

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Sirsak (*Annona muricata* L.)

1. Sistematika Sirsak

Sistematika tanaman sirsak menurut *United States Department of Agriculture* (2014), sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Subdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Magnoliidae
Famili	: Annonaceae
Genus	: <i>Annona</i>
Species	: <i>Annona muricata</i> L.



Gambar 1. Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) (*United States Department of Agriculture* 2014).

2. Nama daerah tanaman Sirsak

Jawa: angka sebrang dan angka londo; Sunda: angka walanda dan sirsak; Madura: angka buris; Bali: srikaya jawa; Aceh: deureuyan belanda; Nias: durio ulondro; Bugis: serekaja; Lampung: jambu landa; Minangkabau: durian betawi; Ternate: naka lada; Halmahera: naka walanda; Jawa: angka londa,

nangkamanila, nangka sabrang, mulwa londa, surikaya londa, srikaya welandi; Nusatenggara: naka, nakat, annona; Maluku: anad walanda, tafena warata (Depkes RI 1989).

3. Morfologi tanaman Sirsak

Sirsak (*Annona muricata* L.) merupakan tanaman dengan tinggi pohon sekitar 3-10 meter dan tumbuhan tropis yang bersifat tahunan. Batang coklat berkayu, bulat, bercabang serta mempunyai daun bentuk telur atau lanset, ujung runcing, tepi rata, pangkal meruncing, pertulangan menyirip, panjang tangkai 5 mm, hijau kekuningan. Daun sirsak memiliki ukuran sekitar 8-16 cm. Tangkai daun panjangnya 3-7 mm. Bunga terletak pada batang atau ranting, daun kelopak kecil, kuning keputi-putihan, benang sari banyak berambut. Buahnya bukanlah buah sejati, sebenarnya adalah kumpulan buah-buah (buah agregat) dengan biji tunggal yang saling berimpitan dan kehilangan batas antar buah. Daging buah sirsak berwarna putih dan bentuk bijinya bulat dengan warna coklat kehitaman dan permukaan yang mengkilap. Akar berwarna coklat muda, bulat dengan perakaran tunggang (Hidayat 2011).

4. Kandungan kimia

Berdasarkan penelitian Sari *et al.* (2010) telah melakukan skrining fitokimia daun sirsak mengandung senyawa aktif seperti saponin, flavonoid, tanin, dan alkaloid.

4.1. Flavonoid. Flavonoid biasanya berwarna kuning atau merah jingga berubah bila ditambah basa atau amonia sehingga senyawa flavonoid mudah dideteksi pada kromatogram atau dalam larutan. Mekanisme kerja senyawa flavonoid yakni dengan mendenaturasikan protein sel dan merusak membran sel mikroorganisme. Substansi yang dapat mendenaturasikan protein sel dan merusak sel tanpa dapat diperbaiki lagi sehingga pertumbuhan mikroba terhambat (Gunawan dan Mulyani 2004).

4.2. Alkaloid. Senyawa alkaloid tidak memiliki warna, bersifat optis aktif, kebanyakan berbentuk kristal tetapi hanya sedikit yang berupa cairan pada suhu kamar (Harborne 2006). Senyawa alkaloid memiliki kemampuan sebagai

antibakteri dilakukan dengan menggunakan komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan sel bakteri tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel pada bakteri (Alamsyah *et al.* 2014).

4.3. Saponin. Senyawa saponin adalah senyawa aktif yang permukaannya kuat yang menimbulkan busa jika dikocok dalam air dan pada konsentrasi yang terendah menyebabkan hemolisis sel darah merah (Lenny 2006). Senyawa saponin dapat merusak membran sitoplasma mengakibatkan sifat permeabilitas membran sel berkurang sehingga transport zat ke dalam sel dan ke luar sel menjadi tidak terkontrol. Enzim-enzim keluar dari sel bersama dengan zat-zat seperti air dan nutrisi dapat menyebabkan metabolisme terhambat sehingga terjadi penurunan ATP yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan sel, selanjutnya pertumbuhan sel bakteri menjadi terhambat dan menyebabkan kematian sel (Antika 2014).

4.4. Tanin. Tanin termasuk senyawa polifenol. Tanin merupakan senyawa bersifat fenol yang mempunyai rasa yang sepat dan kemampuan menyamak kulit. Tanin dapat larut dalam air dan membentuk larutan koloid. Mekanisme kerja senyawa tanin dengan cara merusak permeabilitas barrier dalam mikroorganisme sehingga bersifat sebagai antibakteri (Harborne 2006).

5. Kegunaan tanaman

Daun sirsak (*Annona muricata* L.) secara empiris bisa dimanfaatkan untuk mengobati kanker, asma, bronchitis, batuk, diabetes, bisul, borok, disentri, demam, hipertensi, kurap, kejang dan tumor (Putri 2011).

Menurut hasil penelitian Sousa *et al.* (2010), daun sirsak bisa digunakan untuk mencegah dan mengobati abses, hipertensi, penyakit hati, sakit kepala dan diabetes. Menurut hasil penelitian Foong dan Hamid (2012), daun sirsak secara empiris juga digunakan untuk mengobati sakit kepala, demam, sakit gigi, batuk dan asma.

B. Tanaman Alpukat (*Persea americana* Mill.)

1. Sistematika Alpukat

Sistematika tanaman alpukat menurut *United States Department of Agriculture* (2014), sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Dicotyledoneae
Subkelas	: Magnoliidae
Ordo	: Laurales
Famili	: Lauraceae
Genus	: Persea
Spesies	: <i>Persea americana</i> Mill.



Gambar 2. Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) (*United States Department of Agriculture* 2014).

2. Nama daerah tanaman Alpukat

Jawa Barat: alpuket, Jawa Timur/Jawa Tengah: alpokat, Batak: buah pokat dan jambo pokat, Lampung: advokat, jambo mentega, jambo poonan, dan pookat (Puti Hika 2009). Berbagai negara, tanaman alpukat dikenal dengan nama *advokat*, *advocatier*, *alligator pear*, *avocado pear* (Inggris); *poire d'avocat* (Prancis); *abacate* (Portugal); *aguacte palta* (Spanyol) (Dalimartha 2008).

3. Morfologi tanaman Alpukat

Pohon alpukat memiliki ketinggian 3-10 meter, berakar tunggang, batang berkayu, bulat, warnanya coklat, bercabang banyak, serta ranting berambut halus. Daun tunggal, dengan tangkai yang panjangnya 1-5,5 cm, letaknya berdesakan di ujung ranting, bentuknya jorong sampai bundar telur memanjang, tebal seperti kulit, ujung dan pangkal ranting, bentuknya jorong sampai bundar telur memanjang, tebal seperti kulit, ujung dan pangkal runcing, serta bertulang menyirip. Daun alpukat memiliki panjang 10-20 cm, lebar 3-10 cm, daun muda berwarna kemerahan dan berambut rapat. Pohon alpukat berbunga majemuk, berkelamin dua, dan tersusun dalam malai yang keluar dekat ujung ranting. Bunga tersembunyi dengan warna hijau kekuningan dan memiliki ukuran 5-10 mm. Buah alpukat bertipe buni, bentuk bola atau bulat telur panjangnya 5-50 mm, memiliki kulit lembut tak rata berwarna hijau tua hingga ungu kecoklatan berbiji satu. Buah tumbuh tergantung pada varietasnya. Daging buah alpukat berwarna hijau dekat kulit dan kuning dekat biji yang memiliki tekstur lunak dan lembut. Biji bulat seperti bola, diameter 2,5-5 cm, keping biji putih kemerahan (Prawita 2012).

4. Kandungan kimia

Daun alpukat (*Persea americana* Mill.) telah dilakukan skrining fitokimia dan terdapat kandungan saponin, flavonoid dan alkaloid (Ismiyati 2014), dan tanin. (Antia *et al.* 2005).

4.1. Flavonoid. Flavonoid termasuk senyawa fenol yang larut dalam air dan dapat diekstraksi dengan etanol 70%, senyawa flavonoid biasanya berwarna kuning atau merah jingga berubah bila ditambah basa atau amonia sehingga senyawa flavonoid mudah dideteksi pada kromatogram atau dalam larutan. Mekanisme kerja senyawa flavonoid yakni dengan mendenaturasika protein sel dan merusak membran sel mikroorganisme. Substansi yang dapat mendenaturasikan protein sel dan merusak sel tanpa dapat diperbaiki lagi sehingga pertumbuhan mikroba terhambat (Gunawan dan Mulyani 2004).

4.2. Alkaloid. Senyawa alkaloid tidak memiliki warna, bersifat optis aktif, kebanyakan berbentuk kristal tetapi hanya sedikit yang berupa cairan pada suhu kamar (Harborne 2006). Senyawa alkaloid memiliki kemampuan sebagai

antibakteri dilakukan dengan menggunakan komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan sel bakteri tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel pada bakteri (Alamsyah *et al.* 2014).

4.3. Tanin. Tanin termasuk senyawa polifenol. Tanin merupakan senyawa bersifat fenol yang mempunyai rasa yang sepat dan kemampuan menyamak kulit. Tanin dapat larut dalam air dan membentuk larutan koloid. Mekanisme kerja senyawa tanin dengan cara merusak permeabilitas barier dalam mikroorganisme sehingga bersifat sebagai antibakteri (Harborne 2006).

4.4. Saponin. Senyawa saponin adalah senyawa aktif yang menimbulkan busa jika dikocok dalam air dan pada konsentrasi yang terendah menyebabkan hemolisis sel darah merah (Lenny 2006). Senyawa saponin dapat merusak membran sitoplasma mengakibatkan sifat permeabilitas membran sel berkurang sehingga transport zat ke dalam sel dan ke luar sel menjadi tidak terkontrol. Enzim-enzim keluar dari sel bersama dengan zat-zat seperti air dan nutrisi dapat menyebabkan metabolisme terhambat sehingga terjadi penurunan ATP yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan sel, selanjutnya pertumbuhan sel bakteri menjadi terhambat dan menyebabkan kematian sel (Antika *et al.* 2014).

5. Kegunaan tanaman

Menurut penelitian Letje *et al.* (2012), bagian organ tanaman alpukat yang banyak dimanfaatkan adalah daunnya. Daun alpukat dapat menyembuhkan penyakit kencing batu, disentri, radang gusi dan nyeri haid. Menurut penelitian Tersono (2008), daun alpukat rasanya pahit bermanfaat sebagai diuretik dan menghambat pertumbuhan *Staphylococcus* sp, *Pseudomonas* sp, *Proteus* sp, *Escherichea* sp dan *Bacillus* sp, juga bermanfaat untuk menyembuhkan kencing batu, darah tinggi dan sakit kepala. Daun alpukat yang jika dibuat teh dapat menyembuhkan nyeri saraf, nyeri lambung, bengkak saluran pernapasan dan haid tidak teratur. Hasil penelitian Zuraidhah (2008), masyarakat lokal menemukan adanya pemanfaatan daun alpukat untuk mengobati penyakit darah tinggi dan sakit kepala.

C. Efek Kombinasi Obat

Dua obat yang digunakan pada saat bersamaan, dimaksudkan untuk melihat khasiat masing-masing obat yang saling mempengaruhi yaitu memperlihatkan kerjasama (sinergis) atau kerja berlawanan (antagonis). Efek dari kombinasi tersebut menurut Tan dan Raharja (2007): Antagonis adalah kegiatan obat pertama dikurangi atau dihilangkan sama sekali oleh obat kedua yang memiliki khasiat farmakologi yang berlawanan, sedangkan sinergisme adalah kerjasama antara dua obat dari dua jenis yaitu adisi (Penambahan) dan potensiasi (peningkatan). Efek kombinasi sama dengan jumlah kegiatan dari masing-masing obat disebut adisi sedangkan untuk kedua obat saling memperkuat khasiat sehingga terjadi efek yang melebihi jumlah matematis disebut potensiasi.

D. Simplisia

Simplisia merupakan bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan, kecuali dinyatakan lain berupa bahan yang dikeringkan (Kemenkes RI 2015). Simplisia dibagi menjadi tiga golongan, yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia mineral. Simplisia nabati adalah simplisia yang dapat berupa tanaman utuh, bagian tanaman, eksudat tanaman, atau gabungan antara ketiganya. Simplisia hewani adalah simplisia berupa hewan utuh atau zat-zat yang berguna dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni. Simplisia mineral adalah simplisia yang berupa mineral belum diolah atau telah diolah dengan cara yang sederhana dan belum berupa bahan kimia murni (Gunawan dan Mulyani 2004).

1. Pengumpulan simplisia

Bagian yang diambil dari tanaman misalnya daun, bunga, buah, akar atau rimpang. Pengumpulan bahan, harus memperhatikan kondisi khusus, misalnya bagian tanaman, waktu panen, bahan yang dipanen dan teknik panen. Pengumpulan bahan sebaiknya tidak dicampur dengan bahan lainnya (Kemenkes RI 2015).

2. Perajangan simplisia

Beberapa jenis bahan simplisia perlu mengalami proses perajangan, perajangan bahan simplisia dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan, penggilingan, dan penyimpanan. Perajangan dilakukan dengan pisau atau alat perajang khusus yang didesain sedemikian rupa sehingga menghasilkan rajangan yang seragam. Prinsip dari perajangan adalah semakin tipis ukuran hasil rajangan maka semakin cepat proses penguapan air sehingga mempercepat waktu pengeringan (Kemenkes RI 2015).

3. Pengeringan simplisia

Pengeringan simplisia bertujuan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama, dan untuk mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik untuk mencegah penurunan mutu atau kerusakan simplisia. Pengeringan simplisia dapat dilakukan dengan sinar matahari, oven, uap panas, dan alat khusus. Pengeringan memerlukan hal khusus yang harus diperhatikan selama proses, yaitu suhu pengeringan, kelembaban udara, aliran udara, waktu, dan luas permukaan bahan (Kemenkes RI 2015).

4. Pengemasan dan penyimpanan simplisia

Pengemasan simplisia dapat menggunakan wadah yang inert, tidak beracun, dapat melindungi simplisia dari cemaran serta mencegah adanya kerusakan. Penyimpanan simplisia sebaiknya di tempat yang kelembabannya rendah, terlindung dari sinar matahari langsung, dan gangguan serangga (Amalina 2008).

E. Metode Penyarian

1. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu cara untuk menarik satu atau lebih zat dari bahan asal dengan menggunakan cairan penyari yang sesuai. Ekstraksi dilakukan bertujuan untuk mendapatkan atau memisahkan sebanyak mungkin zat-zat yang dapat digunakan untuk pengobatan, sehingga lebih mudah untuk dipergunakan dan tujuan pengobatan pun lebih terjamin. Simplisia yang digunakan secara

umumm dikeringkan terlebih dahulu namun terkadang simplisia segar pun juga digunakan (Syamsuni 2006). Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semuanya atau hampir semua pelarut diuapkan hingga mendapatkan masa atau serbuk sisa yang diperlukan sesuai baku yang telah ditetapkan (Depkes 1995).

2. Maserasi

Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari. Cairan penyari yang dapat digunakan yaitu air, etanol dan pelarut lain. Maserasi adalah salah satu jenis metode ekstraksi dengan sistem tanpa pemanasan atau dikenal dengan istilah ekstraksi dingin, jadi pada metode maserasi pelarut dan sampel tidak mengalami pemanasan sama sekali, sehingga maserasi dapat digunakan untuk senyawa yang tidak tahan pemanasan ataupun tahan panas (Hamdani 2014). Keuntungan dari cara penyarian dengan maserasi adalah mudah dikerjakan dan alat yang digunakan sangat sederhana, sedangkan kerugian maserasi adalah pengerjaannya yang tergolong lama dan penyariannya yang kurang sempurna (Depkes 1986). Maserasi dilakukan dengan merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, sehingga zat aktif akan larut. Terjadi kesetimbangan konsentrasi di dalam dan di luar sel akibat peristiwa tersebut (Gunawan dan Mulyani 2004).

F. Pelarut

Pemilihan pada sistem pelarut harus mempertimbangkan banyak hal, pelarut yang baik memenuhi persyaratan yaitu murah dan mudah diperoleh, netral, stabil secara fisika atau kimia, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, tidak beracun, selektif menarik zat berkhasiat yang diinginkan dan tidak mempengaruhi zat berkhasiat (Depkes 1986). Pemilihan pada pelarut yang akan digunakan dalam

ekstraksi berdasarkan daya larut zat aktif, serta zat yang tidak diinginkan tergantung preparat yang diperlukan (Ansel 1989). Pelarut yang digunakan dalam penelitian adalah:

1. Etanol

Etanol termasuk pelarut polar dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, kumarin, antraknon, flavonoid, steroid, damar dan klorofil sedangkan lemak, tanin dan saponin hanya sedikit larut. Zat pengganggu yang larut dalam etanol hanya sedikit (Depkes 1986). Etanol lebih dipertimbangkan dalam pemilihan sebagai penyari karena mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, lebih selektif, tidak beracun, netral, absorbsinya baik, kapang dan kuman sulit tumbuh, dapat bercampur dengan air dalam segala perbandingan, serta panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit (Indraswari 2008).

G. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis merupakan metode untuk pemisahan kandungan dalam suatu zat berkhasiat dan zat lain yang ada dalam sediaan dengan cara penyarian berfraksi, penyerapan atau penukaran ion pada zat padat berpori, menggunakan cairan atau gas mengalir. (Depkes RI 1977). Metode kromatografi lapis tipis menggunakan lempeng kaca atau aluminium yang sudah dilapisi oleh zat penyerap dan memiliki ketebalan tertentu umumnya 0,2 mm, untuk lempeng preparative tebalnya hingga 1-2 cm (Heinrich *et al.* 2004).

Teknik kromatografi memerlukan zat terlarut dalam terdistribusi diantara dua fase, yakni fase diam dan fase gerak. Fase diam yang biasanya digunakan adalah silika gel, sedangkan fase gerak adalah membawa zat terlarut melalui media hingga terpisah dari zat terlarut lainnya, yang terelusi lebih awal atau akhir. Zat terlarut umumnya dibawa melewati media pemisah oleh aliran suatu pelarut berbentuk cairan atau gas yang disebut eluen (Farmakope Herbal 2008).

Kelebihan dari KLT adalah keserbagunaan, kecepatan, dan kepekaan. Keserbagunaan KLT disebabkan oleh kenyataan bahwa di samping selulosa,

sejumlah penyerap yang berbeda dapat disaputkan pada pelat kaca atau penyangga lain. Kecepatan KLT dipengaruhi oleh sifat penyerap yang lebih padat bila disaputkan pada elat maka, silika gel yang paling banyak digunakan. Kekurangan dari KLT adalah kerja penyaputan pelat kaca dengan penyerap, pengeringan pada suhu kamar dan pengaktifan dengan pemanasan pada suhu 100°C-110°C selama 30 menit (Harborne 2006).

H. Bioautografi

Bioautografi merupakan metode skrining mikrobiologi yang umum digunakan untuk mendeteksi adanya aktivitas antimikroba. Skrining merupakan prosedur pertama, yang dilakukan pada sampel yang akan dianalisis, untuk mengetahui ada atau tidaknya analit yang didapat. Metode skrining ini memberikan sensitivitas yang lebih tinggi daripada metode lainnya. (Choma 2010).

Metode bioautografi dibedakan menjadi tiga yaitu, bioautografi kontak, bioautografi imersi atau bioautografi overlay dan bioautografi langsung. Bioautografi kontak, plat kromatografi diletakkan pada permukaan agar yang telah diinokulasi mikroba uji selama beberapa menit atau jam sehingga proses difusi dapat terjadi. Plat kromatogram diambil dan media agar diinkubasi. Daerah hambatan ditunjukkan dengan adanya spot antimikroba yang menempel pada permukaan media agar. Bioautografi imersi, plat kromatogram dicelup pada medium agar, setelah agar memadat ditambahkan mikroorganisme uji lalu diinkubasi, gabungan dari bioautografi kontak dan bioautografi langsung karena, senyawa antimikroba ditransfer dari kromatogram ke media agar. Bioautografi langsung, plat KLT dicelupkan pada suspensi mikroorganisme kemudian diinkubasi (Choma 2010).

Keuntungan dari metode bioautografi adalah dapat digunakan untuk mengetahui aktivitas biologi secara langsung dari senyawa kompleks, terutama yang terkait dengan kemampuan suatu senyawa untuk menghambat pertumbuhan mikroba, juga dengan metode bioautografi dapat mendeteksi gabungan senyawa

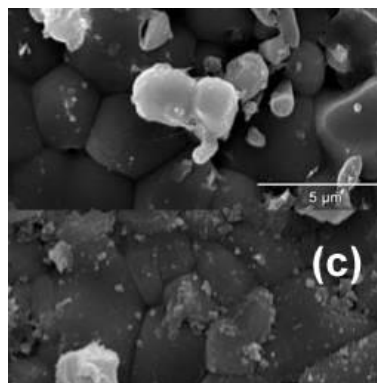
serta metode bioautografi memiliki kelebihan lainnya, yaitu prosesnya cepat, mudah dilakukan, murah, hanya membutuhkan peralatan yang sederhana dan interpretasi hasilnya relatif mudah dan akurat. Kekurangan dari metode bioautografi adalah harus digunakan pembanding deteksi bercak dan tidak dapat digunakan untuk menentukan KHM dan KBM (Kusumaningtyas *et al.* 2008; Pratiwi 2008).

I. *Streptococcus mutans*

1. Klasifikasi *Streptococcus mutans*

Klasifikasi bakteri *Streptococcus mutans* menurut *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (2009), adalah sebagai berikut:

Domain	: Bacteria
Kingdom	: Monera
Phylum	: Firmicutes
Class	: Bacili
Ordo	: Lactobacilalles
Famili	: Streptococcaceae
Genus	: Streptococcus
Spesies	: <i>Streptococcus mutans</i>



Gambar 3. Bentuk mikroskopis *Streptococcus mutans* (National Center for Biotechnology Information 2010).

2. Morfologi dan karakteristik bakteri

Streptococcus mutans merupakan bakteri Gram positif, bersifat nonmotil (tidak bergerak), anaerob, dan termasuk dalam jenis bakteri fakultatif yang sering ditemukan dalam rongga mulut manusia dan berperan dalam menyebabkan terjadinya karies gigi. Bakteri *Streptococcus mutans* tumbuh secara optimal pada temperatur 18°C-40°C. *Streptococcus mutans* ditemukan pada rongga mulut manusia dan menjadi bakteri utama dalam menyebabkan pembentukan karies pada email gigi. Pengamatan dibawah mikroskop memperlihatkan bahwa morfologi bakteri *Streptococcus mutans* memiliki bentuk *coccus* dengan diameter 1-2 µm dan menyerupai bentuk rantai (Nugraha 2008).

3. Patogenesis

Penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Streptococcus mutans* adalah karies gigi. Penyebab terjadinya karies gigi bertambah parah adalah seperti asupan sukrosa, ketahanan *host* (gigi) dan saliva, setelah mengkonsumsi makanan yang mengandung sukrosa atau beberapa menit setelah penyikatan gigi dilakukan, glikoprotein yang melekat (kombinasi molekul protein dan karbohidrat) akan tetap bertahan pada gigi untuk mulai membentuk plak pada permukaan email gigi. Bakteri *Streptococcus mutans* dalam jumlah yang sangat banyak juga terkandung pada glikoprotein. Bakteri jenis lain banyak melekat pada gigi namun hanya *Streptococcus mutans* yang dapat menyebabkan karies gigi (Nugraha 2008).

Tahap yang lebih lanjut, bakteri *Streptococcus mutans* akan menggunakan fruktosa maupun sukrose sebagai sumber energi untuk memetabolisme glikolisis. Proses metabolisme glikolisis dibutuhkan suatu enzim yakni enzim glukosiltransferase yang dapat menyebabkan polimerisasi glukosa pada sukrosa dengan pelepasan fruktosa, sehingga dapat mensintesis molekul glukosa yang memiliki berat molekul yang tinggi yang terdiri dari ikatan glukosa alfa (1-6) dan alfa (1-3). Pembentukan ikatan alfa (1-3) menyebabkan glukosa sangat erat berikatan dengan permukaan gigi sehingga tidak larut dalam air, hal ini merupakan kondisi yang menguntungkan bagi *Streptococcus mutans* untuk berkembang dan membentuk plak pada permukaan gigi (Nugraha 2008).

Enzim glukosiltransferase juga dapat meningkatkan jumlah molekul glukosa dalam membentuk dextran yang memiliki struktur mirip dengan *amylose*. Dextran bersama dengan bakteri akan melekat erat pada permukaan email gigi yang menyebabkan pembentukan plak pada gigi (Nugraha 2008). Hasil akhir dari glikolisis di bawah kondisi anaerobik adalah terbentuknya asam laktat. Asam laktat yang dihasilkan akan menyebabkan tingkat keasaman (pH) yang ekstrim dalam pada bagian dalam dari plak yang melekat pada permukaan email gigi sehingga akan menyebabkan kalsium fosfat yang terkandung pada email gigi akan larut, hal ini akan lebih buruk apabila efek *buffer* saliva tidak mampu lagi untuk menahan larutnya email karena tingginya konsentrasi asam laktat (Ikegami 1997). Proses berlangsung terus menerus dalam jangka waktu lama (kronis) maka akan menyebabkan karies gigi (Nugraha 2008).

J. Antibakteri

Antibakteri adalah zat atau senyawa kimia yang digunakan untuk membasmi bakteri, khususnya bakteri yang merugikan manusia (Jawetz *et al.* 2001). Ruang lingkup bakteri dapat dipengaruhi zat antibakteri yang disebut dengan spektrum antibakteri. Berdasarkan spektrum aksinya, zat antibakteri dibagi menjadi 3 meliputi spektrum luas, spektrum sempit dan spektrum terbatas. Spektrum luas yaitu zat antibakteri tersebut efektif melawan prokariot, baik membunuh atau menghambat bakteri Gram negatif dan Gram positif dalam ruang lingkup yang luas. Spektrum sempit yaitu zat antibakteri yang efektif melawan sebagian bakteri Gram positif atau negatif. Spektrum terbatas yaitu zat antibakteri yang efektif melawan spesies bakteri tertentu (Agustrina 2011).

1. Mekanisme kerja antibakteri

Menurut Ganiswara (2009), mekanisme kerja antibakteri dibagi dalam lima kelompok.

1.1. Penghambatan metabolisme sel bakteri. Bakteri membutuhkan asam folat untuk hidup, sehingga mensintesis sendiri asam folat dari asam para amino benzoat (PABA) untuk kebutuhan hidupnya. Antibakteri bersaing dengan PABA

untuk disertakan dalam pembentukan asam folat, maka terbentuknya analog asam folat nonfungsional, sehingga kebutuhan asam folat tidak terpenuhi, dimana bisa menyebabkan kematian bakteri. Contoh: sulfonamida dan trimetoprim.

1.2. Penghambatan sintesis dinding sel bakteri. Dinding sel bakteri terdiri dari polipeptidoglikan yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Antibakteri menghambat reaksi yang paling dini dalam proses sintesis dinding sel. Tekanan osmotik yang ada di dalam sel bakteri lebih tinggi daripada di luar sel maka kerusakan dinding sel bakteri akan menyebabkan terjadinya lisis, yang merupakan dasar efek bakterisida pada bakteri yang peka. Contoh: penisilin, sefalosporin, basitrasin, vankomisin dan sikloserin.

1.3. Mengganggu keutuhan membran sel bakteri. Antibakteri dengan senyawa amonium-kuartener dapat merusak membran sel setelah bereaksi dengan fosfat pada fosfolipid membran sel bakteri. Antibakteri tersebut tidak efektif terhadap bakteri Gram positif karena jumlah fosfor bakteri rendah dan Gram negatif menjadi resisten. Kerusakan membran sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat, nukleotida dan lain-lain. Contoh: polimiksin, golongan polien serta berbagai antibakteri kemoterapeutik.

1.4. Penghambatan sintesis protein sel bakteri. Sintesis protein pada bakteri berlangsung di ribosom dengan bantuan mRNA. Mekanisme kerja antibakteri adalah menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA pada waktu sintesis protein dan mengakibatkan terbentuknya protein yang abnormal dan nonfungsional bagi sel bakteri. Contoh: golongan aminoglikosida, makrolida, linkomisin, tetrasiklin dan kloramfenikol.

1.5. Penghambatan sintesis asam nukleat sel bakteri. Rifampisin merupakan salah satu antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri yang berikatan dengan enzim polimerase-RNA (pada *sub unit*) sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut. Golongan kuinolon memiliki mekanisme kerja dengan menghambat enzim DNA girase pada kuman yang sangat panjang menjadi bentuk spiral hingga muat di dalam sel bakteri yang kecil.

K. Media

Media adalah substansi yang terdiri dari nutrisi tertentu yang diperlukan untuk menumbuhkan bakteri tertentu dan mempelajari sifat-sifat bakteri. Komposisi nutrisi media yang komplis mengandung sumber karbon, nitrogen, belerang, fosfat, logam mikro, vitamin, penyubur, NaCl dan air. Kristal violet, *brilian green*, *bile salt*, natrium selenit, antibiotik dan anti jamur sebagai penghambat atau pembunuh bakteri atau jamur yang tidak diinginkan (Sutarma 2000).

1. Klasifikasi media

Media adalah bahan yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme di atas atau di dalamnya. Keasaman (pH) medium amat penting bagi pertumbuhan organisme terutama kerja enzim yang mana sangat dipengaruhi oleh pH (Hadioetomo 2005). Ada tiga bentuk media antara lain:

1.1. Media padat. Media padat ditambah 12-15 gram tepung agar-agar per 1.000 ml media. Jumlah tepung agar-agar harus rendah bagi media yang memerlukan kadar air tinggi, sedangkan untuk media yang memerlukan kadar air rendah penambahan tepung harus sedikit. Media padat umumnya diperlukan untuk bakteri, ragi dan jamur.

1.2. Media cair. Media cair dipergunakan untuk pembikinan mikro alga tetapi juga mikro lain, terutama bakteri dan ragi. Media cair biasanya tidak ditambahkan zat pematat.

1.3. Media semi cair atau padat. Media semi cair atau padat diperlukan untuk pertumbuhan mikroba yang banyak memerlukan kandungan air dan hidup aerobik atau fakultatif. Penambahan zat pematat hanya 50% atau kurang dari seharusnya. (Suriawiria 2005).

L. Sterilisasi

Bahan atau peralatan yang akan digunakan di dalam mikrobiologi harus dalam keadaan steril, dimana bahan atau peralatan tersebut tidak didapatkan

mikroba yang tidak diharapkan kehadirannya, baik yang mengganggu atau merusak media ataupun mengganggu kehidupan dan proses yang sedang dilakukan (Waluyo 2004).

Sterilisasi yang umum dilakukan antara lain sterilisasi secara fisik yaitu dengan pemanasan, penggunaan sinar X, dan penggunaan sinar UV. Sterilisasi secara kimia dengan menggunakan desinfektan, larutan alkohol, larutan formalin. Sterilisasi secara mekanik dilakukan dengan penggunaan saringan atau filter untuk bahan yang akibat pemanasan tinggi atau tekanan tinggi mengalami perubahan atau penguraian sehingga dapat menahan bakteri. Media agar yang digunakan disterilkan terlebih dahulu dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Alat-alat dari gelas yang ada ukurannya disterilkan dengan Autoklaf dan yang tidak ada ukurannya disterilkan dengan oven pada suhu 170°C-180°C selama 2 jam. Alat-alat seperti jarum ose disterilkan dengan pemanasan api langsung. (Darmadi 2008; Suriawiria 2005).

M. Metode Pengujian Aktivitas Antibakteri

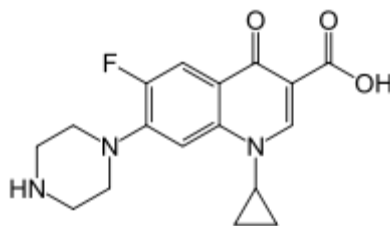
1. Metode difusi

Metode difusi merupakan metode yang paling sering digunakan. Metode difusi dapat dilakukan dengan menggunakan 3 cara yaitu metode silinder, metode lubang atau sumuran, dan metode cakram kertas. Metode lubang atau sumuran berdasarkan kemampuan senyawa antibakteri yang diuji untuk menghasilkan jari-jari pada zona penghambatan yang berada di sekeliling sumur uji terhadap antibakteri yang digunakan sebagai pengujian. Kelebihan dari metode sumuran mudah dilakukan, biaya relatif murah, dan peralatan yang digunakan lebih mudah. Kekurangannya lubang/sumuran pada media harus diperhatikan ukuran dan kedalamannya dan volume mikropipet yang digunakan harus dipastikan sesuai (Nurainy *et al.* 2008).

N. Siprofloksasin

Siprofloksasin merupakan senyawa bakterisid turunan fluorokuinolon. Mekanisme kerja dari obat golongan kuinolon adalah dengan mengganggu biosintesis dari asam nukleat mikroba sehingga mempengaruhi seluruh fase pertumbuhan sel bakteri. Kerja antibiotik dalam menghambat secara efektif sintesis asam nukleat (DNA) bakteri yaitu dengan memblokir sub unit A enzim DNA-girase, suatu tipe II topoisomerase. Hambatan tersebut menyebabkan sintesis DNA bakteri terganggu, sehingga menyebabkan bakteri mati. Penghambatan suatu antibiotika terhadap bakteri penyebab infeksi juga tergantung pada spektrum antibiotik. Spektrum adalah luas aktivitas obat anti-mikrobal terhadap suatu jenis bakteri. Antibiotika dengan spektrum luas efektif baik terhadap bakteri Gram negatif maupun bakteri Gram positif. Siprofloksasin digunakan untuk pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri Gram negatif, seperti *Escherichia coli*, *Mirabilis*, *Klebsiella sp*, *Shigella sp*, *Enterobacter* dan *Pseudomonas aeruginosa*, serta bakteri Gram positif, seperti *Staphylococcus sp*, dan *Streptococcus sp* (Siswandono dan Soekardjo 2008).

Penelitian terbaru dilakukan oleh Muhtar *et al.* (2017) juga menunjukkan bahwa golongan bakteri *Streptococcus sp* merupakan golongan bakteri yang sensitif terhadap antibiotik Siprofloksasin dengan hasil yang diperoleh dari penelitian menggunakan antibiotik Siprofloksasin memiliki tingkat sensitif sebesar 93,35%, intermediet sebesar 6,25%, dan resisten sebesar 0%.



Gambar 4. Struktur Siprofloksasin (Farmakope Indonesia Ed. V).

O. Landasan Teori

Karies gigi adalah merupakan suatu penyakit jaringan keras gigi yang disebabkan oleh bakteri *Streptococcus mutans*. Bakteri *Streptococcus mutans* merupakan bakteri Gram positif, bersifat nonmotil, anaerob, tumbuh secara optimal pada temperatur 18°C-40°C dan termasuk dalam jenis bakteri fakultatif yang sering ditemukan dalam rongga mulut manusia serta menempel pada permukaan gigi karena kemampuannya membuat polisakarida yang lengket dari karbohidrat dan dapat difermentasikan sehingga terbentuk asam dan menurunkan pH di bawah pH kritis. Penurunan pH yang berulang-ulang dalam waktu tertentu dapat menyebabkan demineralisasi permukaan gigi dan proses karies. *Streptococcus mutans* memiliki suatu enzim, yaitu glukosiltransferase (GTF) yang akan mengubah glukosa menjadi glukosa ekstraseluler yang tidak larut air dan sangat lengket sehingga akan terbentuk plak gigi sehingga terjadinya proses karies gigi. Mencegah karies gigi dilakukan dengan meminimalisasi pertumbuhan dari bakteri *Streptococcus mutans* dengan menggunakan agen antibakteri.

Tanaman tradisional yang mempunyai potensi sebagai antimikroba diantaranya ada tanaman sirsak (*Annona muricata* L.) dan tanaman alpukat (*Persea americana* Mill.).

Daun sirsak telah dilakukan skrining fitokimia dan terdapat kandungan tannin, alkaloid, saponin, flavonoid yang mempunyai kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri (Tuna *et al.* 2015). Sirsak sebagai antibakteri, diketahui memiliki spektrum luas yang aktivitas antibakterinya dapat membunuh bakteri Gram positif dan Gram negatif. Berdasarkan hasil penelitian dari Melisa *et al.* (2015), menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak didapatkan rata-rata diameter zona hambat terhadap *Staphylococcus aureus* sebesar 12,3 mm.

Berdasarkan hasil penelitian Friska *et al.* (2017), menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dengan KHM pada konsentrasi 125mg/ml. Berdasarkan hasil penelitian Raudhatul *et al.* (2017), menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun sirsak dengan konsentrasi 5, 10, 15, 20 dan 25% dapat menghambat

pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dengan masing-masing diameter hambat sebesar 9,1; 10,57; 11,53; 12,01 dan 13,75 mm.

Menurut penelitian Adha (2009), telah dilakukan penapisan fitokimia bahwa daun alpukat mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin yang berfungsi sebagai antibakteri. Berdasarkan hasil penelitian Muthmainnah (2017), menunjukkan bahwa ekstrak daun alpukat dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambatan rata-rata pada konsentrasi 2% adalah 12,66 mm, konsentrasi 4% adalah 14,33 mm, konsentrasi 8% adalah 15,33 mm, dan konsentrasi 16% adalah 18,33 mm. Berdasarkan hasil penelitian Aditya (2015), menunjukkan ekstrak etanol daging, daun dan biji alpukat menghasilkan diameter zona hambat terhadap bakteri *Streptococcus mutans* yaitu 11,425 mm; 12,7 mm dan 9,75 mm. Berdasarkan hasil penelitian Bahruddin *et al.* (2018), menunjukkan bahwa ekstrak biji alpukat dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dengan masing-masing zona hambat sebesar 11,51; 12,39; 13,61; 13,53 dan 15,02 mm.

Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri adalah dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel bakteri (Darsana *et al.* 2012). Flavonoid mendenaturasi protein sel dan merusak membran sel dari mikroorganisme dan bersifat *irreversible* atau tidak dapat diperbaiki lagi sehingga pertumbuhan dari mikroba terhambat (Gunawan dan Mulayani 2004). Menurut Sari (2011), tanin juga mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Saponin sebagai antibakteri yaitu dapat menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel.

Penelitian ini untuk menguji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap *Streptococcus mutans* ATCC 35668 dengan metode difusi menggunakan cara sumuran serta metode bioautografi.

P. Hipotesis

Berdasarkan permasalahan yang ada, dapat disusun hipotesis sebagai berikut:

Pertama, kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun alpukat mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* ATCC 35668.

Kedua, dapat ditentukan kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun alpukat yang mampu mempunyai aktivitas antibakteri paling efektif terhadap *Streptococcus mutans* ATCC 35668.

Ketiga, golongan senyawa yang terkandung dalam kombinasi ekstrak daun sirsak dan daun alpukat yang mampu menghambat aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* ATCC 35668 yaitu flavonoid, saponin dan tanin.