

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kitolod (*Isotoma longiflora*)



Gambar 2.2 Tanaman kitolod (*Isotoma longiflora*) Sumber : Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Sumatera Utara, 2017.

Menurut hasil determinasi yang telah dilakukan oleh Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (*Indonesian Institute Of Sciences*) Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi, klasifikasi dari tumbuhan kitolod (*Isotoma longiflora*) adalah sebagai berikut

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua/dikotil)
Sub Kelas : Asteridae
Ordo : Campanulales
Famili : Campanulaceae

Genus : Isotoma

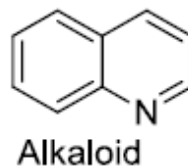
Spesies : *Isotoma longiflora* (L.) Presl

Kitolod (*Isotoma longiflora*) merupakan tanaman yang biasa dimanfaatkan sebagai tanaman obat oleh masyarakat. Penggunaan daun dan bunga kitolod sendiri dapat digunakan dalam bentuk segar seperti tumbukan, perasan, seduhan, dan rebusan, yang oleh masyarakat daun dan bunga kitolod dimanfaatkan sebagai obat glaukoma pada mata, katarak, antivirus, sakit gigi, bronkitis, sifilis, dan asma (Koller, 2009).

Menurut Dalimarta (2008) penggunaan tanaman kitolod sendiri dapat digunakan dalam bentuk segar seperti tumbukan, perasan, seduhan dan rebusan. Penggunaan kitolod sebagai tanaman obat juga dijelaskan oleh Ir. Imelda S Marpaung dkk pada bukunya yaitu “Tumbuhan Berkhasiat Untuk Kesehatan”. Pada buku tersebut dijelaskan bahwa penggunaan daun kitolod untuk sakit gigi yaitu dengan menumbuk halus daun kitolod lalu diletakkan pada lubang gigi yang sakit.

Dalimarta (2008) menjelaskan bahwa kemampuan tanaman kitolod sebagai obat karena mengandung zat bioaktif seperti senyawa alkaloid, flavonoid dan saponin. Namun metabolit sekunder yang memiliki khasiat sebagai antibakteri pada karies gigi yaitu alkaloid dan flavonoid.

2.1.1 Alkaloid

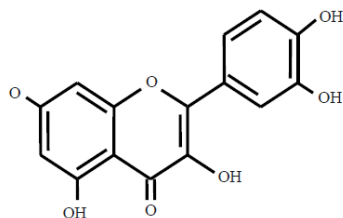


Gambar 2.3 Struktur Alkaloid (Fazil, 2017)

Alkaloid merupakan zat yang mempunyai kecenderungan menghambat pertumbuhan bakteri, mengandung satu atau lebih atom nitrogen yang bersifat basa dan merupakan zat aktif dari tanaman yang berfungsi sebagai obat (Harborne, 2006). Hasil identifikasi positif mengandung senyawa alkaloid pada uji menggunakan pereaksi Bouchard ditandai dengan terbentuknya endapan yang larut dalam alkohol.

Alkaloid mempunyai mekanisme penghambatan dengan cara berikatan dengan DNA (Cowan M, 2009). Hal ini diduga karena alkaloid memiliki gugus basa yang mengandung nitrogen. Gugus basa ini akan bereaksi dengan senyawa asam yang ada pada bakteri seperti DNA yang merupakan penyusun utama inti sel. Dengan terganggunya DNA maka sintesis protein dan asam nukleat dalam sel akan terganggu. Hal ini mengakibatkan metabolisme sel terganggu sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mengalami kematian.

2.1.2 Flavonoid



Gambar 2.4 Struktur Flavonoid (Redha, 2010)

Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol dan umumnya terdapat dalam tumbuhan dalam bentuk aglikon maupun terikat pada gula sebagai glikosida (Middleton & Chitan, 1994). Harborne (2006) menyatakan bahwa flavonoid memegang peranan penting dalam biokimia dan fisiologi tanaman, di antaranya berfungsi sebagai mengatur pertumbuhan, juga sebagai antioksidan dan antibakteri.

Hal ini dikarenakan flavonoid memiliki spektrum aktivitas antibakteri yang luas dengan mengurangi kekebalan pada organisme sasaran (Naidu, 2000).

Senyawa flavonoid memiliki kemampuan dalam mengganggu aktifitas transpeptidase peptidoglikan sehingga pembentukan dinding sel terganggu. Akibatnya, sel tidak dapat menahan tekanan osmotik internal yang dapat mencapai 5 sampai 20 atmosfer. Tekanan ini cukup untuk memecah sel apabila dinding sel rusak (Cowan M, 2009).

2.2 Sakit Gigi

2.2.1 Pengertian

Sakit gigi atau nyeri odontogenik merupakan penyakit yang biasanya menyerang jaringan pulpa atau struktur periodontal. Sakit gigi adalah tanda utama karies gigi yang merupakan masalah kesehatan masyarakat yang kronis. Sakit gigi dapat disebabkan oleh aktivitas rangsangan terhadap gigi, kimia dan rangsangan termal, atau dapat muncul secara spontan sehingga dapat menyebabkan peradangan parah pada pulpa gigi (Machado dalam Damayanti and Karuniawati, 2017).

2.2.2 Klasifikasi

Sakit gigi menurut Ana Mariyam,dkk (2018) dapat dikelompokkan sebagai berikut :

1. Gingivitis merupakan penyakit radang gusi yang mengalami pembengkakan pada mulut sebab kurang terjaganya kebersihan mulut sehingga menyebabkan adanya

karang – karang gigi atau plak yang menumpuk dan berbatasan dengan tepi gusi (Lita, 2016).

2. *Acute Necrotizing Ulcerative Gingivitis (ANUG)* adalah penyakit yang disebabkan oleh adanya infeksi pada nekrosis gingiva. Penyakit ini dapat terjadi pada siapa saja, terutama orang yang mengkonsumsi rokok secara berlebihan, stress berat, dan malnutrisi berat, dll
3. Karies gigi merupakan penyakit gigi yang terjadi pada kerusakan jaringan gigi hingga membentuk lubang
4. Pulpitis merupakan proses radang pada jaringan pulpa gigi yang menetap, gejalanya yakni gigi nyeri ketika mendapat rangsangan panas atau dingin
5. Nekrosis Pulpa adalah penyakit gigi yang disebabkan oleh adanya bakteri, trauma dan iritasi yang menyebabkan kerusakan dan kematian pada pulpa yang disebabkan oleh pulpitis yang tidak dirawat (Yamin, 2012)
6. Periodontitis merupakan inflamasi jaringan dan infeksi yang terjadi pada gingiva (gingivitis) yang tidak dirawat dan menyebar ke ligamen dan tulang alveolar penyangga gigi.
7. Herpes Simpleks adalah infeksi virus HIV yang terjadi pada sudut bibir atau mulut. Gejala yang ditimbulkan antara lain

2.3 Karies Gigi

2.3.1 Pengertian

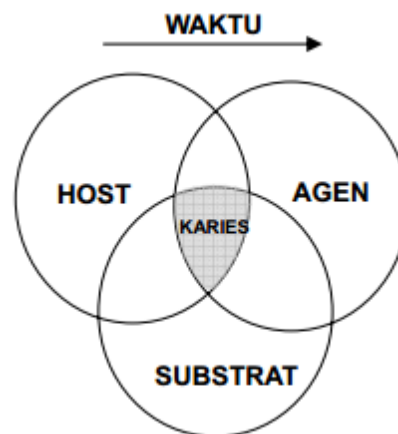
Karies gigi merupakan suatu penyakit jaringan keras gigi yaitu email, dentin dan sementum yang disebabkan oleh aktifitas mikroorganisme dalam suatu karbohidrat yang

dapat diragikan (Kidd dan Bechal, 1992). Karies gigi adalah suatu proses penghancuran setempat jaringan klasifikasi yang dimulai pada bagian permukaan gigi melalui proses deklasifikasi lapisan email gigi yang diikuti oleh lisis struktur organik secara enzimatik sehingga terbentuk kavitas (lubang) yang bila dibiarkan akan menembus email serta dentin dan dapat mengenai bagian pulpa (Dorland, 2010); Karies gigi merupakan proses kerusakan gigi yang dimulai dari enamel terus ke dentin. Proses tersebut terjadi karena sejumlah faktor didalam rongga mulut yang lain. Faktor-faktor tersebut meliputi faktor gigi, mikroorganisme, substrat dan waktu (Chemiawan,2004).

2.3.2 Etiologi

Etiologi karies gigi merupakan faktor penyebab terjadinya karies gigi. Karies dinyatakan sebagai penyakit *multifactoral* yaitu adanya beberapa faktor yang menjadi penyebab terbentuknya karies (Chemiawan, 2004).

Ada tiga faktor penyebab utama karies gigi yaitu faktor *host* atau tuan rumah, agen atau mikroorganisme, substrata tau diet dan ditambah faktor waktu yang digambarkan sebagai tiga lingkaran yang bertumpang tindih (Gambar 2.1). Untuk terjadinya karies, maka kondisi setiap faktor tersebut harus saling mendukung yaitu tuan rumah yang



rentan, mikroorganisme yang kariogenik, substrat yang sesuai dan waktu yang lama (Chemiawan, 2004).

Gambar 2.5 Skema yang menunjukkan karies sebagai penyakit multifaktorial yang disebabkan faktor *host*, agen, substrat dan waktu (Chemiawan, 2004)

1. Faktor *Host* atau Tuan Rumah

Faktor *host* atau tuan rumah yang dimaksudkan terhadap karies yaitu faktor morfologi gigi (ukuran dan bentuk gigi), struktur enamel, faktor kimia dan kristalografis. Pit dan fisur pada gigi posterior sangat rentan terhadap karies karena sisa-sisa makanan mudah menumpuk didaerah tersebut terutama pit dan fisur yang dalam. Permukaan gigi yang kasar juga dapat menyebabkan plak dan membantu perkembangan karies gigi. Selain itu, kepadatan Kristal enamel sangat menentukan kelarutan enamel. Semakin banyak enamel mengandung mineral maka kristal enamel semakin padat dan enamel akan semakin resisten. Gigi pada anak-anak lebih mudah terserang karies dari pada gigi orang dewasa. Hal ini disebabkan karena enamel gigi mengandung lebih banyak bahan organik dan air sedangkan jumlah mineralnya lebih sedikit. Selain itu, secara kristalografis Kristal-kristal gigi pada anak-anak tidak sepadat gigi orang dewasa. Mungkin alasan ini menjadi salah satu penyebab tingginya prevalensi karies pada anak-anak (Chemiawan, 2004).

2. Faktor Agen atau Mikroorganisme

Plak gigi memegang peranan penting dalam menyebabkan terjadinya karies. Plak adalah suatu lapisan lunak yang terdiri atas kumpulan mikroorganisme yang berkembang baik diatas suatu matriks yang terbentuk dan melekat erat pada permukaan gigi yang tidak dibersihkan, mikroorganisme yang menyebabkan karies gigi adalah

kokus gram positif, merupakan jenis yang paling banyak dijumpai seperti *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitis* dan *Streptococcus salivarius* serta beberapa strain lainnya. Selain itu ada juga penelitian yang menunjukkan adanya *Lactobacillus* pada plak gigi. Pada penderita karies, jumlah *Lactobacillus* pada plak gigi berkisar 10.000-100.000 sel/mg plak. Seperti dikatakan Soesilo (2005) bahwa *Streptococcus mutans* berperan dalam permulaan (*initial*) terjadinya karies, sedangkan *Lactobacillus sp* berperan dalam proses perkembangan dan kelanjutan karies. Ada banyak spesies *Lactobacillus sp* yang teridentifikasi pada saliva dari karies gigi, namun yang terbanyak yaitu *Lactobacillus acidophilus* (Munoz-Jeldrez *et al* dalam Badet dan Thebaud, 2008).

3. Faktor Substrat atau Diet

Plak yang terbentuk dapat mempengaruhi faktor substrat atau diet karena membantu perkembangbiakan dan kolonisasi mikroorganisme yang ada pada permukaan enamel. Selain itu, dapat mempengaruhi metabolisme bakteri dalam plak dengan menyediakan bahan-bahan yang diperlukan untuk memproduksi asam serta bahan-bahan yang diperlukan untuk memproduksi asam serta bahan lain yang aktif dan menyebabkan timbulnya karies. Hasil penelitian menunjukkan bahwa orang yang banyak mengalami kerusakan pada gigi, sebaliknya pada orang dengan diet yang banyak mengandung lemak dan protein hanya sedikit atau sama sekali tidak mempunyai karies gigi. Hal ini penting untuk menunjukkan bahwa karbohidrat memegang peranan penting dalam terjadinya karies gigi (Chemiawan, 2004).

4. Faktor Waktu

Secara umum, karies dianggap sebagai penyakit kronis pada manusia yang berkembang dalam waktu beberapa bulan atau tahun. Lamanya waktu yang dibutuhkan karies untuk berkembang menjadi suatu kavitas cukup bervariasi, diperkirakan 6-48 bulan (Chemiawan, 2004)

2.3.3 Faktor Resiko

Faktor resiko karies gigi adalah faktor-faktor yang memiliki hubungan sebab akibat terjadinya karies gigi atau faktor yang mempermudah terjadinya karies gigi atau faktor yang dianggap sebagai faktor resiko menurut Sondang (2008) adalah pengalaman karies gigi, kurangnya penggunaan fluor, *oral hygiene* yang buruk, jumlah bakteri, saliva serta pola makan dan jenis makanan.

1. Pengamalan karies gigi

Beberapa penelitian telah memberikan bukti adanya hubungan antara pengalaman karies gigi dengan perkembangan karies kedepannya. Hal ini seperti dikatakan Sondang (2008) bahwa prevalensi karies pada gigi desidui dapat memprediksi karies pada gigi permanen.

2. Kurangnya penggunaan

Pemberian fluor secara teratur dapat mengurangi terjadinya karies karena dapat meningkatkan remineralisasi, tetapi jumlah kandungan fluor dalam air minum dan makanan harus diperhitungkan pada waktu memperkerikan kebutuhan tambahan fluor karena pemasukan fluor yang berlebihan dapat menyebabkan fluorosis (Farsi, 2007).

3. *Oral hygiene* yang buruk

Oral hygiene atau kebersihan mulut yang buruk akan mempermudah pertumbuhan bakteri didalam mulut sehingga memicu terbentuknya plak yang merupakan awal terjadinya karies gigi.

4. Jumlah bakteri

Segera setelah lahir, terbentuk ekosistem oral yang terdiri atas berbagai jenis bakteri. Bayi yang telah memiliki *S.mutans* dalam jumlah yang banyak saat berumur 2 dan 3 tahun akan mempunyai resiko karies yang lebih tinggi untuk mengalami karies pada gigi desidui (Sondang,2008).

5. Saliva

Saliva dalam mulut berfungsi untuk membersihkan sisa-sisa makanan didalam mulut. Selain itu saliva berperan dalam menjaga kelestarian gigi. Beberapa ahli menyatakan bahwa saliva merupakan pertahanan pertama terhadap karies, ini terbukti seperti yang dikatakan Behrman (2002) bahwa pada penderita *Xerostomia* (produksi ludah yang kurang) dimana akan timbul kerusakan gigi menyeluruh dalam waktu singkat.

6. Pola makan dan jenis makanan

Pola makanan dan jenis makanan juga berpengaruh akan terjadinya karies gigi. Frekuensi makan dan minum menimbulkan erosi dan juga karies gigi. Konsumsi makanan manis pada waktu senggang jam makan akan lebih berbahaya daripada saat waktu makan utama. Diantara periode makan, saliva akan bekerja menetralkan asam dan membantu proses remineralisasi. Tetapi apabila makanan dan minuman berkarbonat terlalu sering dikonsumsi, maka enamel gigi tidak mempunyai kesempatan

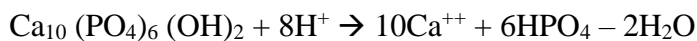
untuk melakukan remineralisasi dengan sempurna sehingga terjadi karies (Sondang, 2008).

2.3.4 Patofisiologi

Proses terjadinya karies dimulai dengan adanya plak dipermukaan gigi. Plak terbentuk dari campuran antara bahan-bahan air ludah seperti musin, sisa-sisa sel jaringan mulut, leukosit, limfosit dan sisa makanan serta bakteri. Plak ini mula-mula terbentuk, agar cair yang lama kelamaan menjadi kelat, tempat bertumbuhnya bakteri (Suryawati, 2010).

Patofisiologi karies gigi menurut Miller, Black dan William adalah awalnya asam terbentuk karena adanya gula (sukrosa) dan bakteri dalam plak (kokus). Gula (sukrosa) akan mengalami fermentasi oleh bakteri dalam plak hingga akan terbentuk asam dan dextran. Dextran akan melekatkan asam yang terbentuk pada permukaan email gigi. Apabila hanya satu kali makan gula (sukrosa), maka asam yang terbentuk hanya sedikit. Tapi bila konsumsi gula (sukrosa) dilakukan berkali-kali atau sering maka akan terbentuk asam hingga pH mulut menjadi ± 5 (Chemiawan, 2004).

Asam dengan pH ± 5 ini dapat masuk ke dalam email melalui ekor enamel port (*port d'entre*). Tapi permukaan email lebih banyak mengandung kristal fluorapatit yang lebih tahan terhadap serangan asam sehingga asam hanya dapat melewati permukaan email dan akan masuk ke bagian bawah permukaan email. Asam yang masuk ke bagian bawah permukaan email akan melarutkan kristal hidroksiapatit yang ada. Reaksi kimianya adalah sebagai berikut :



Hidroksiapit + Ion hidrogen \rightarrow Kalsium + Hidrogen fosfat + Air

Apabila asam yang masuk kebawah permukaan email sudah banyak, maka reaksi akan terjadi berulang kali. Maka jumlah Ca yang lepas bertambah banyak dan lama kelamaan Ca akan keluar dari email. Proses ini disebut dekalsifikasi, karena proses ini terjadi pada bagian bawah email maka biasa disebut dekalsifikasi bagian bawah permukaan. Ringkasan terjadinya karies gigi menurut Schatz (Chemiawan, 2004) :

Sukrosa + plak → Asam
 Asam + email → Karies

2.3.5 Pencegahan

Pencegahan pada karies gigi difokuskan pada tahap awal sebelum timbulnya penyakit (pre-patogenesis) dan sesudah timbulnya penyakit (patogenesis). Rethman (2002) menjelaskan bahwa Hugh Roadman Leavell dan E Guerney Clark (Leavell dan Clark) dari Universitas Harvard dan Colombia membuat klasifikasi pelayanan pencegahan tersebut atas 3 yaitu pencegahan primer, sekunder dan tersier.

1 Pencegahan primer

Pencegahan primer merupakan tahap pre-patogenesis sehingga pencegahan ini untuk mencegah timbulnya penyakit. Hal ini ditandai dengan upaya meningkatkan kesehatan (*health promotion*) dan memberikan perlindungan khusus (*spesific protection*). Upaya promosi kesehatan meliputi pemberian informasi mengenai cara menyingkirkan plak yang efektif atau cara menyikat gigi dan menggunakan benang gigi (*flossing*). Upaya perlindungan khusus termasuk pelayanan yang diberikan untuk melindungi *host* dari serangan penyakit dengan membangun penghalang untuk melawan mikroorganisme (Rethman, 2000).

2 Pencegahan sekunder

Pencegahan sekunder merupakan tahap awal patogenesis, dimana pencegahan sekunder bertujuan untuk mencegah penyakit agar tidak berkembang atau kambuh lagi. Kegiatannya ditujukan pada diagnosa dini dan pengobatan yang tepat. Sebagai contoh, melakukan penambalan pada lesi karies yang kecil dapat mencegah kehilangan struktur gigi yang luas (Rethman, 2000).

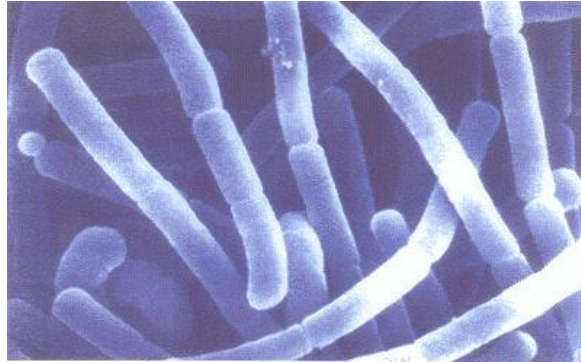
3 Pencegahan tersier

Pencegahan tersier merupakan tahap akhir pathogenesis, dimana pencegahan tersier bertujuan untuk mencegah kehilangan fungsi dari gigi. Kegiatannya meliputi pemberian pelayanan untuk membatasi ketidakmampuan (cacat) dan rehabilitasi. Gigi tiruan dan implan termasuk dalam kategori ini (Rethman, 2000).

2.4 Bakteri *Lactobacillus acidophilus*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Streptococcus mutans* berperan dalam permulaan (*initial*) terjadinya karies, sedangkan *Lactobacillus sp* berperan dalam proses perkembangan dan kelanjutan karies *Lactobacillus acidophilus* merupakan bakteri asam laktat homofermentatif membentuk laktat murni atau hampir (90%) murni. Bakteri ini menguraikan glukosa melalui alur fruktosa difosfat termasuk aldolase dan memindahkan hidrogen yang terjadi pada dehidrogenasi gliserinaldehid-3fosfat ke privat. Ada banyak spesies *Lactobacillus sp* yang teridentifikasi pada saliva dari subyek yang karies, namun yang terbanyak yaitu *Lactobacillus acidophilus* (Munoz-Jeldrez *et al* dalam Badet dan Thebaud, 2008:40).

2.4.1 Klasifikasi



Gambar 2.6 *Lactobacillus acidophilus* dilihat dengan mikroskop *scanning electron* Theralac (Aanonim, 2009)

Lactobacillus acidophilus dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom : *Bacteria*

Divisi : *Firmicutes*

Kelas : *Bacilli*

Ordo : *Lactobacillales*

Famili : *Lactobacillaceae*

Genus : *Lactobacillus*

Spesies : *Lactobacillus acidophilus* (Ahumada *et al*, 2003)

2.4.2 Habitat

Lactobacillus acidophilus dapat melekat pada permukaan email baik secara langsung atau pun dengan saliva (Ahumada *et al*, 2003). Salah satu faktor yang dapat mempengaruhi laju *Lactobacillus acidophilus* pada saliva adalah asupan karbohidrat (Badet dan Thebaud, 2008). Beberapa penelitian menyatakan bahwa *Lactobacillus acidophilus* mampu bersaing dengan bakteri lain sehingga dapat tumbuh baik

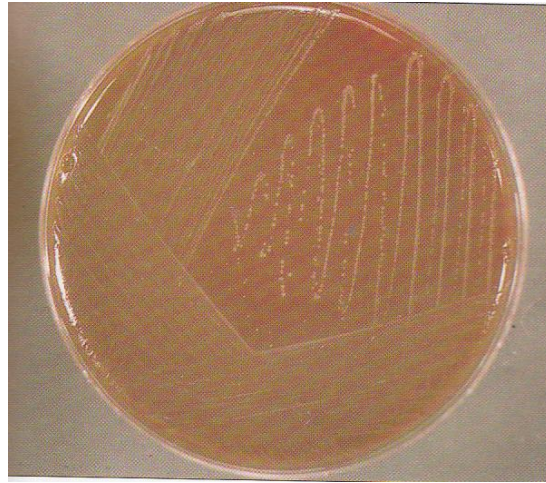
meskipun terdapat bakteri lainnya, hal ini disebabkan karena bakteri ini menghasilkan bakteriosin yang dapat membunuh bakteri lainnya (Percival (1997) dalam Mendez *et al*, 2009).

2.4.3 Karakteristik, kultur dan Identifikasi

Lactobacillus acidophilus adalah salah satu dari delapan genera umum dan bakteri asam laktat. Tiap genus dan spesiesnya mempunyai karakteristik yang berbeda. Namun, secara umum mereka merupakan bakteri Gram positif dengan sel berbentuk batang panjang tetapi terkadang hampir bulat dan membentuk rantai yang pendek, berukuran 0,5-1,2 x 1,0-10,0 μm , bersifat *non motil* dan *non spora* yang memproduksi asam laktat sebagai produk utama dan metabolisme fermentasi dan menggunakan laktosa sebagai sumber karbon utama dalam memproduksi energy (Buttris, 1997).

Kultur *Lactobacillus acidophilus* dapat dilakukan pada media yang mengandung prebiotik (Rahayu dan Margino (1986); Sneath *et al* (1986) dalam Purwandhani dan Rahayu, 2003). Ciri-ciri koloni *Lactobacillus acidophilus* antara lain warna koloni putih susu agak krem, bentuk koloni bulat dengan tepian seperti wol.

Identifikasi isolate *Lactobacillus acidophilus* didasarkan pada bentuk sel batang, pengecatan gram positif, *non motil*, katalase negative, tidak membentuk dekstran, kemampuan pembentukan asam dari beberapa sumber karbon, kemampuan tumbuh dalam berbagai pH maupun suhu, model fermentasi glukosa (homofermentatif), tipe peptidoglikan pada dinding sel (Rahayu dan Margino (1986) dalam Purwandhani dan Rahayu, 2003).



Gambar 2.7 Koloni *Lactobacillus acidophilus* (Tony, 1997)

2.4.4 Patogenesis

Lactobacillus acidophilus memfermentasi karbohidrat dan menghasilkan asam organik sehingga mengubah pH rongga mulut menjadi asam. Asam yang terbentuk dapat melunakkan bagian terkeras gigi yaitu email gigi. Bila lapisan email telah rusak maka bakteri dapat masuk ke lapisan yang lebih dalam yaitu dentin. Proses ini akan ters berjalan sehingga lubang semakin dalam bila tidak dilakukan perawatan (Pratiwi, 2007).

2.5 Perasan

Perasan merupakan salah satu metode dalam ekstraksi. Perasan memiliki kelebihan dibandingkan metode lain yaitu proses pembuatannya yang sederhana dan cepat. Perasan juga tidak membutuhkan peralatan rumit dan keterampilan khusus dalam pembuatannya. Metode perasan masih memiliki nilai daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri walaupun tidak memanfaatkan pelarut tertentu untuk mengikat

zat yang diinginkan dan mengeluarkan zat yang tidak diinginkan seperti halnya pada ekstrak (Pratiwi dan Endang 2017).

2.6 Identifikasi Fitokimia

Skринing fitokimia merupakan suatu tahap awal untuk mengidentifikasi kandungan suatu senyawa dalam simplisia atau tanaman yang akan diuji. Fitokimia atau kimia tumbuhan merupakan disiplin ilmu yang mempelajari aneka ragam senyawa organik pada tumbuhan, yaitu mengenai struktur kimia, biosintesis, metabolisme, penyebaran secara ilmiah dan fungsi biologisnya. Pendekatan secara penapisan fitokimia meliputi analisis kualitatif kandungan dalam tumbuhan atau bagian tumbuhan (akar, batang, daun, bunga, buah dan biji) terutama kandungan metabolit sekunder yang merupakan senyawa bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, glikosida, terpenoid, saponin, tanin dan polifenol (Heyne 1987).

2.6.1 Alkaloid

Metode pengujian senyawa alkaloid sesuai dengan Santi *et al*, 2008. Hasil identifikasi positif mengandung senyawa alkaloid pada uji menggunakan pereaksi Bouchard ditandai dengan terbentuknya endapan yang larut dalam alkohol.

2.6.2 Flavonoid

Metode pengujian senyawa Flavonoid sesuai dengan Setyowati, W.A.E, dkk. 2014 dan Setyowati (2014). Uji flavonoid dengan menggunakan Mg serbuk dan HCl pekat memberikan hasil yang positif, ditandai dengan perubahan warna menjadi jingga.

2.7 Metode Uji Antimikroba

Pada uji ini, yang akan diukur adalah respon pertumbuhan populasi mikroorganisme terhadap agen antimikroba. Salah satu manfaat dari uji antimikroba adalah diperolehnya satu sistem pengobatan yang efektif dan efisien. Beberapa cara pengujian antimikroba adalah metode difusi dan dilusi.

2.7.1 Difusi

Pada metode ini, Penentuan aktivitas didasarkan pada kemampuan difusi dari zat antimikroba dalam lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa ada atau tidaknya zona hambatan yang akan terbentuk di sekeliling di zat antimikroba pada waktu tertentu masa inkubasi. Pada metode ini dapat dilakukan dengan tiga cara, yaitu:

1. Cara Cakram (Disc)

Cara ini merupakan cara yang paling sering digunakan untuk menentukan kepekaan kuman terhadap berbagai macam obat-obatan. Pada cara ini, digunakan suatu cakram kertas saring (paper disc) yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antimikroba. Kertas saring tersebut kemudian diletakan pada lempeng agar yang telah diinokulasi mikroba uji, kemudian diinkubasi pada waktu tertentu dan suhu tertentu, sesuai dengan kondisi optimum dari mikroba uji. Pada umumnya, hasil yang diamat bisa diamati setelah inkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37^o C. Hasil pengamatan yang diperoleh berupa ada atau tidaknya daerah bening yang terbentuk di sekeliling kertas cakram yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan mikroba. Menurut Greenwood (1995) efektifitas suatu zat antimikroba bisa diklasifikasikan pada tabel berikut:

Tabel 2.1 Diameter Zona Terang

Diameter Zona Bening	Respon hambatan pertumbuhan
>20mm	Kuat
16-20 mm	Sedang
10-15 mm	Lemah
<10mm	Tidak Ada

Sumber : Greenwood 1995

Metode cakram disc atau cakram kertas ini memiliki kelebihan dan kekurangan. Kelebihannya adalah mudah dilakukan, tidak memerlukan peralatan khusus dan relatif murah. Sedangkan kelemahannya adalah ukuran zona bening yang terbentuk tergantung oleh kondisi inkubasi, inokulum, predifusi dan preinkubasi serta ketebalan medium. Apabila keempat faktor tersebut tidak sesuai maka hasil dari metode cakram disc biasanya sulit untuk diinterpretasikan. Selain itu, metode cakram disk ini tidak dapat diaplikasikan pada mikroorganisme yang pertumbuhannya lambat dan mikroorganisme yang bersifat anaerob obligat (Prayoga, 2013).

2. Cara Parit (Ditch)

Suatu lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan mikroba uji dibuat sebidang parit. Parit tersebut diisi dengan zat antimikroba uji. Kemudian setiap lubang itu diisi dengan zat uji. Setelah diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan mikroba uji, dilakukan pengamatan dengan melihat ada atau tidaknya zona hambatan di sekeliling lubang (Prayoga, 2013).

3. Cara Sumuran (hole/cup)

Pada lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan mikroba uji dibuat suatu lubang yang selanjutnya diisi dengan zat antimikroba uji. Kemudian setiap lubang itu diisi dengan zat uji. Setelah diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan

mikroba uji, dilakukan pengamatan dengan melihat ada atau tidaknya zona hambatan di sekeliling lubang (Prayoga, 2013).

2.7.2 Dilusi

Pada metode ini dilakukan dengan mencampurkan zat antimikroba dan media agar, yang kemudian diinokulasikan dengan mikroba uji. Hasil pengamatan yang diperoleh berupa tumbuh atau tidaknya mikroba di dalam media. Aktivitas zat antimikroba ditentukan dengan melihat konsentrasi hambat minimum (KHM) yang merupakan konsentrasi terkecil dari zat antimikroba uji yang masih memberikan efek penghambatan terhadap pertumbuhan mikroba uji. Metode ini terdiri atas dua cara yaitu:

1. Pengenceran Serial dalam Tabung

Pengujian dilakukan dengan menggunakan sederetan tabung reaksi yang diisi dengan inokulum kuman dan larutan antimikroba dalam berbagai konsentrasi. Zat yang akan diuji aktivitas mikrobanya diencerkan sesuai dengan serial dalam media cair, kemudian dinokulasikan dengan kuman dan diinkubasi pada waktu dan suhu yang sesuai dengan mikroba uji. Aktivitas zat ditentukan sebagai kadar hambat minimal (KHM) (Prayoga, 2013).

2. Penipisan Lempeng Agar

Zat antimikroba diencerkan dalam media agar dan kemudian dituangkan ke dalam cawan petri. Setelah agar membeku, diinokulasikan kuman kemudian diinokulasi pada waktu dan suhu tertentu. Konsentrasi terendah dari larutan zat antimikroba yang masih memberikan hambatan terhadap pertumbuhan kuman ditetapkan sebagai konsentrasi hambat minimum (KHM) (Prayoga, 2013).

2.8 Media Pertumbuhan Mikroba

2.8.1 Pengertian

Media adalah suatu bahan yang terdiri dari campuran zat-zat hara (nutrient) yang berguna untuk membiakkan mikroba. Dengan mempergunakan bermacam-macam media dapat dilakukan isolasi, perbanyakan, pengujian sifat-sifat fisiologis dan perhitungan jumlah mikroba (Sutedjo,1996).

2.8.2 Persyaratan

Persyaratan dalam penyiapan media menurut Anna (2012) :

1. Mengandung semua nutrisi yang mudah digunakan oleh mikroba
2. Mempunyai tekanan osmose, tegangan permukaan, dan pH yang sesuai.
3. Tidak mengandung zat-zat penghambat
4. Steril.

Ketepatan komposisi medium tergantung pada kebutuhan species yang akan dikultivasi karena kebutuhan nutrisi sangat bervariasi. Pengetahuan tentang habitat normal mikroorganisme sering berguna untuk menentukan medium yang cocok karena kebutuhan tergantung lingkungan alaminya. Meskipun persyaratan medium untuk menumbuhkan mikroorganisme sangat beragam, namun sebagai organisme hidup mempunyai kebutuhan dasar yang sama yaitu memerlukan sumber karbon, energi, air, nitrogen, fosfat, dan mineral. (Anna, 2012)

2.8.3 Klasifikasi

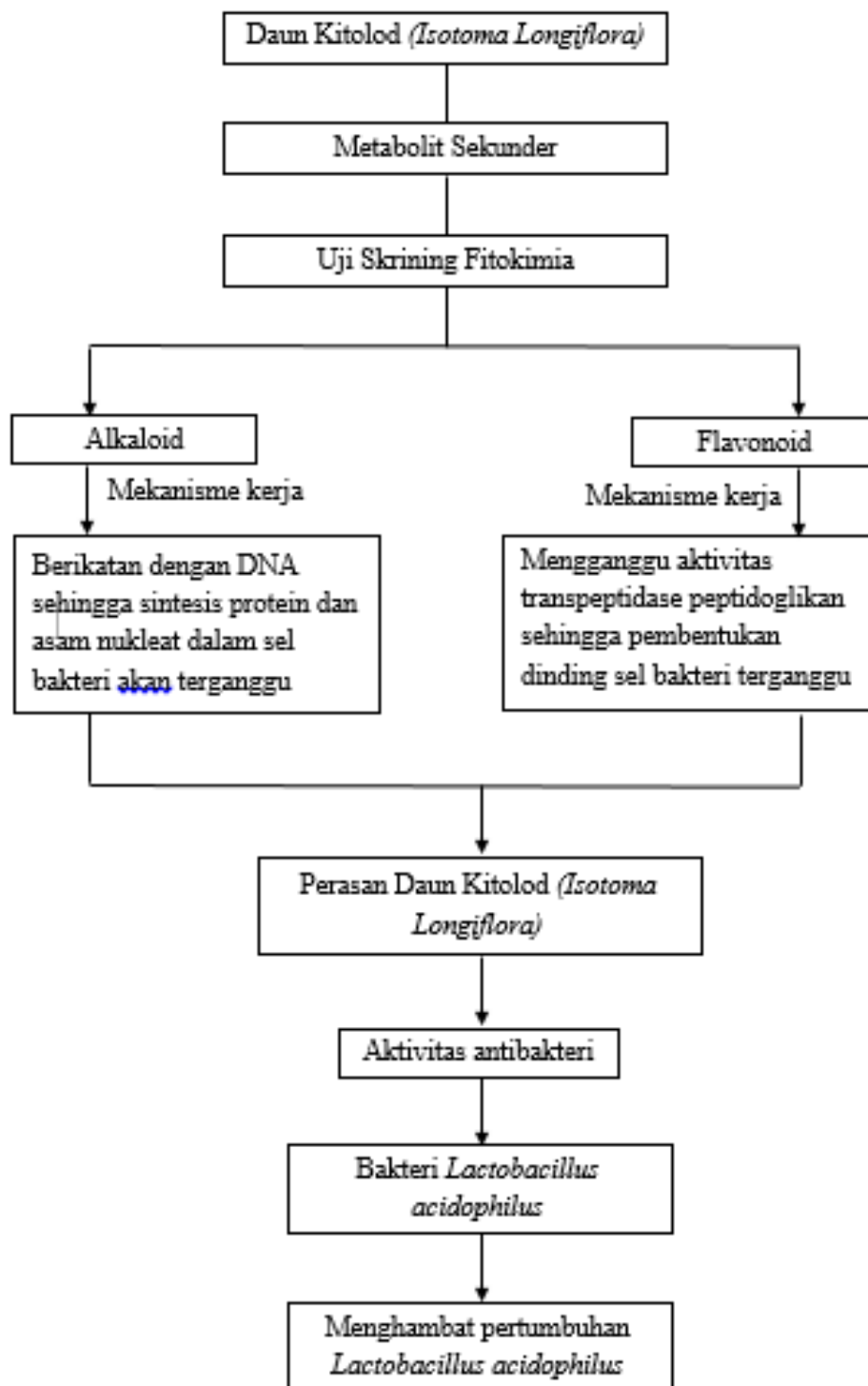
Klasifikasi media menurut Balai Penelitian Vetnier (2000) dapat dilihat dalam table dibawah.

Tabel 2.2 Klasifikasi Media Pertumbuhan Mikroorganisme

Dasar Klasifikasi	Sifat Media	Contoh
Sumber nutrisi	Alamiah buatan	Susu, telur, kentang. <i>Nutrien agar, Tryptic Soy agar, Heart infursion agar</i>
Bentuk fiisk	- Cair - Setengah Padat - Padat	<i>Nutrien broth, triptosa broth, Amiex Transport Medium, Stuart Transport Medium. Nutrien agar, Triptosa Agar</i>
Komposisi kimia	Komplek sintetik	<i>Mueler Hintin Agar, Nutrien Agar. Dorset Henley.</i>
Perbedaan pertumbuhan	Membedakan (<i>diferensial</i>)	<i>Eosin Methilene Blue Agar, Mac Conkey Agar.</i>
Seleksi	Memilih (<i>selective</i>)	<i>Briliant Green Agar, Salmonella Shigella Agar, Bismuth Sulfur Agar.</i>
Rewel (<i>fastidious</i>)	Diperkaya	<i>Blood Agar, Serum Agar.</i>

Sumber : Kultur Media Bakteri oleh Balai Penelitian Vetnier (2000)

2.9 Kerangka Konsep



Gambar 2.8 Kerangka Konsep