumbuhan koloni yang mukoid berwarna merah jambu dan cenderung menyatu apabila diinkubasi. Bakteri ini memiliki kapsul polisakarida yang besar dan mengelilingi bakteri yang berperan dalam melindungi bakteri terhadap aksi fagositosis dan bakterisidal serum dan dapat dianggap sebagai faktor virulensi terpenting dari *Klebsiella pneumonia* (Rahmatia, 2016), dan bakteri ini menunjukkan hasil yang positif untuk lisin dekarboksilase dan sitrat dan *Voges-Proskauer* (VP) dan termasuk pada bakteri lactose fermenter cepat (Jawetz *et.al*, 2005).



Gambar 2. Koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* pada media *Mac Conkey*
(Dokumentasi pribadi, 2018)

2.2.2. Klasifikasi *Klebsiella pneumoniae*

Klasifikasi bakteri *Klebsiella pneumoniae* menurut Jawetz dkk (2005) yaitu :

Kingdom	: Bacteria
Divisi	: Proteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Klebsiella</i>
Spesies	: <i>Klebsiella Pneumonia</i>

2.2.3. Patogenitas *Klebsiella pneumonia*

Klebsiella pneumonia dapat menyerang paru – paru dan menyebabkan penyakit pneumonia, nekrosis paru, dan juga sering menyebabkan infeksi pada saluran kemih (Indrayanti, 2016). *Klebsiella pneumonia* yang menyebabkan pembengkakan paru – paru akan membuat ukuran lobus pada paru – paru menjadi tidak sama, batuk – batu, dan juga penebalan dinding mukosa. Bakteri ini juga berperan dalam terjadinya infeksi saluran kemih dan infeksi nosocomial (Rahmatia, 2016).

Klebsiella pneumonia memiliki dua tipe antigen pada permukaan selnya yang meningkatkan patogenitas bakteri ini yakni antigen O dan antigen K. Antigen O merupakan lipopolisakarida yang terdapat dalam 9 varietas. Dan antigen K merupakan polisakarida yang dikelilingi oleh kapsula lebih dari 80 varietas. Selain itu *Klebsiella pneumonia* juga mampu memproduksi enzim ESBL (*Extended Spectrum Beta Lactamase*) yang dapat melumpuhkan kerja berbagai jenis antibiotik seperti penisilin, sefalosporin, dan aztreonam (Nia *et.al.* 2017)

2.3. Daun Cengkeh

2.3.1. Deskripsi daun cengkeh

Cengkeh merupakan jenis tanaman perdu yang dapat memiliki batang pohon besar berkayu keras. Cengkeh mampu bertahan hidup puluhan hingga bahkan sampai ratusan tahun. Tingginya dapat mencapai 20 – 30 meter. Pohon cengkeh memiliki cabang – cabang yang umumnya panjang dan dipenuhi oleh ranting – ranting kecil yang mudah patah. Tangkai buah pada awalnya berwarna hijau, dan berwarna merah

jika Bunga sudah mekar dan mempunyai panjang daun berkisar 7,5 – 12,5 cm (Hapsoh dan Hasanah, 2011).



Gambar 3. Daun cengkeh yang telah dikeringkan (Dokumentasi pribadi, 2018)

2.3.2. Klasifikasi daun cengkeh

Klasifikasi dari tanaman cengkeh yaitu (Suparman, Nurhasanah, 2017) :

Divisi	: Spermatophyta
Sub-Divisi	: Angiospermae
Class	: Dicotyledone
Ordo	: Myrtales
Family	: Myrtaceae
Genus	: Syzygium
Spesies	: <i>Syzygium aromaticum</i>

2.3.3. Manfaat daun cengkeh

Cengkeh merupakan salah satu tanaman yang dapat berkhasiat sebagai obat. Cengkeh adalah tanaman rempah yang telah lama berperan dalam industri rokok, makanan, minuman, maupun obat – obatan. Bagian tanaman cengkeh yang sering dimanfaatkan yaitu bunga, tangkai bunga, dan daun cengkeh (Wahyulianingsih et.al, 2010).

Daun cengkeh sering digunakan dalam berbagai macam pengobatan, antara lain sebagai obat batuk, obat sakit perut, dan obat sakit gigi. (Kumala, 2008).

2.3.4. Kandungan daun cengkeh

Komponen minyak atsiri yang terkandung didalam daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) dapat menimbulkan aroma khas. Minyak tersebut mempunyai sifat stimulant, anestetik, antiseptik, dan antipasmodik. Pemisahan kandungan kimia dari daun cengkeh menunjukkan bahwa daun cengkeh mengandung eugenol, saponin, tannin, alkaloid, dan juga flavonoid (Nurdjannah, 2016). Senyawa aktif yang terdapat pada daun cengkeh memiliki manfaat sebagai antibakteri diantaranya :

1. Eugenol

Senyawa eugenol yang banyak terdapat pada daun cengkeh memiliki sifat lipofilik (larut dalam lemak) yang dapat mengakibatkan terjadinya adhesi dengan membran sel bakteri sehingga tekanan osmotik meningkat, menyebabkan kerusakan pada membran sel dan menghambat respirasi bakteri. Terhambatnya proses respirasi pada bakteri akan menimbulkan

terganggunya transport ion pada sel sehingga bakteri akan mengalami kematian.

2. Saponin

Saponin yang terdapat pada tanaman akan bereaksi dengan porin (protein transmembran) yang terdapat pada membran luar dinding sel bakteri yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa pada sel bakteri. Saponin akan membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin akan mengurangi permeabilitas membran sel bakteri yang mengakibatkan sel bakteri kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati.

3. Tanin

Senyawa tanin pada daun cengkeh akan memiliki aktivitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktifkan adhesi sel bakteri, menginaktifkan enzim dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel. Tanin juga berperan pada peptidoglikan bakteri yakni menyebabkan pembentukan peptidoglikan yang kurang sempurna sehingga bakteri menjadi lisis dan mati karena tekanan osmotik (Smullen J, 2007).

4. Flavonoid

Senyawa flavonoid berpotensi sebagai senyawa antibakteri dan anti kanker. Flavonoid membentuk senyawa kompleks terhadap protein sel

bakteri dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membrane sel tanpa dapat diperbaiki (Juliantina, 2008).

Gugus alkohol yang terdapat pada senyawa flavonoid akan mengikat peptidoglikan di dinding sel. Selain itu flavonoid juga mampu merusak membrane sel bakteri melalui pengikatan pada lipopolisakarida sehingga membran akan mengalami kerusakan pada gugus fosfat sehingga molekul fosfolipid akan terurai yang mengakibatkan terjadinya kebocoran pada membran sehingga bakteri tersebut akan mati (Jawetz *et al*, 2013).

Daun cengkeh (*Syzygium Aromaticum*) selain mengandung minyak atsiri, juga mengandung senyawa kimia yang disebut eugenol, asam oleanolat, asam galotamat, fenilin, dan gom. Minyak esensial dari cengkeh mempunyai fungsi anestetik dan antimikrobia. Minyak cengkeh sering digunakan untuk menghilangkan bau napas dan untuk menghilangkan sakit gigi. Zat yang terkandung dalam cengkeh bernama eugenol, digunakan dokter gigi untuk menenangkan saraf gigi (Posangi, 2016).

2.4. Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak larut dengan pelarut cair. Ragam ekstraksi tergantung pada jenis dan kandungan senyawa yang diisolasi. Ekstraksi dapat dilakukan dengan pelarut organik terhadap bahan segar atau bahan kering. Pada prinsipnya senyawa polar diekstraksi dengan pelarut polar, sedangkan senyawa non polar diekstraksi dengan pelarut non polar. Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau

cair dibuat dengan menyari simplisia menurut cara yang cocok, diluar pengaruh cahaya matahari langsung (Depkes RI, 2000).

2.4.1. Proses Pembuatan Ekstrak (Depkes RI, 2000)

a. Pembuatan serbuk simplisia dan klasifikasinya

Proses awal pembuatan ekstrak adalah tahapan pembuatan serbuk simplisia kering (penyerbukan). Dari simplisia dibuat serbuk simplisia dengan peralatan tertentu sampai derajat kehalusan tertentu. Proses ini dapat mempengaruhi mutu ekstrak dengan dasar beberapa hal sebagai berikut :

1. Makin halus serbuk simplisia, proses ekstrak makin efektif dan efisien. Namun makin halus serbuk, maka makin rumit secara teknologi peralatan untuk tahapan filtrasi.
2. Selama penggunaan peralatan penyerbukan dimana ada gerakan dan interaksi dengan benda keras (logam dll.) maka akan timbul panas (kalori) yang dapat berpengaruh pada senyawa kandungan. Namun hal ini dapat dikompensasi dengan penggunaan nitrogen cair.

b. Cairan pelarut

Cairan pelarut dalam proses pembuatan ekstrak adalah pelarut yang baik (optimal) dengan senyawa kandungan yang berkhasiat atau yang aktif, dengan demikian senyawa tersebut dapat terpisahkan dari bahan dan dari senyawa kandungan lainnya, serta ekstrak hanya mengandung sebagian besar senyawa kandungan yang diinginkan.

Dalam hal ekstrak total, maka cairan pelarut dipilih yang melarutkan hamper semua metabolit sekunder yang terkandung. Faktor utama untuk mempertimbangkan pada pemilihan cairan penyaring adalah :

1. Selektivitas
2. Kemudahan bekerja dan proses cairan tersebut
3. Ekonomis
4. Ramah lingkungan
5. Keamanan

namun demikian kebijakan dan peraturan pemerintah dalam hal ini juga ikut dibatasi. Cairan pelarut apa yang diperbolehkan dan mana yang dilarang. Karena terdapat sebagian pelarut yang memiliki sifat toksik akut dan kronik maupun karsinogenik

c. Separasi dan pemurnian

Tujuan dari tahap ini adalah menghilangkan (memisahkan) senyawa yang tidak dikehendaki semaksimal mungkin tanpa berpengaruh pada senyawa kandungan yang dikehendaki, sehingga diperoleh ekstrak yang lebih murni.

Sebagai contoh adalah senyawa tannin, pigmen – peigmen dan senyawa – senyawa lain yang akan berpengaruh pada stabilitas senyawa kandungan termasuk juga dalam hal ini adalah sisa pelarut yang tidak dikehendaki.

Proses – proses pada tahap ini yaitu pengendapan, pemisahan dua cairan tak campur, sentrifugasi, dekantasi, filtrasi serta proses adsorpsi dan penukar ion.

d. Pemekatan / penguapan (Vaporasi dan Evaporasi)

Pemekatan berarti peningkatan jumlah partial solute (senyawa terlarut) secara penguapan pelarut tanpa sampai menjadi kondisi kering. Ekstrak hanya menjadi kental / pekat.

e. Pengerinan ekstrak

Pengerinan berarti menghilangkan pelarut dari bahan sehingga menghasilkan serbuk. Massa kering / rapuh tergantung proses dan peralatan yang digunakan.

f. Rendeman

Rendeman merupakan perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal.

2.4.2. Metode Ekstraksi (Depkes RI, 2000)

Terdapat beberapa cara untuk mendapatkan ekstraksi yang baik. Salah satunya yaitu ekstraksi menggunakan pelarut. Adapun cara – cara sebagai berikut :

1. Cara dingin

a. Maserasi

Maserasi merupakan proses pengesktrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperature ruangan (kamar). Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada kesimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinu (terus – menerus). Pemaserasi berarti dilakukan pengulangan –

penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserasi pertama, dan seterusnya.

b. Perkolasi

Perkolasi merupakan ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (exhaustive extraction) yang umumnya dilakukan pada temperature ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan / penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1 – 5 kali bahan.

2. Cara Panas

a. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperature titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relative konstan dengan adanya pendinginan balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3 – 5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna.

b. Soxhlet

Soxhlet merupakan ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relative konstan dengan adanya pendinginan balik.

c. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperature yang lebih tinggi dari temperature kamar, yaitu secara umum dilakukan pada temperature 40 - 50°C.

d. Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperature penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperature terukur 96 - 98°C) selama waktu tertentu (15 - 20°C).

e. Dekok

Dekok merupakan infus pada waktu yang lebih lama ($\geq 30^\circ\text{C}$) dan temperature sampai titik didih air.

2.5. Uji Aktivitas Antibakterial

Pada uji antibakteri diukur respon pertumbuhan populasi mikroorganisme terhadap agen antimikroba. Kegunaan uji antibakteri adalah diperolehnya suatu sistem pengobatan yang efektif dan efisien. Terdapat bermacam – macam metode uji antimikroba seperti berikut ini (Pratiwi, 2008):

1. Metode difusi

- a. Metode disc diffusion (tes 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

petumbuhan mikroorganismenya oleh agen antimikroba pada permukaan media agar.

- b. E-test digunakan untuk mengestimasi MIC atau KHM (kadar hambat minimum), yaitu konsentrasi minimal suatu agen mikroba untuk dapat menghambat pertumbuhan mikroorganismenya.

Pada metode ini digunakan strip plastik yang mengandung agen antimikroba dari kadar terendah hingga tertinggi dan diletakkan pada permukaan media agar yang telah ditanami mikroorganismenya. Pengamatan dilakukan pada area jernih yang ditimbulkannya yang menunjukkan kadar agen antimikroba yang menghambat pertumbuhan mikroorganismenya pada media agar.

- c. Ditch – plate technique

Pada metode ini sampel uji berupa agen antimikroba yang diletakkan pada parit yang dibuat dengan cara memotong media agar dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur dan mikroba uji (maksimum 6 macam) digoreskan ke arah parit yang berisi agen antimikroba.

- d. Cup – plate technique

Metode ini serupa dengan metode disc diffusion, dimana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganismenya dan pada sumur tersebut diberi agen antimikroba yang akan diuji.

e. Gradient – plate technique

Pada metode ini konsentrasi agen antimikroba pada media agar secara teoretis bervariasi dari 0 hingga maksimal. Media agar dicairkan dan larutan uji ditambahkan. Campuran kemudian dituang ke dalam cawan petri dan diletakkan dalam pose miring. Nutrisi kedua selanjutnya dituang di atasnya.

Plate diinkubasi selama 24 jam untuk memungkinkan agen antimikroba berdifusi dan permukaan media mengering. Mikroba uji (maksimal 6 macam) digoreskan pada arah mulai dari konsentrasi tinggi ke rendah. Hasil diperhitungkan sebagai panjang total pertumbuhan mikroorganisme maksimum yang mungkin dibandingkan dengan panjang pertumbuhan hasil goresan. Yang perlu diperhatikan adalah dari hasil perbandingan yang didapat dari lingkungan padat dan cair, faktor difusi agen mikroba dapat mempengaruhi keseluruhan hasil pada media padat.

2. Metode Dilusi

a. Dilusi Cair

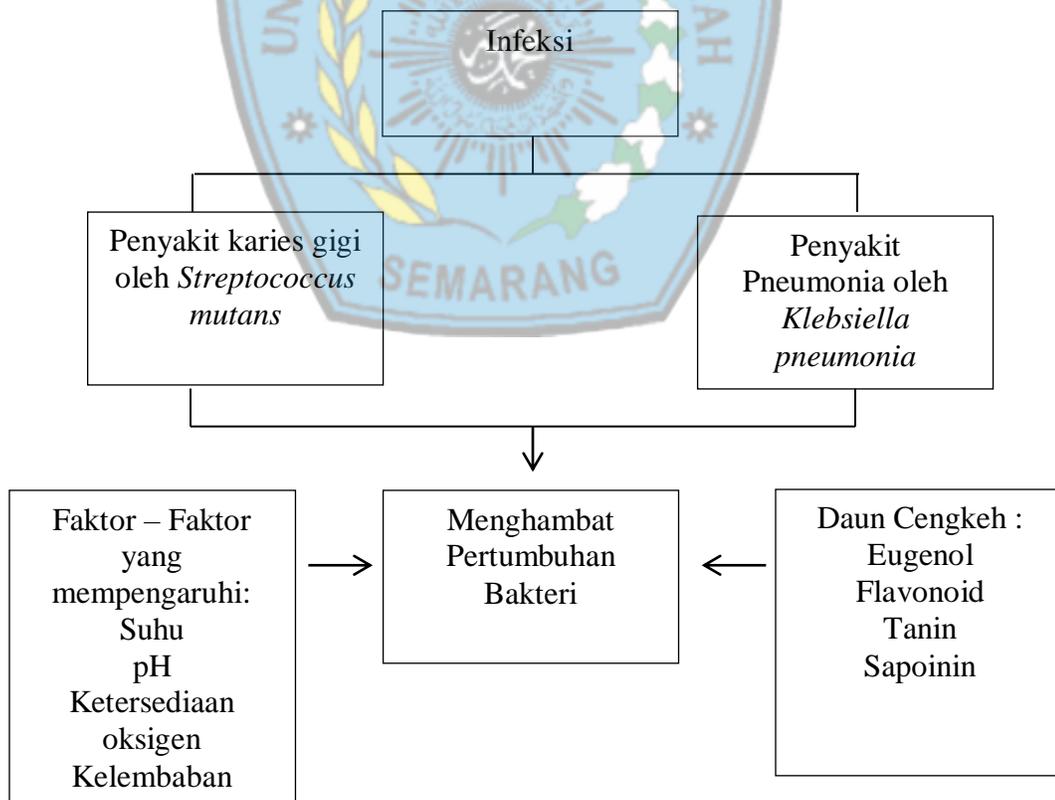
Metode ini dilakukan dengan cara membuat seri pengenceran dari agen antimikroba dalam media cair lalu ditambahkan mikroba uji yang dilihat pertumbuhan bakteri dari kekeruhan yang terjadi (Jawetz, 2005). Prinsip dari metode ini untuk mengukur Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) dari agen antimikroba. Suatu larutan antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih setelah penambahan

mikroba uji merupakan kadar hambat minimum dari agen anti mikroba. Larutan yang telah di tetapkan sebagai KHM ini kemudian dikultur lagi untuk mengetahui kadar bunuh minimum. KBM ditetapkan jika dari larutan tersebut tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri setelah diinkubasi pada media cair tanpa agen antimikroba (Pratiwi, 2008).

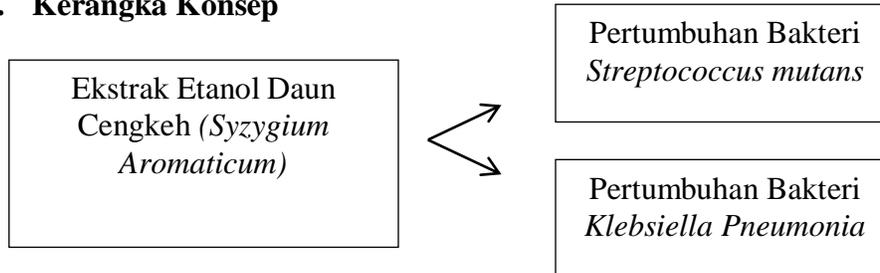
b. Dilusi padat

Pada prinsipnya metode ini hampir sama dengan metode dilusi cair, hanya saja metode ini menggunakan media padat (Pratiwi, 2008).

2.6. Kerangka Teori



2.7. Kerangka Konsep



2.8. Hipotesis

Ada pengaruh dengan variasi berat ekstrak etanol daun cengkeh terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dan *Klebsiella pneumonia*.



