

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Madu

Madu adalah sebuah produk herbal berupa larutan gula dengan kekentalan tinggi yang dihasilkan oleh lebah madu (*Apis mellifera*) yang diproses dari pengumpulan nektar dan getah tumbuh-tumbuhan berbagai tanaman kemudian disimpan sebagai madu di sarang lebah dalam wadah heksagonal (Hilda, 2016).

Madu efektif berperan dalam bidang pengobatan seperti untuk pengobatan luka, perawatan penyakit saluran pencernaan pada manusia, dan sebagai antibakteri (Jull, et al., 2008). Menurut Nemoseck, dkk. (2011), madu dapat digunakan sebagai pengganti gula karena rasanya yang manis, sehingga dapat menurunkan resiko terjadinya penyakit kardiovaskular.

a. Madu Randu

Madu randu merupakan madu monoflora atau madu yang berasal dari satu jenis bunga yaitu dihasilkan oleh lebah yang mengkonsumsi nektar dari tanaman randu. Madu randu umumnya memiliki aroma randu yang khas serta rasanya yang manis sedikit asam, warnanya cokelat terang, hal ini dipengaruhi oleh keadaan iklim di sekitar pohon randu tersebut (Chayati, 2008).



Gambar 2.1. Pohon Randu (Dokumentasi pribadi, Gembong, 07 April 2019)

Madu monoflora seperti madu randu memiliki kandungan air sebanyak 15% - 20% dan kandungan mineral sebanyak 0,2 gram dalam 100 gram madu (Ajibola, 2012; Nadhilla, 2014). Kandungan gizi yang terkandung dalam madu terdiri dari asam amino, karbohidrat, protein, serta berbagai jenis vitamin dan mineral merupakan zat gizi yang mudah diserap oleh sel-sel tubuh. Asam amino bebas yang dimiliki madu mampu membantu menyembuhkan penyakit dan antibiotiknya berguna untuk membunuh kuman patogen (Abdullah, 2008). Madu memiliki beberapa jenis kandungan enzim yang memiliki keuntungan untuk kesehatan manusia seperti enzim peroksidase, lipase, diastase, invertase, dan glukosa oksidase, namun aktivitas enzim tersebut dapat berkurang akibat proses pemanasan dan penyimpanan yang terlalu lama (Abdullah, 2008).

Madu dapat berperan sebagai agen antibakteri karena memiliki kandungan gula yang tinggi, pH yang relatif asam, kandungan protein yang rendah, dan terdapat senyawa hidrogen peroksida (H_2O_2) sehingga dapat membatasi jumlah air yang tersedia untuk menghambat pertumbuhan bakteri dan membunuh mikroorganisme patogen. Hidrogen peroksida dalam madu berasal dari reaksi oksidasi glukosa, oksigen, dan air sehingga untuk mendapatkan hidrogen peroksida pada madu maka diperlukan pengenceran dengan air (Ahuja, 2010).

Senyawa organik yang dimiliki madu seperti polifenol, flavonoid, inhibin, alkaloid, terpenoid, saponin dan glikosida juga memiliki sifat antibakteri dengan merusak integritas dinding sel bakteri. Senyawa inhibin dalam madu juga lebih sensitif terhadap bakteri Gram negatif daripada Gram positif (Rahman, et al., 2010).

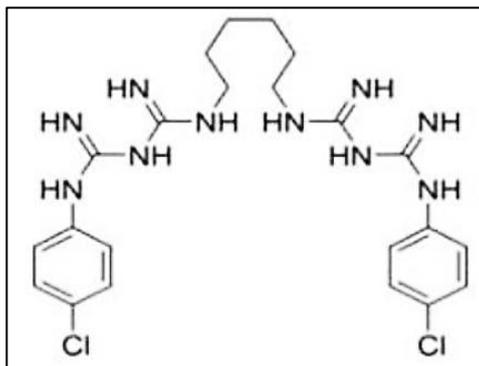
Flavonoid pada madu yang menghasilkan efek antibakteri memiliki berbagai macam jenis diantaranya apigenin, galangin, pinocembrin, quecetin, luteolin, isoflavans, flavonones, chalcones, epigallocatechin gallate dan derivatnya. Flavonoid mampu merusak membran sel bakteri dengan cara menghambat sintesis makromolekul, sintesis DNA, RNA, maupun protein. Flavonoid juga dapat mendepolarisasi membran sel. menghambat asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma, dan menghambat

metabolisme energi pada bakteri (Cushnie, et al., 2005; Dzoyem, et al., 2013).

Saponin yang terkandung dalam madu merupakan senyawa metabolik sekunder yang memiliki kemampuan antibakteri. Adanya antibakteri tersebut akan menghalangi pembentukan dan pengangkutan masing-masing komponen ke dinding sel yang mengakibatkan lemahnya struktur yang disertai dengan penghilangan dinding sel dan pelepasan isi sel yang akhirnya akan mematikan ataupun menghambat pertumbuhan sel bakteri tersebut (Prasetyo, et al., 2010). Senyawa terpenoid dalam madu juga dapat berkhasiat sebagai antibiotik dan fungisidal (Mahardhika, 2013).

2. Klorheksidin 0,2%

Klorheksidin merupakan golongan ikatan kimia biguanida bersifat fungisida dan bakterisida serta memiliki struktur molekul simetris yang terdiri dari empat cincin klorofenil dan dua biguanida yang dihubungkan oleh sebuah jembatan pusat heksametilen. Bentuk klorheksidin bervariasi seperti glukonat, diglukonat, asetat, dan garam hidroklorida. Klorheksidin biasa digunakan sebagai larutan antimikroba karena merupakan *gold standard* untuk pencegahan terbentuknya plak gigi karena menyerang bakteri Gram positif, Gram negatif, jamur, dan virus termasuk virus hepatitis B dan HIV (Balagopal, 2013).



Gambar 2.2. Struktur Rantai Klorheksidin (Denton, 1991)

Penelitian klinis yang dilaksanakan selama beberapa bulan menunjukkan menurunkan skor plak sebesar 45-61% dan mengurangi skor gingivitis sebesar 27-67% (Newman, et al., 2012). Hasil penelitian Fitriastuti (2008) menyatakan bahwa pemakaian larutan klorheksidin 0,2% sebagai obat kumur dua kali sehari dapat menghambat pembentukan plak secara efektif.

Kemampuan klorheksidin dalam mengikat bakteri seperti bakteriostatik dan bakteriosida tergantung dari konsentrasinya pada pH fisiologis. Pencegahan pembentukan plak terjadi akibat ikatan antara klorheksidin dengan molekul permukaan gigi melalui pembentukan lapisan pada permukaan gigi dalam waktu yang lama. Perlekatan itu akan terjadi selama 24 jam yang berarti sebanding dengan efek bakteriostatik (Balagopal, 2013).

Klorheksidin yang berikatan dengan fosfolipid membran bagian dalam bakteri menyebabkan peningkatan permeabilitas membran bagian dalam dan kebocoran senyawa dengan berat molekul rendah seperti ion kalium sehingga terjadi fase efek klorheksidin reversibel. Mekanisme kerja

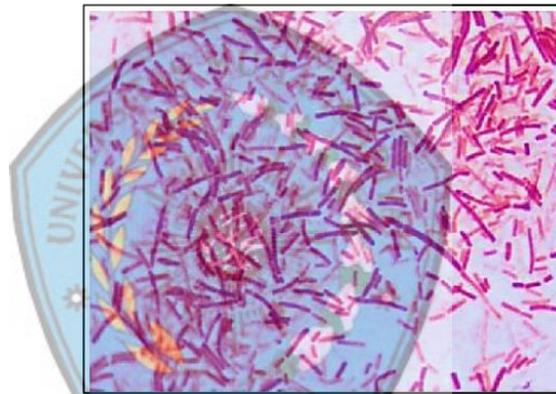
klorheksidin terjadi karena sel bakteri mengandung muatan negatif, sulfat, dan fosfat. Ion bermuatan positif pada klorheksidin tertarik dengan ion bermuatan negatif pada dinding bakteri melalui adsorpsi kuat dan spesifik pada kandungan senyawa fosfat. Kemudian terjadi perubahan integritas membran sel bakteri dan klorheksidin ditarik oleh membran sel bagian dalam. Konsentrasi klorheksidin yang meningkat akan menyebabkan kerusakan membran sel bakteri. Klorheksidin mengikat fosfolipid di dalam membran dan menyebabkan kebocoran senyawa dengan molekul rendah seperti ion potasium. Kemudian sitoplasma sel secara kimia mengalami presipitasi dan terjadi koagulasi dari pembentukan kompleks fosfat termasuk adenosin trifosfat dan asam nukleat, sehingga menyebabkan tahap bakterisida ireversibel terjadi (Mathur, et al., 2011).

Kekurangan dari obat kumur klorheksidin adalah obat kumur antibakteri klorheksidin yang digunakan dengan berlebihan dapat menyebabkan perubahan warna pada gigi dan beberapa bahan restorasi serta bagian dorsal lidah, mengubah kecap rasa, meningkatkan pembentukan kalkulus supragingiva karena terjadi presipitasi protein saliva pada permukaan gigi dan atau presipitasi garam anorganik pada lapisan pelikel sehingga ketebalan pelikel meningkat, serta menyebabkan kekeringan pada mukosa mulut (Gupta, 2012)

3. *Porphyromonas gingivalis*

Porphyromonas gingivalis merupakan bakteri Gram negatif obligat anaerob nonspora yang tidak memiliki alat gerak atau non motil. Bakteri

berbentuk batang pendek dan berpigmen hitam ini juga bersifat asakarolitik, pleomorfik, dan melanogenik (Kusumawardani, 2010). Bakteri *Porphyromonas gingivalis* memiliki lapisan dinding sel yang lebih kompleks dibandingkan bakteri Gram positif yaitu secara struktur dinding bakteri Gram negatif mengandung dua lapisan eksternal pada membran sitoplasma dan tiga komponen yang terletak pada lapisan luar yaitu peptidoglikan, lipoprotein, dan lipopolisakarida (Wakabayashi, dkk., 2009)



Gambar 2.3. Bakteri *Porphyromonas gingivalis* dengan Perbesaran 1000x (Fitriyana, dkk., 2013)

Klasifikasi bakteri *Porphyromonas gingivalis* adalah sebagai berikut

(Henderson, et al., 2009):

Kingdom : *Bacteria*

Superfilum : *Bacteroidetes/Chlorobi group*

Filum : *Bacteroidetes*

Kelas : *Bacteroidetes*

Orde : *Bacteroidales*

Famili : *Porphyromonadaceae*

Genus : *Porphyromonas*

Spesies : *Porphyromonas gingivalis*

Porphyromonas gingivalis memiliki habitat utama pada daerah subgingiva terutama pada daerah subgingiva penderita periodontitis, selain itu juga ditemukan di daerah lidah, gingiva, membran mukosa bukal dan tonsil (Samaranayake, 2012). Bakteri *Porphyromonas gingivalis* banyak ditemukan dalam plak gigi dan dapat menyebabkan perubahan patologis jaringan periodontal dengan mengaktifkan respon imun dan inflamatori *host* yang secara langsung mempengaruhi sel-sel periodonsium (Kumada, et al., 2008).

Bakteri *Porphyromonas gingivalis* memiliki faktor patogen seperti fimbriae, hemagglutinin, kapsul, lipopolisakarida, vesikel membran luar, dan berbagai metabolik organik. Lipopolisakarida yang merupakan faktor utama terjadinya perkembangan penyakit periodontitis. Lipopolisakarida menginduksi sitokin proinflamasi seperti IL-1 β , IL-6, dan IL-8 yang menyebabkan terjadinya kerusakan jaringan periodontal. Faktor virulensi patogenik selain lipopolisakarida yang dimiliki bakteri *Porphyromonas gingivalis* adalah hidrogen sulfida yang dapat menginduksi pejamu untuk melepaskan IL-1 dan TNF- α (Kato, et al., 2014).

4. Periodontitis

Periodontitis merupakan inflamasi pada jaringan pendukung gigi yang disebabkan oleh bakteri spesifik yang mengakibatkan destruksi pada ligamen periodontal dan tulang periodontal dengan peningkatan

kedalaman poket gingiva, resesi gingiva atau keduanya (Newman, et al., 2012).

Penyakit periodontal diklasifikasikan menjadi tiga tipe yaitu periodontitis kronis, periodontitis agresif, dan periodontitis sebagai manifestasi dari penyakit sistemik (Eley, 2013). Penyebab inflamasi gingiva pada periodontitis adalah bakteri plak subgingiva yang meliputi bakteri anaerob Gram negatif seperti *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Selenomonas*, dan *Campylobacter*, serta bakteri anaerob Gram negatif fakultatif seperti *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Capnocytophaga*, dan *Eikenella corrodens* (Suwandi, 2010).

Tanda dan gejala awal periodontitis adalah gingivitis atau inflamasi gingiva yang ditandai dengan peningkatan kadar *polymorphonuclear leukocyte* (PMN) yang diakibatkan oleh invasi bakteri pada gingiva. Peningkatan leukosit PMN akan meningkatkan radikal bebas dalam proses fagositosis bakteri yang akan menimbulkan kerusakan lebih lanjut. Gingivitis pada tahap lanjut ditandai dengan adanya dominasi sel limfosit, tetapi masih terdapat migrasi neutrofil, dan makrofag, sedangkan pada gingivitis kronis terjadi peningkatan kadar sel plasma, limfosit B, dan makrofag (Shafie, 2011; Newman, 2012).

Kerusakan jaringan periodontal diakibatkan oleh virulensi patogenik bakteri *Porphyromonas gingivalis* yaitu lipopolisakarida yang menginduksi sitokin proinflamasi seperti IL-1 β , IL-6, dan IL-8 sehingga

jaringan periodontal rusak. Sel ligamentum periodontal induk (*Periodontal Ligament Stem Cells*) mempunyai peran penting dalam regenerasi jaringan periodontal yang diharapkan mempunyai terapi seluler untuk periodontitis (Kato, et al, 2014).

Perawatan penyakit periodontal meliputi beberapa fase yaitu fase non-bedah, bedah, restoratif, dan pemeliharaan. Fase pertama atau non bedah (*non-surgical*) merupakan fase terapi inisiasi meliputi kontrol plak secara komprehensif, menghilangkan plak dan kalkulus dengan *scalling* dan *root planing*, mengoreksi restorasi yang rusak, perawatan lesi karies, terapi antimikroba, *splinting*, dan *occlusal adjustment*. Pada fase kedua atau bedah (*surgical*) yang dilakukan adalah penempatan implan dan terapi endodontik. Pada fase ketiga atau restoratif yaitu restorasi akhir, pemakaian alat prostodontik cekat dan lepasan, evaluasi prosedur restorasi, dan pemeriksaan jaringan periodontal. Pada fase keempat atau pemeliharaan (*maintenance*) yaitu dilakukan dengan memeriksa kembali plak dan kalkulus, keadaan poket dan inflamasi gingiva, oklusi dan mobilitas, serta perubahan patologis (Newman, 2012).

5. Metode Uji Bakteri

Kerentanan bakteri patogen terhadap obat-obatan antibakteri dapat ditentukan melalui pengukuran dengan metode :

a. Metode Dilusi

Metode dilusi ini memiliki keuntungan yaitu memungkinkan adanya suatu hasil yang kuantitatif yaitu menentukan Konsentrasi

Hambat Minimum (KHM) atau Konsentrasi Bakterisidal/Bunuh Minimum (KBM) dari antibakteri terhadap bakteri yang diujikan. Metode dilusi ini dilakukan dengan mencampurkan sejumlah obat antibakteri tertentu pada bakteri-bakteri yang cair atau padat, kemudian *diinokulasi* dengan kultur bakteri yang diperiksa. Pada tahap terakhir, antibakteri dilarutkan dengan kadar yang menghambat dan mematikan. Larutan uji agen antibakteri pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan bakteri uji ditetapkan sebagai KHM. Larutan tersebut lalu dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan bakteri uji maupun agen antibakteri dan diinkubasi selama 18-24 jam dan media cair yang tetap jernih ditetapkan sebagai KBM. Metode dilusi dibedakan menjadi dua yaitu dilusi cair dan dilusi padat (Pratiwi, 2008).

1) Metode dilusi cair (*Broth dilution test*)

Metode ini dilakukan dengan mengukur Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bakterisidal Minimum (KBM). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat pengenceran agen antibakteri pada medium cair yang ditambahkan dengan bakteri uji (Pratiwi, 2008).

2) Metode dilusi padat (*Solid dilution test*)

Metode ini hampir sama dengan metode dilusi cair namun pada metode dilusi padat menggunakan media yang padat (*solid*). Keuntungan metode ini adalah dapat digunakan untuk menguji

beberapa bakteri uji meskipun menggunakan satu konsentrasi agen antibakteri yang diuji (Pratiwi, 2008).

b. Metode Difusi

Metode difusi ini merupakan metode yang sering dipakai. Cakram kertas saring yang berisi antibakteri ditempatkan pada permukaan medium padat yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji pada permukaannya. Metode ini dilakukan dengan menanam bakteri pada media agar padat yang kemudian di atasnya dibuat sumuran lalu diisi bahan uji dan diinkubasi selama 18-24 jam. Setelah proses inkubasi, diameter zona hambat sekitar cakram digunakan untuk mengukur kekuatan hambat obat terhadap bakteri uji (Jawetz, dkk., 2008). Metode difusi dibagi menjadi metode *disc diffusion* dan metode sumuran (Pratiwi, 2008).

1) Metode *disc diffusion* (tes Kirby dan Bauer)

Metode *disc diffusion* dilakukan dengan menggunakan cakram yang berfungsi sebagai tempat menentukan agen antibakteri. Cakram yang berisi agen antibakteri diletakkan pada media agar yang telah ditanami bakteri yang akan berdifusi pada media agar. Menurut Kirby dan Bauer terdapat dua macam zona hambat yang terbentuk :

a) Zona radikal

Zona radikal merupakan daerah yang tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri di sekeliling *disc*. Aktivitas

antibakteri dapat diukur pada diameter zona radikal (Pratiwi, 2008).

b) Zona irradikal

Zona irradikal merupakan daerah yang terdapat pertumbuhan bakteri di sekeliling *disc* dan dapat dihambat oleh antibakteri tetapi tidak mematikan bakteri. Uji *disc diffusion* dilakukan dengan mengukur diameter *clear zone* (zona bersih/jernih yang tidak memperlihatkan pertumbuhan bakteri di sekeliling senyawa antibakteri) pada permukaan media agar dengan menggunakan penggaris. Keadaan ini merupakan indikasi adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri (Pratiwi, 2008).

Kemampuan suatu zat dalam menghambat pertumbuhan bakteri memiliki beberapa kriteria seperti dalam tabel berikut:

Tabel 2.1. Klasifikasi Respon Hambatan Pertumbuhan Bakteri (Pan, dkk., 2009)

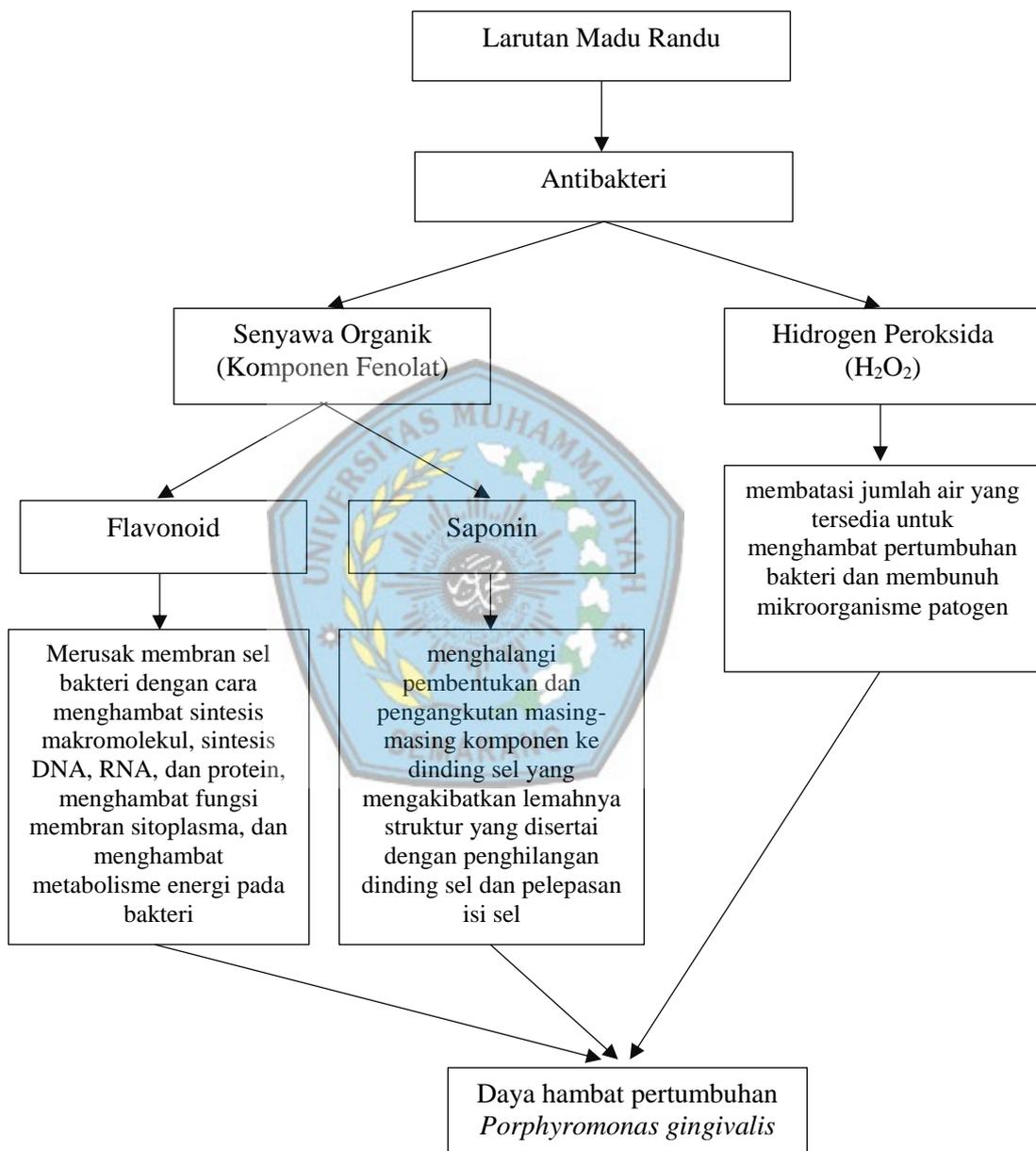
Diameter Zona Terang	Respon Hambatan Pertumbuhan
0 – 3 mm	Lemah
3 – 6 mm	Sedang
>6 mm	Kuat

2) Metode sumuran

Metode sumuran serupa dengan metode *disc diffusion*, dibuat sumur pada media agar yang telah dikultur dengan bakteri, dan pada sumur tersebut diberi agen antibakteri yang akan diuji (Pratiwi, 2008).

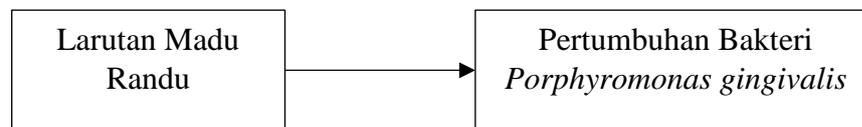
B. Kerangka Teori

Berdasarkan tinjauan pustaka, berikut adalah kerangka teori dari penelitian ini:



Gambar 2.4. Kerangka Teori Penelitian

C. Kerangka Konsep



Gambar 2.5. Kerangka Konsep Penelitian

D. Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah :

1. Larutan madu randu dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*.
2. Larutan madu randu lebih dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* daripada klorheksidin 0,2%.

