

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. DASAR TEORI

1. Karies

Karies merupakan suatu penyakit jaringan keras gigi, yaitu pada email, dentin dan sementum, yang disebabkan oleh aktivitas suatu jasad renik dalam suatu karbohidrat yang dapat diragikan (Edwina & Joyston, 1992). Proses karies dimulai dalam biofilm atau plak gigi. Pembentukan biofilm cenderung matang di lokasi tertentu pada gigi, terutama permukaan oklusal, Permukaan serviks approximal ke titik kontak dan sepanjang margin gingiva. Jadi ini adalah tempat dimana lesi karies dapat terlihat (Kidd & Fejerskov, 2008).

Proses karies terdiri dari tahap-tahap reversible. Mikroflora pada permukaan enamel klinis berisi non-mutan seperti *streptococcus* dan *actinomyces*, dimana proses pengasaman terjadi secara ringan dan jarang. Hal ini sesuai dengan keseimbangan demineralisasi/remineralisasi (tahap stabilitas dinamis). Ketika gula menjadi sering disuplai, pengasaman berubah menjadi moderat. Hal ini dapat meningkatkan asidogenik dan asidurasi non-bakteri mutans adaptif. Dalam kondisi asam yang berlebih dan berkepanjangan, bakteri lebih bersifat asam dominan. Melalui asam yang diinduksi sementara oleh penghambat pertumbuhan asam (stadium asidurik) (Kidd & Fejerskov, 2008).

2. Plak

Plak merupakan suatu deposit lunak yang terdiri atas kumpulan bakteri yang berkembang biak di dalam lapisan suatu matrik intraseluler yang terdiri dari polisakarida ekstraseluler (Samaranayake, 2006). Plak biasanya terbentuk pada sepertiga permukaan gingival dan apabila plak telah menumpuk, plak akan terlihat berwarna abu-abu, kekuningan dan kuning. (Manson, 1993 ; Megananda *et al.*, 2009).

Mekanisme pembentukan plak terdiri dari dua tahap yaitu tahap pembentukan lapisan *acquired pellicle* dan tahap proliferasi bakteri. *Acquired pellicle* merupakan deposit selapis tipis dari protein saliva terdiri dari glikoprotein yang terbentuk beberapa detik setelah menyikat gigi. Setelah pembentukan *acquired pellicle*, bakteri mulai berproliferasi disertai dengan pembentukan matriks inter bakterial yang terdiri dari polisakarida ekstraseluler. Polisakarida ini terdiri dari levan, dextran, protein saliva dan hanya bakteri pembentuk polisakarida ekstraseluler yang dapat tumbuh, yakni *Streptococcus mutans*, *Streptococcus bovis*, *Streptococcus sanguis* dan *Streptococcus salivarius*, sehingga pada 24 jam pertama terbentuklah lapisan tipis yang terdiri dari jenis *coccus*. Bakteri tidak membentuk suatu lapisan yang kontinyu diatas permukaan *acquired pellicle* melainkan suatu kelompok-kelompok kecil yang terpisah, suasana lingkungan pada lapisan plak masih bersifat aerob sehingga hanya mikroorganisme aerobik dan fakultatif yang dapat tumbuh dan berkembang biak (Manson, 1993 ; Caranza, 2006).

Bakteri-bakteri dalam plak yang melekat pada permukaan gigi utamanya *Streptococcus* dan *Lactobasilus* akan memetabolisme sisa makanan yang bersifat kariogenik terutama yang berasal dari jenis karbohidrat yang *fermentable*, seperti sukrosa, glukosa, fruktosa, maltose. Gula ini mempunyai molekul yang kecil dan mempunyai berat yang rendah sehingga mudah meresap dan dimetabolisme oleh bakteri, hasil metabolisme oleh bakteri tersebut selain dapat menghasilkan asam juga menghasilkan polisakarida ekstraseluler dan polisakarida intraseluler, alkohol dan CO₂. Selain dihasilkan oleh *Streptococcus* dan *Lactobasilus*, asam dan polisakarida ekstraseluler dan intraseluler juga dihasilkan oleh *Stapylococcus*, *Neisseria*, *Enterococcus*, akan tetapi bakteri ini tidak tahan hidup dalam lingkungan asam dan hanya dapat hidup sampai pH 6 – 6,5, sedangkan *Streptococcus* dapat tahan sampai pH 4,5 dan *Lactobacilus* dapat tahan sampai pH 4. *Streptococcus* dan *Lactobasilus* selain asidogenik juga bersifat asidurik (Edwina & Joyston, 1992).

Asam yang paling banyak dihasilkan adalah asam laktat, selain itu juga asam piruvat, asam asetat, asam propionate dan asam formiat. Asam yang terbentuk dari hasil metabolisme ini selain dapat merusak gigi, juga dipergunakan oleh bakteri untuk mendapatkan energi. Asam – asam ini akan dipertahankan oleh plak permukaan email dan akan mengakibatkan turunnya pH di dalam plak dan pada permukaan email sampai 5,2 – 5,5 (pH kritis) dalam waktu 1-3 menit, tetapi adapula yang mengatakan bahwa *Streptococcus* untuk menurunkan pH permukaan email menjadi pH 6,0 – 5,0 membutuhkan waktu kurang dari 13 menit. Plak akan bersifat asam untuk beberapa waktu dan akan kembali ke pH normal (pH 7)

dibutuhkan waktu 30-60 menit. Pada seseorang yang terlalu sering mengonsumsi gula dan terus-menerus maka pH akan tetap dibawah pH normal, dalam waktu tertentu akan mengakibatkan terjadinya demineralisasi dari permukaan email yang rentan diikuti dengan terjadinya pelarutan kalsium dan fosfat dari email, selanjutnya akan terjadi kerusakan / destruksi email sehingga terjadilah karies gigi (Megananda *et al.*, 2009 ; Semaranayake, 2009). *Streptococcus* mempunyai sifat-sifat kariogenik yang memegang peranan utama dalam proses karies gigi. *Streptococcus* memfermentasi berbagai jenis karbohidrat menjadi asam sehingga mengakibatkan turunnya pH. *Streptococcus* membentuk dan menyimpan polisakarida intraseluler dari berbagai jenis karbohidrat kemudian polisakarida simpanan ini dapat dipecah kembali oleh bakteri tersebut apabila karbohidrat eksogen berkurang, sehingga asam akan terus menerus terbentuk. *Streptococcus* juga memiliki kemampuan untuk membentuk polisakarida ekstraseluler (dekstran dan levan) yang menyebabkan sifat adesif dan kohesif dari plak (Edwina & Joyston, 1992).

3. Morfologi *Streptococcus mutans*

Streptococcus merupakan bakteri gram-positif berbentuk bulat yang mempunyai karakteristik dapat membentuk pasangan atau rantai selama pertumbuhannya. *Streptococcus mutans* merupakan flora normal dalam mulut manusia, bakteri gram positif, bakteri anaerob fakultatif (Pratama, 2005). *Streptococcus* termasuk kelompok bakteri yang heterogen (Geo & Janet, 2005). *Streptococcus mutans* merupakan bakteri yang bersifat *non motil* (tidak bergerak), berdiameter 1-2 μm dan tidak membentuk spora (Manton, 2010). Potensi

kariogenik *Streptococcus mutans* berhubungan dengan kemampuannya untuk memetabolisme berbagai gula, membentuk biofilm yang kuat, menghasilkan asam laktat dalam jumlah yang berlebih, dan berkembang dalam lingkungan asam (Argimón & Caufield, 2011).



Gambar 1. Morfologi *Streptococcus mutans*

Sumber : <http://www.freewebs.com> (Manton, 2010)

Klasifikasi *Streptococcus mutans* menurut Bergey (1998 cit Pratama, 2005)

adalah :

Kingdom : *Monera*

Divisio : *Firmicutes*

Class : *Bacilli*

Order : *Lactobacilalles*

Family : *Streptococcaceae*

Genus : *Streptococcus*

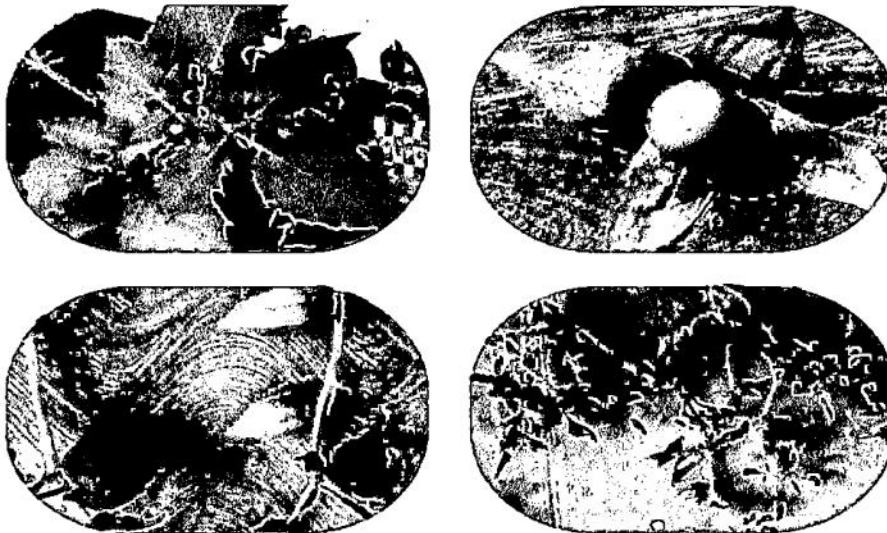
Species : *Streptococcus mutans*

Bakteri ini pertama kali diisolasi dari plak gigi oleh Clark pada tahun 1924 yang memiliki kecenderungan berbentuk kokus dengan formasi rantai panjang apabila ditanam pada medium yang diperkaya seperti pada *Brain Heart Infusion*

(BHI) *Broth*, sedangkan bila ditanam di media agar akan memperlihatkan rantai pendek dengan bentuk sel tidak beraturan. *Streptococcus mutans* tumbuh dalam suasana fakultatif anaerob (Gronroos *et al.*, 1998).

Streptococcus mutans mempunyai suatu enzim yang disebut glucosyl transferase diatas permukaannya yang dapat menyebabkan polimerisasi glukosa pada sukrosa dengan pelepasan dari fruktosa, sehingga dapat mensintesa molekul glukosa yang sifatnya sangat lengket, sehingga tidak larut dalam air. Hal ini dimanfaatkan oleh bakteri *Streptococcus mutans* untuk berkembang dan membentuk plak gigi. Hal ini merupakan tahap pembentukan kavitas atau lubang pada gigi yang disebut dengan karies gigi (Kidd & Fejerskov, 2008; Samaranayake, 2006).

4. Tanaman Ciplukan (*Physalis angulata* L.)



Gambar 2. Tanaman Ciplukan

a. Nama Tanaman Ciplukan (*Physalis angulata* L.)

Physalis angulata L. dikenal dengan nama: (Jawa) ceplukan, ceplokan, ciplukan, ceplukan cina, ciciplukan, (Sumatera Timur) lelelep, (Sunda) cecendet, cecendetan, cecenetan, (Madura) nyornyoran, yoryoran, (Bali) kopok-kopokan, (Minahasa) leletokan, (Sasak) kenampok dan nama lainnya seperti daun kopi-kopi, daun loto-loto, padang rase, dededes dan daun boba (Agoes, 2010).

b. Morfologi dan Habitat Tanaman Ciplukan (*Physalis angulata* L.)

Di Jawa tanaman ini umum tumbuh dari dataran rendah hingga kurang lebih 1550 m di atas permukaan laut (terutama dibawah 1200 m) di lapangan yang tidak berair, yang ternaungi ringan atau tersinari sebagai gulma pada ladang-ladang dan di kebun-kebun, di semak-semak, di tepi-tepi jalan (Heyne, 1987). Batang berusuk bersegi tajam, berongga. Helaiian daun bulat telur memanjang bentuk lanset, dengan ujung runcing, bertepi rata atau tidak, tangkai bunga tegak, kelopak bercelah 5, mahkota bentuk lonceng lebar kuning muda dengan pangkal hijau. Buahnya ditutupi oleh kelopak, buah buni bulat memanjang, pada waktu masak kuning, dapat dimakan (Sudarsono, *et al.*, 2002).

Tanaman ciplukan (*Physalis angulata* L.) memiliki klasifikasi lengkap sebagai berikut:

Divisio : *Spermatophyta*

Sub divisio : *Angiospermae*

Classis : *Dicotyledoneae*

Sub classis : *Sympetalae*

Familia : *Tubiflorae (Solanales, Personatae)*

Ordo : *Solanaceae*
Genus : *Physalis*
Species : *Physalis angulata* L.

(Steenis, 1997).

c. Kandungan Kimia Tanaman Ciplukan (*Physalis angulata* L.)

Tanaman ciplukan mengandung senyawa kimia, asam malat, asam sitrat, alkaloid, tanin, kriptoxantin, asam elaidik (pada biji), vitamin C, dan gula (Kusuma & Zaky, 2005). Physalin merupakan suatu sekosteroid (turunan lemak sterol) (Januário *et al.*, 2000) dan banyak ditemukan di bagian herba terutama batang dan daun *Physalis angulata* L. Menurut Sudarsono *et al.*, (2002), komposisi detail pada bagian tanaman *Physalis angulata* L. di antaranya: Herba : Fisalin B, Fisalin D, Fisalin F, Withangulatin A ; akar : alkaloid; daun : glikosida flavonoid (luteolin); tunas : flavonoid dan saponin. Buah : asam malat, tannin, alkaloid, kriptoxantin, vitamin C dan gula, sedangkan bijinya mengandung asam elaidik (Agoes, 2010). *Physalin* B termasuk dalam kategori steroid, lakton yang memiliki rumus kimia $C_{28}H_{30}O_9$. *Physalin* B juga diketahui mempunyai sifat antimikroba, pada beberapa penelitian telah ditemukan kemampuan *physalin* B dapat menghambat *S. aureus* (Silva *et al.*, 2005). Senyawa flavonoid adalah senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon (Robinson, 1991). Flavonoid merupakan senyawa fenol alam yang terdapat dalam hampir semua tumbuhan dari bangsa alga hingga gimnospermae (Mursyidi, 1989). Flavonoid yang merupakan senyawa dari polifenol ternyata mempunyai efek antimikroba yang nyata (Toda *et al.*, 1991).

d. Kandungan Zat Aktif Buah Ciplukan (*Physalis angulata* L.)

Menurut Bastos *et al.*, (2006) buah dari *Physalis angulata* L. memiliki steroid yang dikenal sebagai *physalin*, *physagulin* dengan anolides dan flavonoid. Efek penghambatan ekstrak *Physalis angulata* L. pada *Staphylococcus aureus* bisa disebabkan oleh senyawa fitokimia bioaktif yang diketahui memiliki antibakteri. *Physalis angulata* L. mengandung saponin, flavonoid, dan polifenol. Buah ciplukan mengandung senyawa aktif antara lain saponin, flavonoid, tannin, kriptoxantin, vitamin C dan gula (Agoes, 2010). Kandungan zat aktif pada buah ciplukan yang memiliki antibakteri adalah flavonoid dan tannin (Sabir, 2003; Bruneton, 1999). Kulit buah mengandung senyawa $C_{27}H_{44}O_2 \cdot H_2O$. Cairan buah ciplukan mengandung zat gula, dan biji ciplukan mengandung asam elaidat (Dalimartha, 2006).

Salah satu kandungan dari buah ciplukan (*Physalis angulata* L.) adalah flavonoid. Senyawa flavonoid adalah senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon (Robinson, 1991). Flavonoid merupakan senyawa fenol alam yang terdapat dalam hampir semua tumbuhan dari bangsa alga hingga gimnospermae (Mursyidi, 1989). Flavonoid yang merupakan senyawa dari polifenol ternyata mempunyai efek antimikroba yang nyata (Toda *et al.*, 1991). Flavonoid merupakan salah satu senyawa fenol alami yang tersebar luas pada tumbuhan, yang disintesis dalam jumlah sedikit (0,5–1,5%) dan dapat ditemukan pada hampir semua bagian tumbuhan. Aktivitas biologis dan farmakologis dari senyawa flavonoid sangat beragam, salah satu diantaranya yakni memiliki aktivitas antibakteri (Sabir, 2005). Flavonoid merupakan kelompok dari fitokimia

fenolik yang berfungsi sebagai peredam radikal bebas yang sangat kuat dan membantu mencegah penyakit yang berhubungan dengan stress oksidatif serta memiliki aktivitas antimikroba, antikarsinogenik, antiplatelet, antiiskemik, antialergi dan antiinflamasi (Rahmawati, 2009).

Flavonoid mempunyai aktivitas penghambatan lebih besar terhadap bakteri gram positif antara lain adalah bakteri *MRSA*, hal ini dikarenakan senyawa flavonoid merupakan bagian yang bersifat polar sehingga lebih mudah menembus lapisan peptidoglikan yang bersifat polar daripada lapisan lipid yang nonpolar, sehingga menyebabkan aktivitas penghambatan pada bakteri gram positif lebih besar daripada bakteri gram negatif. Aktivitas penghambatan dari kandungan flavonoid pada bakteri gram positif menyebabkan terganggunya fungsi dinding sel sebagai pemberi bentuk sel dan melindungi sel dari lisis osmotik. Dengan terganggunya dinding sel akan menyebabkan lisis pada sel (Dewi, 2010). Flavonoid dapat di ekstraksi dengan etanol 70 % dan tetap ada dalam lapisan air setelah ekstrak ini dikocok dengan eter (Harborne, 2006).

Tanin secara umum didefinisikan sebagai senyawa polifenol yang memiliki berat molekul cukup tinggi (lebih dari 1000) dan dapat membentuk kompleks dengan protein. Berdasarkan strukturnya, tanin dibedakan menjadi dua kelas yaitu tanin terkondensasi (*condensed tannins*) dan tanin-terhidrolisiskan (*hydrolysable tannins*) (Harborne, 2006). Tanin memiliki peranan biologis yang kompleks. Hal ini dikarenakan sifat tanin yang sangat kompleks mulai dari pengendap protein hingga pengkhelet logam, sehingga efek yang disebabkan tanin tidak dapat diprediksi. Tanin digunakan sebagai antidiare, vasokonstriktor,

antiseptik, antibakteri, antifungi, dan adstringensia (Bruneton, 1999). Tanin juga dapat berfungsi sebagai antioksidan biologis. Maka dari itu semua penelitian tentang berbagai jenis senyawa tanin mulai dilirik para peneliti sekarang (Hagerman, 2002).

Harborne (2006) mengatakan bahwa tanin yang terkandung dalam ekstrak akan mengganggu sel pada bakteri patogen dalam penyerapan protein oleh cairan sel, hal ini dapat terjadi karena tanin dapat menghambat proteolitik yang berperan menguraikan protein menjadi asam amino. Tanin juga bersifat toksik bagi mikroba dalam tiga mekanisme yaitu penghambatan enzim dan substrat oleh mikroba, mengganggu membran dan menghambat penggunaan ion logam oleh mikroba (Shahidi, 2007). Senyawa aktif dalam tanaman obat tertentu kemungkinan berupa tanin beberapa penelitian membuktikan bahwa tanin mempunyai aktifitas antibakteri dan antimikrobia.

Saponin adalah jenis glikosida yang banyak ditemukan dalam tumbuhan. Saponin memiliki karakteristik berupa buih. Sehingga ketika direaksikan dengan air dan dikocok maka akan terbentuk buih yang dapat bertahan lama. Saponin mudah larut dalam air dan tidak larut dalam eter. Menurut Lacaille-Dubois dan Wagner (1996) aktivitas spesifik saponin meliputi aktivitas yang berhubungan dengan kanker seperti sitotoksik, antitumor, kemopreventif, antimutagen, dan yang menyangkut aktivitas antitumor, antiinflamatori dan antialergenik, imunomodulator, antivirus, antihepatotoksik, antidiabetes, antifungi, dan molusisidal. Senyawa saponin dapat melakukan mekanisme penghambatan dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan membran sel melalui ikatan

hidrogen, sehingga dapat menghancurkan sifat permeabilitas dinding sel dan akhirnya dapat menimbulkan kematian sel (Noer *et al.*, 2006).

Alkaloida merupakan senyawa bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, bersifat optis aktif. Kebanyakan alkaloid berbentuk kristal dan hanya sedikit yang berupa cairan pada suhu kamar. Sebagian besar alkaloid berasa pahit. Alkaloid sering kali beracun bagi manusia dan banyak yang mempunyai kegiatan fisiologi yang menonjol, jadi banyak digunakan secara luas dalam bidang pengobatan (Harborne, 2006). Menurut Juliantina (2008), senyawa alkaloid memiliki mekanisme penghambatan dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Selain itu, menurut Gunawan (2009), menyatakan bahwa di dalam senyawa alkaloid terdapat gugus basa yang mengandung nitrogen akan bereaksi dengan senyawa asam amino yang menyusun dinding sel bakteri dan DNA bakteri. Reaksi ini mengakibatkan terjadinya perubahan struktur dan susunan asam amino sehingga akan menimbulkan perubahan keseimbangan genetik pada rantai DNA sehingga akan mengalami kerusakan akan mendorong terjadinya lisis sel bakteri yang akan menyebabkan kematian sel pada bakteri.

Polifenol merupakan inti benzen yang mempunyai gugus hidroksi lebih dari satu. Senyawa-senyawa polifenol sederhana, misalnya hidrokuion, resorsinol, dan pirokatekol. Polifenol jarang ditemukan dalam tumbuhan tinggi. Senyawa-senyawa yang paling banyak ditemukan adalah arbutin dan metil eter (Manitto, 1992). Senyawa polifenol merupakan bahan polimer paling penting

dalam tumbuhan dan cenderung mudah larut dalam air karena berikatan dengan gula sebagai glikosida (Harborne, 2006).

5. Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan menyaring senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian hampir semua pelarut diuapkan dengan masa atau serbuk yang terisi diperlakukan sedemikian rupa sehingga memenuhi baku (target) yang lebih di tetapkan (Depkes RI, 2000). Pada pembuatan ekstrak ini menggunakan pelarut etanol dengan metode maserasi. Etanol merupakan cairan jernih, tidak berwarna, mudah menguap, dan berbau khas, mudah terbakar dan dapat bercampur dengan air, eter, kloroform, dan hampir semua alkohol. Etanol dapat melarutkan alkaloida basa, minyak menguap, glikosida, atrakinon, Flavonoid, steroid, dammar dan klorofil (Depkes RI, 1989). Etanol 70% sering dapat menghasilkan suatu hasil bahan aktif yang optimal dimana bukan pengotor hanya dalam skala kecil larutan dalam cairan pengekstraksi (Voigt, 1995)

Maserasi adalah cara ekstraksi yang paling sederhana. Bahan simplisia yang dihaluskan sesuai dengan syarat farmakope (umumnya terpotong-terpotong atau berupa serbuk kasar) disatukan dengan bahan pengekstraksi. Selanjutnya rendaman tersebut disimpan terlindung cahaya langsung (mencegah reaksi yang dikatalis cahaya atau perubahan warna) dan dikocok berulang-ulang (kira-kira 3 kali sehari). Waktu lamanya maserasi berbeda-beda, masing-masing farmakope mencantumkan 4-10 hari. Secara teoritis pada suatu maserasi tidak memungkinkan terjadinya ekstraksi absolut. Semakin besar perbandingan

simplisia terhadap cairan pengekstraksi, akan semakin banyak hasil yang diperoleh (Voight, 1995).

Maserasi merupakan suatu metode ekstrak yang dilakukan dengan serbuk simplisia dalam cairan penyari. Kemudian cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk kedalam rongga sel yang mengandung zat aktif dan akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam dan di luar sel, maka larutan terpekat didesak keluar. Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan sederhana dan mudah diusahakan, sedangkan kerugian maserasi adalah pengerjaannya lama, penyariannya kurang sempurna dan konsentrasi yang didapat kira-kira-kira 1/4 dari bahan kering (Utami, 2010).

6. Uji Daya Antimikroba

Antimikroba adalah obat untuk membasmi mikroba, meliputi golongan antibakteri, antijamur, dan antiviral. Antimikroba bekerja dengan cara mengganggu metabolisme sel mikroba, menghambat sintesis dinding sel mikroba, merusak keutuhan membrane sel mikroba, menghambat sintesis protein sel mikroba dan menghambat sintesis asam nukleat asam sel mikroba. Aktifitas antimikroba diukur secara *in vitro* supaya dapat ditentukan potensi suatu zat antimikroba dalam larutan, konsentrasi dalam cairan badan dan jaringan, dan kepekaan suatu mikroba terhadap konsentrasi obat yang dikenal (Jawetz *et al.*, 1996).

a. Difusi

Metode yang paling sering digunakan adalah metode difusi agar yang digunakan untuk menentukan aktivitas antimikroba. Kerjanya dengan mengamati daerah yang bening, yang mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh antimikroba pada permukaan media agar. Interpretasi hasil uji difusi harus berdasarkan perbandingan antara metode dilusi dan difusi (Jawetz *et al.*, 2005)

Metode sumuran, digunakan metode yang hampir sama dengan metode Kirby-bauer, hanya saja perbedaannya pada metode sumuran media agar dibuat sumur dengan garis tengah tertentu. Pada media agar dibuat lubang-lubang kecil yang bertujuan untuk tempat penuangan konsentrasi larutan antibakteri yang akan digunakan (Utami, 2010).

b. Dilusi

Metode dilusi menggunakan antimikroba dengan kadar atau konsentrasi yang menurun secara bertahap, baik media padat maupun cair. Metode ini bertujuan untuk mengetahui jumlah zat antimikroba yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri yang diuji (Jawetz *et al.*, 2007) Metode ini menggunakan beberapa tabung yang akan diisi dengan larutan antimikroba. Tabung pertama diisi dengan larutan antimikroba dengan konsentrasi awal yang telah ditetapkan sebelumnya, selanjutnya dari tabung pertama tersebut diambil separuhnya untuk dimasukkan kedalam tabung kedua dengan ditambahkan bahan pengencer, sehingga tabung kedua tersebut mempunyai

konsentrasi tabung pertama, begitu seharusnya sampai tabung terakhir, selain itu disiapkan tabung yang berisi bahan tanpa antimikroba sebagai kontrol. Suspensi bakteri ditambahkan kedalam semua tabung, kemudian tabung-tabung tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, kemudian diamati dan dibandingkan dengan kontrol positif.

Konsentrasi sampel terkecil yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri ditentukan sebagai Kadar Hambat Minimum (KHM). Hasilnya dapat diketahui dengan mengevaluasi kekeruhannya. Untuk mengetahui Kadar Bunuh Minimum (KBM) larutan tadi digoreskan pada media Mueller Hinton agar kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. KBM ditentukan pada konsentrasi terkecil dimana pada media tidak terdapat pertumbuhan koloni kuman (Jawetz *et al.*, 1996).

7. *Mueller Hinton Agar*

Mueller Hinton Agar adalah media yang dapat digunakan untuk uji sensitivitas antibiotik terhadap bakteri-bakteri aerobik. Media ini mengandung banyak nutrisi sehingga mampu menumbuhkan organisme yang *fastidious* (Ray & Ryan, 2004). Media agar ini juga telah terbukti memberikan hasil yang baik dan reproduksibel (*reproducibility*). Media agar ini mengandung sulfonamida, trimethoprim, dan inhibitor tetrasiklin yang rendah serta memberikan pertumbuhan patogen yang memuaskan. Untuk pengujian bakteri *streptococci* adalah sangat tepat adanya penambahan 5% darah kuda atau kambing (Acumedia, 2004)

Komposisi Mueller-Hinton Agar:

<i>Beef Extract</i>	2.0 g
<i>Acid Hydrolysis of Casein</i>	17.5
<i>Starch</i>	1.5
<i>Agar</i>	17.0

Final pH 7.3 ± 0.1 pada 25°C

B. LANDASAN TEORI

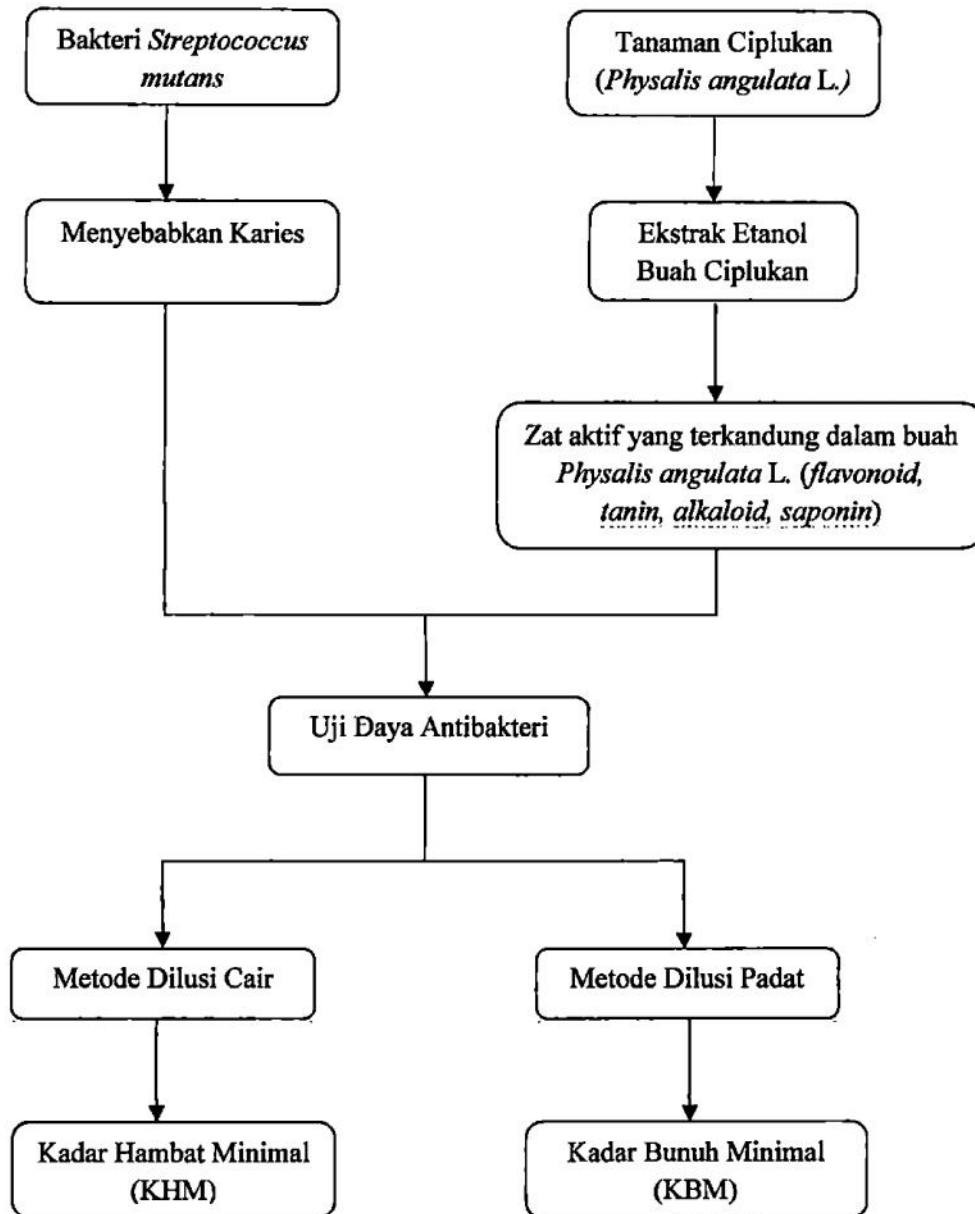
Penggunaan bahan alami yang berasal dari tumbuhan yang mengandung senyawa-senyawa zat aktif merupakan salah satu alternatif sebagai upaya preventif kesehatan gigi dan mulut. Salah satu penyakit yang bisa menjadi tolak ukur kebersihan rongga mulut adalah karies. Karies gigi disebabkan oleh aktivitas metabolisme mikroorganisme, yang dapat mengakibatkan terjadinya proses demineralisasi jaringan keras gigi. Bakteri sangat berperan pada proses terjadinya karies gigi dan salah satu spesies bakteri yang dominan menyebabkan karies ialah *Streptococcus mutans*. Oleh karena itu, bakteri *Streptococcus mutans* menjadi salah satu target utama dalam mencegah terjadinya karies gigi.

Kandungan senyawa-senyawa zat aktif yang terdapat di buah ciplukan (*Physalis angulata* L.) yang memiliki daya antibakteri adalah flavonoid dan tanin. Flavonoid merupakan salah satu senyawa fenol alami yang tersebar luas pada tumbuhan, yang disintesis dalam jumlah sedikit (0,5–1,5%) dan dapat ditemukan pada hampir semua bagian tumbuhan. Penelitian secara *in vitro* maupun *in vivo* menunjukkan aktivitas biologis dan farmakologis dari senyawa flavonoid sangat beragam, salah satu diantaranya yakni memiliki aktivitas antibakteri. Selain flavonoid, kandungan zat aktif pada buah ciplukan yang mempunyai daya

antibakteri yaitu tanin. Tanin adalah senyawa polifenol yang larut dalam air dan umumnya berasal dari senyawa-senyawa fenol alam yang memiliki kemampuan mengendapkan protein - protein seperti gelatin. Berdasarkan strukturnya, tanin dibedakan menjadi dua kelas yaitu tanin terkondensasi (*condensed tannins*) dan tanin-terhidrolisiskan (*hydrolysable tannins*). Tanin memiliki peranan biologis yang kompleks. Hal ini dikarenakan sifat tanin yang sangat kompleks mulai dari pengendap protein hingga pengkhelet logam.

Penelitian ini menggunakan metode ekstraksi dengan teknik maserasi dengan pelarut etanol dalam pembuatan ekstrak buah ciplukan (*Physalis angulata* L.). Untuk mengetahui konsentrasi kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM) ekstrak etanol buah ciplukan terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dengan menggunakan metode dilusi cair dan padat.

C. KERANGKA KONSEP



Gambar 3. Kerangka Konsep

D. HIPOTESIS

Berdasarkan teori yang teruraikan pada tinjauan pustaka, maka hipotesis penelitian ini dapat dirumuskan sebagai berikut bahwa :

Ekstrak etanol buah ciplukan (*Physalis angulata* L.) mempunyai pengaruh daya antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans*.