

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. DASAR TEORI**

##### **1. Karies**

###### **a. Definisi**

Karies gigi adalah penyakit kronik, prosesnya berlangsung sangat lama berupa hilangnya ion-ion mineral secara kronis dan terus menerus dari permukaan enamel pada mahkota atau permukaan akar yang sebagian besar distimulasi oleh adanya beberapa flora bakteri dan produk-produk yang dihasilkannya (Kidd, 1991; McIntyre, 2005).

###### **b. Penyebab**

Menurut Yuwono (2003) faktor yang memungkinkan terjadinya karies yaitu :

###### **1) Umur**

Terdapat tiga fase umur yang dilihat dari sudut gigi geligi yaitu :

a) Periode gigi campuran, disini molar 1 paling sering terkena karies

b) Periode pubertas (remaja) umur antara 14 tahun sampai 20 tahun pada masa pubertas terjadi perubahan hormonal yang dapat menimbulkan pembengkakan gusi, sehingga kebersihan mulut menjadi kurang terjaga. Hal ini yang

menyebabkan persentase karies lebih tinggi

- c) Umur antara 40- 50 tahun, pada umur ini sudah terjadi retraksi atau menurunnya gusi dan papila sehingga sisa-sisa makanan lebih sukar dibersihkan

## 2) Kerentanan permukaan gigi

### a) Morfologi gigi

Daerah gigi yang mudah terjadi plak sangat mungkin terjadi karies.

### b) Lingkungan gigi

Lingkungan gigi meliputi jumlah dan isi saliva (ludah), derajat kekentalan dan kemampuan buffer yang berpengaruh terjadinya karies, ludah melindungi jaringan dalam rongga mulut dengan cara pelumuran elemen gigi yang mengurangi keausan oklusi yang disebabkan karena pengunyahan. Pengaruh buffer, sehingga naik turun pH dapat ditekan dan diklasifikasikan elemen gigi dihambat, agregasi bakteri yang merintang kolonisasi mikroorganisme, aktivitas anti bakterial, pembersihan mekanis yang dapat mengurangi akumulasi plak.

## 3) Air ludah

Pengaruh air ludah terhadap gigi sudah lama diketahui terutama dalam mempengaruhi kekerasan email. Air ludah ini dikeluarkan oleh: kelenjar parotis, kelenjar sublingualis dan kelenjar submandibularis. Selama 24 jam air ludah dikeluarkan glandula

sebanyak 1000–1500 ml, kelenjar submandibularis mengeluarkan 40% dan kelenjar parotis sebanyak 26%. Pada malam hari pengeluaran air ludah lebih sedikit, secara mekanis air ludah ini berfungsi membasahi rongga mulut dan makanan yang dikunyah. Sifat enzimatik air ludah ini ikut didalam pengunyahan untuk memecahkan unsur-unsur makanan. Hubungan air ludah dengan karies gigi telah diketahui bahwa pasien dengan sekresi air ludah yang sedikit atau tidak ada sama sekali memiliki persentase karies gigi yang semakin tinggi misalnya oleh karena : terapi radiasi kanker ganas, xerostomia, pasien dalam waktu singkat akan mempunyai persentase karies yang tinggi. Sering juga ditemukan pasien-pasien balita berumur 2 tahun dengan kerusakan atau karies seluruh giginya, aplasia kelenjar parotis.

#### 4) Bakteri

Menurut Yuwono (2003) tiga jenis bakteri yang sering menyebabkan karies yaitu :

##### a) *Streptococcus*

Bakteri kokus gram positif ini adalah penyebab utama karies dan jumlahnya terbanyak di dalam mulut, salah satu spesiesnya yaitu *Streptococcus mutans*, lebih dibandingkan yang lain dapat menurunkan pH medium hingga 4,3%. *Streptococcus mutans* terutama terdapat populasi yang

b) *Actinomyces*

Semua spesies aktinomises memfermentasikan glukosa, terutama membentuk asam laktat, asetat, suksinat, dan asam format. *Actinomyces visocus* dan *Actinomises naesundil* mampu membentuk karies akar, fisur dan merusak periodontonium.

c) *Lactobacilus*

Populasinya mempengaruhi kebiasaan makan, tempat yang paling disukai adalah lesi dentin yang dalam. *Lactobasillus* dianggap sebagai faktor pembantu proses karies.

5) Plak

Plak ini terbentuk dari campuran antara bahan-bahan air ludah seperti mucin, sisa-sisa sel jaringan mulut, leukosit, limposit dengan sisa makanan serta bakteri. Plak ini mula-mula terbentuk, agar cair yang lama kelamaan menjadi kelat, tempat bertmbuhnya bakteri.

6) Frekuensi makan

Makanan yang menyebabkan karies (makanan kariogenik). Frekuensi makan dan minum tidak hanya menimbulkan erosi, tetapi juga kerusakan gigi atau karies gigi. Konsumsi makanan manis pada waktu senggang jam makan akan lebih berbahaya daripada saat waktu makan utama.

### **c. Proses Terjadinya Karies**

Proses terjadinya karies gigi dimulai dengan adanya plak di permukaan gigi, sukrosa (gula) dari sisa makanan dan bakteri berproses menempel pada waktu tertentu yang berubah menjadi asam laktat yang akan menurunkan pH mulut menjadi kritis (5,5) yang akan menyebabkan demineralisasi email (Suryawati, 2010).

Mekanisme terjadinya karies berhubungan dengan proses demineralisasi dan remineralisasi (McIntyre, 2005). Plak pada permukaan gigi terdiri dari bakteri yang memproduksi asam sebagai hasil metabolismenya. Asam ini kemudian akan melarutkan mineral kalsium fosfat pada enamel gigi atau dentin dalam proses yang disebut demineralisasi. Apabila proses ini tidak dihentikan atau dibalik menjadi remineralisasi, maka akan terbentuk kavitas pada enamel yaitu, karies (Featherstone, 2000).

### **d. Pencegahan Karies**

Menurut Mansjoer (2009), penatalaksanaan pencegahan karies gigi dilakukan dengan:

#### **1) Perawatan mulut**

Perawatan mulut dilakukan dengan mempraktekkan instruksi berikut :

##### **a) Sikatlah gigi sekurang-kurangnya dua kali sehari pada waktu-**

waktu yang tepat yaitu waktu sesudah makan, sebelum tidur,

ditambah dengan sesudah bangun tidur

- b) Pilihlah sikat gigi yang berbulu halus, permukaan datar dan kepala sikat kecil.
- c) Gunakan *dental floss* (benang gigi) sedikitnya satu kali sehari.
- d) Gunakan pencuci mulut anti plak yang mengandung antibiotik (*vancomycin*), enzim (*destronase*) dan antiseptik (*chlor hexidine* 0, 1%).
- e) Untuk anak yang masih kecil dan belum dapat menggunakan sikat gigi dengan benar, dapat digunakan kain pembersih yang tidak terlalu tipis untuk membersihkan bagian depan dan belakang gigi, gusi serta lidah. Cara mempergunakan yaitu dengan melilitkan pada jari kemudian digosokkan pada gigi.
- f) Kunjungi dokter gigi sedikitnya 6 bulan sekali atau bila mengalami pengelupasan gigi, luka *oral* yang menetap lebih dari dua minggu akibat sikat gigi.

## 2) Diet

Karies dapat dicegah dengan menurunkan jumlah gula dalam makanan yang dikonsumsi. Hindari kebiasaan makan makanan yang merusak gigi (permen, coklat dan lain sebagainya) dan membiasakan mengkonsumsi makanan yang menyehatkan gigi (buah dan sayur).

## 3) Flouridasi

Flouridasi dilakukan dengan memungkinkan dokter gigi memberikan sel *dental* pada gigi, menambahkan *flouride* pada suplai air minum di rumah, penggunaan pasta gigi yang mengandung

*flouride* atau menggunakan tablet, tetesan atau hisap *natrium flouride*. Karies gigi dapat dihindari/dicegah apabila anak melakukan perawatan gigi dengan benar setelah mengkonsumsi makanan kariogenik.

## 2. Ciplukan (*Physalis angulata* L.)

### a. Definisi

Ceplukan atau ciplukan (*Physalis angulata* L.) adalah nama sejenis buah kecil yang ketika masak tertutup oleh perbesaran kelopak bunga. Buah ini juga dikenal dengan berbagai nama daerah seperti *keceplukan*, *ciplukan* (Jawa); *nyornyoran*, *yoryoran* (Madura); *cecendet*, *cecendetan*, *cecenetan* (Sunda); dan lainnya. Ceplukan merupakan tumbuhan semak semusim, tumbuh di tanah-tanah kosong yang tidak terlalu becek, pinggir selokan, serta pinggir kebun dan sawah. Tanaman ini umumnya diperbanyak secara vegetatif, yaitu dengan stek batang atau cabang, dengan memotong pucuk tanaman yang telah berumur 4 minggu yang berasal dari biji tanaman yang telah tua (Agoes, 2010).

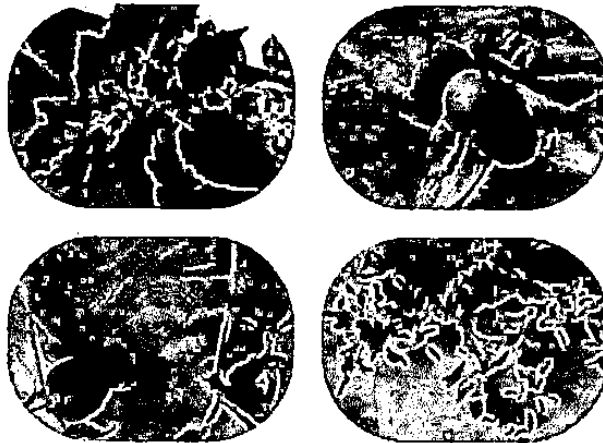
### b. Klasifikasi

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

<i>Divisio</i>	: <i>Spermatophyta</i> ,
<i>Sub division</i>	: <i>Angiospermae</i> .
<i>Familia</i>	: <i>Tubiflorae (Solanales, Personatae)</i> .
<i>Ordo</i>	: <i>Solanaceae</i> .
<i>Genus</i>	: <i>Physalis</i> .
<i>Spesies</i>	: <i>Physalis angulata</i> L.

### c. Morfologi

Menurut Backer dan Bakhuizen (1965), tanaman ciplukan memiliki morfologi sebagai berikut :



**Gambar 1. Tanaman Ciplukan**

#### 1) Daun

Tanaman ciplukan memiliki daun tunggal, bertangkai, bagian bawah tersebar, diatas berpasangan, helaian; bentuk bulat telur-bulat memanjang-lanset, dengan ujung runcing, ujung tidak sama, runcing-tumpul-membulat-meruncing, bertepi rata atau bergelombang-berigi, 5-15 x 2,5-10,5cm.

#### 2) Bunga

Tanaman ciplukan memiliki bunga tunggal, diujung atau ketiak daun, simetri banyak, tangkai bunga tegak dengan ujung yang mengangguk, langsing, lembayung, 8-23 mm, kemudian tumbuh sampai 3 cm. Kelopak berbentuk genta, 5, cuping runcing, herbasi, hijau dengan rusuk yang



### 3) Buah

Tanaman ciplukan memiliki buah dengan kelopak dewasa menggantung, bentuk telur, panjang 2-4 cm, kuning hijau, berurat lembayung, tipe buah buni, bulat memanjang, pada waktu masak kuning, panjang 14-18 mm, dapat dimakan.

#### d. Kandungan Kimia

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. (Garcia *et al.*, 2009). Menurut (Sudarsono, 2002), komposisi detail pada bagian tanaman *Physalis angulata* L. di antaranya: Herba: Fisalin B, Fisalin D, Fisalin F, Withangulatin A.

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*, *E. Coli*, *N.gorrhoeae* dan *C. albican* (Silva *et al.*, 2005). Biji: 12-25% protein, 15-40% minyak lemak dengan komponen utama asam palmitat dan asam stearat. Akar: alkaloid. Daun: glikosida flavonoid (luteolin). Tunas: flavonoid dan saponin.

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 algae hingga *gimnospermae* (Mursyidi, 1989). Flavonoid yang merupakan senyawa dari polifenol ternyata mempunyai efek antimikroba yang nyata (Toda *et al.*, 1991). Flavonoid mempunyai kemampuan daya antibakteri dengan cara mendenaturasi protein bakteri, membentuk kompleks dengan dinding sel bakteri dan merusak membran sel bakteri (Lisdawati, 2002).

### 3. Bakteri *Lactobacillus acidophilus*

#### a. Definisi

Bakteri *Lactobacillus acidophilus* merupakan salah satu kelompok bakteri asam laktat, yaitu bakteri yang menghasilkan sejumlah besar asam laktat sebagai hasil akhir dari metabolisme gula (karbohidrat). Asam laktat yang dihasilkan dengan cara tersebut akan menurunkan nilai pH dari lingkungan pertumbuhannya, menimbulkan rasa asam dan menghambat pertumbuhan dari beberapa jenis mikroorganisme lainnya. Spesies dari kelompok ini mampu berkembang dalam kadar oksigen yang rendah untuk pertumbuhannya (katalase negatif), dan sangat tahan terhadap asam serta dapat tumbuh pada kisaran pH 3,0 – 6,0, sering disebut asidofil (Buckle *et al.*, 1985).

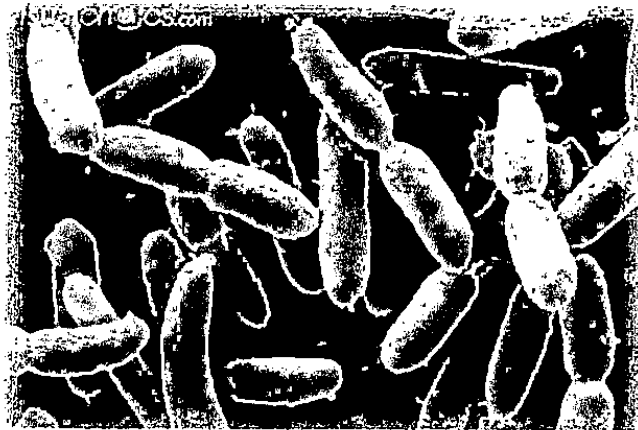
Volk and Wheeler (1989), menyatakan bahwa bakteri asam laktat merupakan bakteri yang mempunyai sifat mikroaerofil atau anaerob. Organisme ini memiliki syarat hara yang kompleks dan semuanya memerlukan berbagai jumlah asam amino dan vitamin

untuk pertumbuhannya. Selain itu bakteri asam laktat memerlukan karbohidrat yang dapat difermentasikan sebagai sumber energi.

Bakteri *Lactobacillus acidophilus* merupakan salah satu dari kelompok bakteri gram positif yang menyebabkan gigi berlubang. Badet dan Thebud (2008) pada studinya mengemukakan bahwa bakteri *Lactobacillus* muncul pada kavitas *oral* pada anak berumur 5 tahun dan jumlahnya sangat tinggi pada saliva, pundak lidah, membran mukosa, palatum durum, plak gigi dan sedikit pada permukaan gigi. Bakteri *Lactobacillus acidophilus* akan bergabung bersama protein yang ditemukan dalam saliva dan sisa-sisa makan, sehingga membentuk plak dan mengeluarkan asam (EMBL, 2013). Perkembangan plak gigi akan menyebabkan peningkatan level karies yang disebabkan oleh bakteri *Lactobacillus* dan *Streptococcus mutans*. Jumlah bakteri *Lactobacillus* dapat mengindikasikan terjadi resiko karies tinggi jika jumlah *Lactobacillus* pada saliva mencapai  $10^5$  per 1 ml saliva (Slomkowska dan Zrobek, 2007). Bakteri *Lactobacillus acidophilus* dapat ditemukan pada kavitas gigi yang luas pada daerah *groove*, hal ini disebabkan karena daya adhesi bakteri ini tidak terlalu baik. Tetapi apabila bakteri *Lactobacillus acidophilus* sudah terletak pada kavitas, maka bakteri ini akan mempercepat proses karies gigi (Dahlgren, 2000).

### b. Klasifikasi *Lactobacillus acidophilus*

Klasifikasi *Lactobacillus acidophilus* secara lengkap menurut (Orla-Jensen, 1924) , adalah sebagai berikut :



**Gambar 2. Bakteri *Lactobacillus acidophilus***

(Sumber : [www.visualphotos.com/image/1x3745780/lactobacillus\\_acidophilus\\_lactbacillus](http://www.visualphotos.com/image/1x3745780/lactobacillus_acidophilus_lactbacillus))

Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Phylum	: <i>Firmicutes</i>
Class	: <i>Bacilli</i>
Order	: <i>Lactobacillales</i>
Family	: <i>Lactobacillaceae</i>
Genus	: <i>Lactobacillus</i>
Species	: <i>Lactobacillus acidophilus</i>

Bakteri genus ini mempunyai ciri-ciri morfologi sebagai berikut: warna koloni putih susu dan sedikit krem, bentuk koloni bulat. Sel berbentuk batang dan biasanya tetap. Biasanya berbentuk batang panjang, tetapi hampir 78% Jurnal Natur Indonesia menyatakan bulat, biasanya bentuk rantai yang pendek, Gram (+), tidak motil, oksidase positif, katalase negatif, *metil red* positif, optimum pada suhu 30-37°C dan tumbuh baik pada NaCl 3-7%.

Menurut Holt (1994) dalam Feliatra (2004), bakteri *Lactobacillus sp* termasuk bakteri fakultatif anaerob, kadang-kadang mikroaerofilik, sedikit tumbuh di udara tapi bagus pada keadaan di bawah tekanan

oksigen rendah, beberapa anaerob pada isolasi. Umumnya bakteri ini tumbuh baik pada 5% CO<sub>2</sub>. Koloni pada media agar biasanya 2-5 mm, cembung, dan tanpa pigmen, *kemoorganotrof*, metabolismenya adalah fermentatif dan *Saccharoclastic*. Sedikit dari produk akhir karbon adalah laktat, tidak menghasilkan nitrat, tumbuh optimum pada suhu 30-40°C.

#### 4. Uji Aktivitas Antibakteri

Penentuan aktivitas antibakteri secara *in vitro* dapat dikelompokkan dalam dua metode, yaitu : Metode turbidimetri ( metode tabung ) dan metode difusi ( metode lempeng ) (Wattimena, 1981).

##### a. Dilusi

Metode dilusi menggunakan antimikroba dengan kadar atau konsentrasi yang menurun secara bertahap ,baik media padat maupun cair (Jawetz *et al.*, 1996). Metode pada media cair akan 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

selama semalam. Hasilnya dapat diketahui dengan mengamati kekeruhannya. Konsentrasi antimikroba terkecil yang dapat digunakan untuk menghambat bakteri disebut *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC). Setelah melakukan metode dilusi cair yang mendapatkan konsentrasi antimikroba terkecil yang dapat digunakan untuk menghambat bakteri, dilusi padat adalah suatu tahap yang dapat memberikan hasil konsentrasi antimikroba terkecil yang dapat digunakan untuk membunuh bakteri tersebut (Jawetz, 2005).

#### **b. Difusi**

Metode yang paling sering digunakan adalah metode difusi agar. Cakram kertas saring berisi sejumlah tertentu obat ditempatkan pada permukaan medium padat yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji pada permukaannya. Setelah inkubasi, diameter zona hambatan sekitar cakram dipergunakan mengukur kekuatan hambat obat terhadap organisme uji. Metode ini dipengaruhi oleh beberapa faktor fisik dan kimia. Interpretasi terhadap hasil uji difusi baru didasarkan perbandingan terhadap metode dilusi. Beberapa data perbandingan bisa digunakan sebagai standart referensi. Grafik regresi linier dapat menunjukkan hubungan antara *log* Kadar Hambat Minimum pada cara dilusi dan diameter zone hambatan pada cara difusi cakram (Jawetz

c. *Man Rogosa Sharpe Agar (MRSA)*

MRSA merupakan media yang diperkenalkan oleh De Mann, Rogosa, dan Shape (1960) untuk memperkaya, menumbuhkan, dan mengisolasi jenis *Lactobacillus* dari seluruh jenis bahan. MRS agar mengandung polysorbat, asetat, magnesium, dan mangan yang diketahui untuk beraksi/bertindak sebagai faktor pertumbuhan bagi *Lactobacillus*, sebaik nutrisi diperkaya MRS agar tidak sangat selektif, sehingga ada kemungkinan *Pediococcus* dan jenis *Leuconostoc* serta jenis bakteri lain dapat tumbuh. MRS agar mengandung (Hadioetomo,1993):

1. Protein dari kasein 10 g/L
2. Ekstrak daging 8,0 g/L
3. Ekstrak ragi 4,0 g/L
4. D (+) glukosa 20 g/L
5. Magnesium sulfat 0,2 g/L
6. Agar-agar 14 g/L
7. dipotassium hidrogen phosphate 2 g/L
8. Tween 80 1,0 g/L
9. Diamonium hidrogen sitrat 2 g/L
10. Natrium asetat 5 g/L
11. Mangan sulfat 0,04 g/L

MRSB merupakan media yang serupa dengan MRSA yang berbentuk cair/*broth*. Untuk mengisolasi bakteri asam laktat dari sampel biasanya digunakan media MRSA yang ditambahkan  $\text{CaCO}_3$ . Isolasi bakteri asam laktat pada media MRSA yang mengandung  $\text{CaCO}_3$  sangat mudah karena ditandai dengan adanya zona terang di sekeliling koloninya. Adanya zona terang merupakan akibat diproduksinya asam yang menetralkan  $\text{CaCO}_3$  yang terdapat pada

media selama pertumbuhan bakteri asam laktat tersebut (Widyastuti dan Sofarianawati 1999). Bakteri yang menunjukkan zona bening yang luas berarti memiliki efektifitas yang tinggi.

## 5. Ekstraksi

Menurut Lucas Howard J. dan David Pressman (1949), dalam buku *Principles and Practice In Organic Chemistry*, ekstraksi adalah suatu proses pemisahan dari bahan padat maupun cair dengan bantuan pelarut. Pelarut yang digunakan harus dapat mengekstrak substansi yang diinginkan tanpa melarutkan material lainnya. Ekstraksi padat cair atau *leaching* adalah transfer difusi komponen terlarut dari padatan *inert* ke dalam pelarutnya. Proses ini merupakan proses yang bersifat fisik karena komponen terlarut kemudian dikembalikan lagi ke keadaan semula tanpa mengalami perubahan kimiawi. Ekstraksi dari bahan padat dapat dilakukan jika bahan yang diinginkan dapat larut dalam solven pengestraksi. Ekstraksi berkelanjutan diperlukan apabila padatan hanya sedikit larut dalam pelarut. Namun sering juga digunakan pada padatan yang larut karena efektivitasnya.

Maserasi merupakan suatu metode ekstrak yang paling sederhana dilakukan dengan serbuk simplisia dalam cairan penyari (ansel, 1989 dalam baraja, 2008). Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari (pelarut). Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang megandung zat aktif. Zat aktif akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan dan zat



aktif didalam sel dengan yang diluar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar, peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel. Pada penyarian dengan maserasi, perlu dilakukan pengadukan. Pengadukan untuk meratakan konsentrasi larutan di luar serbuk simplisia, sehingga dengan pengadukan tersebut tetap terjaga adanya derajat perbedaan konsentrasi yang sekecil-kecilnya antara larutan di dalam sel dengan larutan di luar sel. Maserasi merupakan suatu metode ekstrak yang paling sederhana dilakukan dengan serbuk simplisia dalam cairan penyari dalam sampel (Meolan, 1999 dalam Wulandari, 2005).

## B. LANDASAN TEORI

Penelitian ini bermaksud untuk mengetahui lebih jauh daya antibakteri ekstrak daun ciplukan yang memiliki senyawa aktif dalam menghambat dan membunuh bakteri pada rongga mulut, khususnya pada bakteri penyebab karies yaitu *Lactobacillus acidophilus*.

Salah satu bakteri penyebab karies gigi adalah *Lactobacillus acidophilus* karena organisme ini memfermentasikan karbohidrat untuk membentuk asam dan dapat bertahan hidup dalam lingkungan asam (*aciduric*).

*Physalis angulata* L. adalah tumbuhan liar, ciplukan biasa ditemukan bercampur dengan tanaman lainnya dikebun dan sawah yang mengering. Tumbuhan ini mempunyai kandungan kimia yang sudah diketahui diantaranya adalah *misalin, flavonoid dan saponin*. Daun ciplukan terdapat

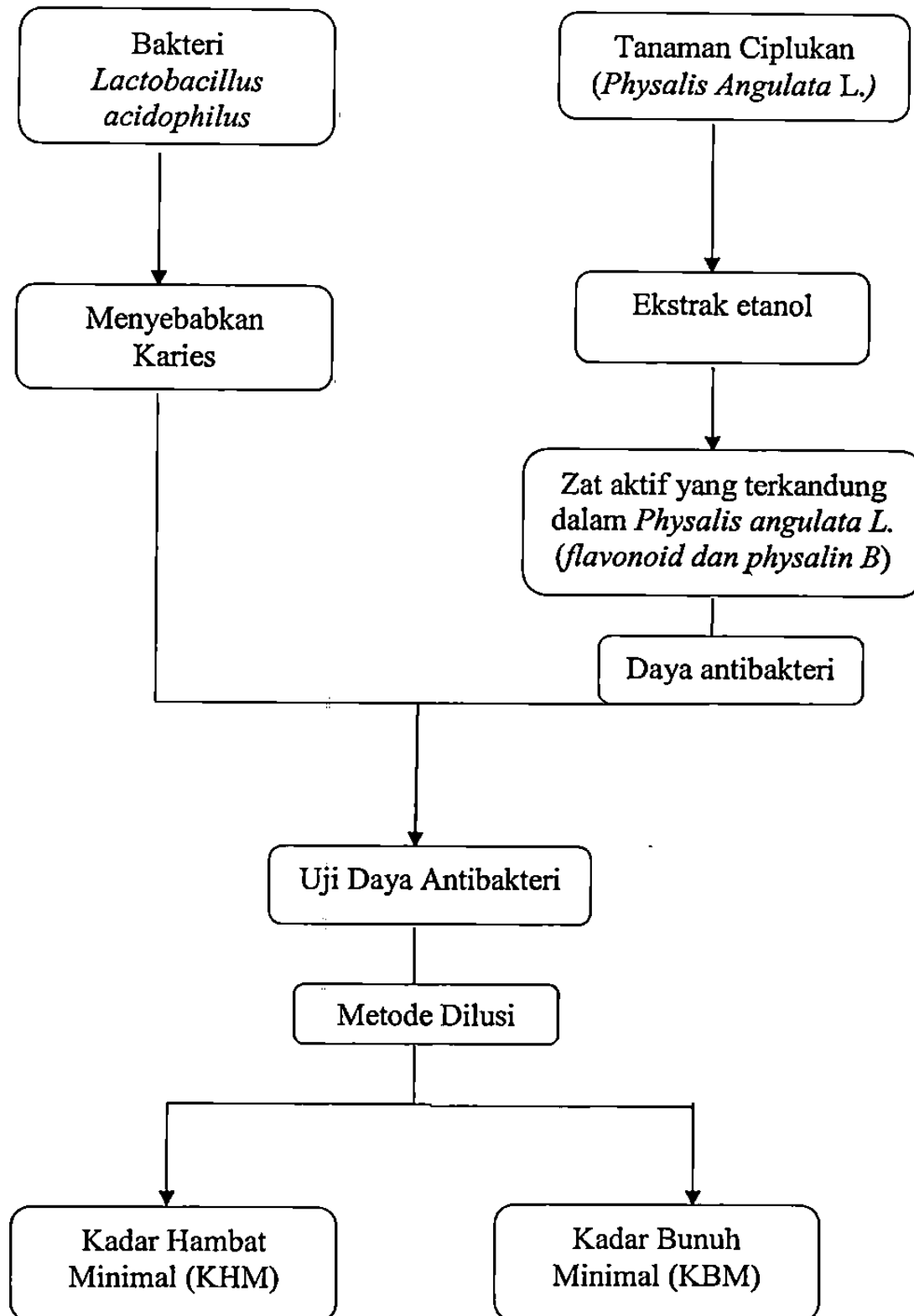
kandungan senyawa zat aktif yang dominan bersifat antibakteri yaitu *pysalin* dan *flavonoid*.

Flavonoid merupakan golongan senyawa bahan alam dari senyawa fenolik yang berperan sebagai pigmen tumbuhan. Flavonoid merupakan bagian penting dari diet kita karena banyak manfaatnya bagi kesehatan. Pada banyak kasus flavonoid dapat berperan secara langsung sebagai antibiotik dengan mengganggu fungsi dari mikroorganisme seperti bakteri atau virus. Physalin B termasuk dalam kategori steroid, lakton yang memiliki rumus kimia  $C_{28}H_{30}O_9$ . *Physalin B* juga diketahui mempunyai sifat antimikroba

Beberapa penelitian yang sudah dilakukan mengenai tumbuhan ciplukan (*Physalis angulata* L.) seperti yang telah dilakukan oleh Donkor dan Glover (2012) didapatkan hasil aktifitas yang tinggi pada ekstrak buah *Pysalis angulata* L. dan oitment zinc oxide yang dikombinasikan dengan buah *Physalis angulata* L. dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil penelitian Kumar *et al.* (2011) menunjukkan bahwa ekstrak daun ciplukan yang menggunakan ethanol lebih memperlihatkan aktifitas yang lebih besar terhadap anti-inflamasi (85,9%) dan anti-rematik sebesar 82,9%.

Penelitian ini bermaksud untuk mengetahui lebih jauh daya antibakteri ekstrak daun ciplukan yang memiliki senyawa aktif dalam menghambat dan membunuh bakteri pada rongga mulut, khususnya pada bakteri penyebab karies yaitu *Lactobacillus acidophilus*. Dengan terdapatnya pengaruh daya antibakteri pada ekstrak daun ciplukan terhadap bakteri *Lactobacillus*

### C. KERANGKA KONSEP



Gambar 3. Kerangka Konsep Penelitian

#### D. HIPOTESIS

Berdasarkan teori yang teruraikan pada tinjauan pustaka, maka hipotesis penelitian ini dapat dirumuskan sebagai berikut : terdapat pengaruh ekstrak daun ciplukan (*Pysalis angulata* L.) memiliki pengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Leptobacillus acidophilus*

## BAB III

### METODOLOGI PENELITIAN

#### A. Desain Penelitian

Jenis dari penelitian ini adalah eksperimental murni laboratorium yang dilakukan secara *in vitro*.

#### B. Tempat dan Waktu

Pelaksanaan penelitian dimulai dengan identifikasi tanaman yang dilakukan di Laboratorium Sistematika Tumbuhan Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta, pembuatan bahan uji ekstrak etanol daun ciplukan (*Pysalis angulata* L.) dilakukan di Laboratorium Pengujian LPPT Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Pembuatan kultur bakteri uji dan pelaksanaan uji aktivitas antibakteri dilakukan di Balai Laboratorium Kesehatan (BLK) kota Yogyakarta.

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni sampai dengan bulan Agustus 2013

#### C. Subyek penelitian

##### 1. Bahan Uji

Daun ciplukan (*Pysalis angulata* L.) dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, 3.13%, 1.56%, 0.78%, 0.39% dan 0.2%

##### 2. Bakteri Uji

Bakteri *Lactobacillus acidophilus*.

## D. Identifikasi Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

### 1. Identifikasi Variabel

#### a) Variabel Pengaruh

Ekstrak etanol daun ciplukan (*Physalis angulata* L.)

#### b) Variabel Terpengaruh

Kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM) bakteri *Lactobacillus acidophilus*.

#### c) Variabel Terkendali

- 1) Ekstrak etanol daun ciplukan (*Physalis angulata* L.)
- 2) Volume ekstrak etanol daun ciplukan (*Physalis angulata* L . )  
sebagai penyari
- 3) Strain Bakteri *Lactobacillus acidophilus*
- 4) Waktu inkubasi 18-24 jam
- 5) Suhu inkubasi 37<sup>0</sup>C
- 6) Media pertumbuhan bakteri
- 7) Konsentrasi suspensi kuman 10<sup>6</sup>CFU/ml
- 8) Jenis media kultur bakteri MRSA ( *Man, Rogosa and Sharpe Agar*)
- 9) Jenis medium pembiakan bakteri BHI (*Brain Heart Infusion*)
- 10) Suhu pengeraman
- 11) Lama pengeraman 48 jam

## 2. Definisi Operasional Penelitian

### a. Ekstrak daun ciplukan (*Pysalis angulata* L.)

Ekstrak etanol daun ciplukan (*Pysalis angulata* L.) adalah daun ciplukan yang diperoleh dari daerah Manis Renggo, Klaten. Daun yang dipilih adalah daun yang segar tanpa ada hama ,yang sudah diekstrak dengan metode maserasi dengan penyari etanol 70%.

### b. Pertumbuhan Bakteri

Pertumbuhan bakteri adalah adanya pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus* yang membentuk koloni-koloni setelah diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37<sup>0</sup>C

### c. Daya Antibakteri

Daya antibakteri ekstrak daun ciplukan (*Pysalis angulata* L.) adalah daya hambat atau daya bunuh dari ekstrak daun ciplukan terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus* yang ditentukan dengan kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM).

### d. Kadar Hambat Minimal (KHM)

KHM adalah konsentrasi terendah dari ekstrak daun ciplukan yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus*.

### e. Kadar Bunuh Minimal (KBM)

KBM adalah konsentrasi terendah dari ekstrak daun ciplukan yang dapat membunuh bakteri *Lactobacillus acidophilus*.

Bakteri *Lactobacillus acidophilus* termasuk bakteri Gram positif, tidak berspora, tidak motil oleh flagel, fakultatif anaerob, kadang-kadang mikroaerofilik, sedikit tumbuh di udara tapi bagus pada keadaan di bawah tekanan oksigen rendah Holt (1994) dalam Feliatra (2004).

#### **D. Bahan dan Alat Penelitian**

##### **1. Bahan Penelitian**

- a) Media *Man, Rogosa and Sharpe Agar* (MRSa)
- b) Media cair *Brain Heart Infusion* (BHI)

c) NaCl



## E. Cara kerja

### 1. Persiapan

Penyiapan alat dan bahan serta sterilisasi alat.

### 2. Identifikasi tanaman

Tanaman ciplukan yang sudah dikumpulkan, diambil beberapa sampel untuk dilakukan identifikasi taksonomi tanaman yang dilakukan di Laboratorium Sistematika Tumbuhan Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

### 3. Pembuatan ekstrak etanol daun ciplukan

a. Tanaman ciplukan yang sudah diidentifikasi diambil daunnya yang segar dicuci bersih dengan air sampai bersih lalu dipotong menjadi beberapa bagian. Daun ciplukan dikeringkan dengan menggunakan oven pada temperatur  $60^{\circ}\text{C}$  selama lima hari. Daun ciplukan dibuat serbuk dengan cara ditumbuk menggunakan mortar atau blender. Setelah mendapat serbuk, kemudian dimaserasi selama 24 jam menggunakan etanol 70%. Hasil yang diperoleh disaring menggunakan corong Bucher. Filtrat I diuapkan menggunakan pelarut yang sama. Filtrat disaring dan didapatkan filtrat ke II. Filtrat I dan II dicampur lalu diuapkan pada suhu  $60^{\circ}\text{C}$ - $70^{\circ}\text{C}$  hingga diperoleh ekstrak kental 100%.

b. Kemudian ekstrak daun ciplukan (*Pysalis angulata* L.) diencerkan

sesuai dengan konsentrasi yang ditentukan yaitu 100% 50%

25%, 12.5%, 6.25%, 3.13%, 1.56%, 0.78%, 0.39% dan 0.2% dengan menggunakan aquades steril.

#### 4. Pembuatan suspensi kuman

Koloni bakteri *Lactobacillus acidophilus* disubkultur dalam lempeng agar MRSA selama 24 jam pada suhu 37<sup>0</sup>C. Koloni yang tumbuh dipilih dengan menggunakan ose steril, diinkulasikan pada 2 ml media bahan cair BHI lalu diinkubasikan pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 2-5 jam sampai pertumbuhan bakteri tampak. Kemudian dibuat suspensi bakteri dengan cara suspensi dalam larutan NaCl fisiologis steril sampai kekeruhan sama dengan suspensi larutan standar Brown III yang diidentifikasi dengan konsentrasi kuman sebesar 10<sup>8</sup> CFU/ml. Kuman tersebut diencerkan lagi dengan medium cair BHI sehingga konsentrasi menjadi 10<sup>6</sup> CFU/ml.

#### 5. Uji aktivitas daya antibakteri

Uji daya antibakteri ekstrak etanol daun ciplukan (*Physalis angulata* L.) yaitu dengan metode pengenceran tabung (*tube dilution method*) sebagai berikut :

- a. Disediakan 36 tabung steril dengan 3 kali pengulangan, dimana setiap pengenceran dalam satu ulangan menggunakan 10 tabung dan 2 tabung untuk sisa pengenceran, kontrol pertumbuhan kuman (kontrol positif) dan kontrol media (kontrol negatif). Pengenceran pertama untuk menguji kadar hambat minimal dan kadar bunuh

b. Persiapan tabung uji: disiapkan 12 tabung reaksi steril (2 untuk kontrol):

- 1) Tabung I diisi 1ml filtrat ekstrak 100% + 1ml suspensi bakteri+ 1ml BHI
- 2) Tabung II diisi 1ml filtrat ekstrak 50% + 1ml suspensi bakteri+ 1ml BHI
- 3) Tabung III diisi 1ml filtrat ekstrak 25% + 1ml suspensi bakteri+ 1ml BHI
- 4) Tabung IV diisi 1ml filtrat ekstrak 12,5% + 1ml suspensi bakteri+ 1ml BHI
- 5) Tabung V diisi 1ml filtrat ekstrak 6,25% + 1ml suspensi bakteri+ 1ml BHI
- 6) Tabung VI diisi 1ml filtrat ekstrak 3,13% + 1ml suspensi bakteri+ 1ml BHI
- 7) Tabung VII diisi 1ml filtrat ekstrak 1,56% + 1ml suspensi bakteri+ 1ml BHI
- 8) Tabung VIII diisi 1ml filtrat ekstrak 0,78% + 1ml suspensi bakteri+ 1ml BHI
- 9) Tabung IX diisi 1ml filtrat ekstrak 0,39% + 1ml suspensi bakteri+ 1ml BHI
- 10) Tabung X diisi 1ml filtrat ekstrak 0,2% + 1ml suspensi bakteri+ 1ml BHI
- 11) Tabung XI diisi 1ml BHI + 1ml suspensi bakteri (kontrol +)
- 12) Tabung XII diisi 1ml bahan pengencer + 1ml sisa ekstrak konsentrasi terendah (kontrol -)

c. Selanjutnya seluruh tabung diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ , selama 24jam.

d. Pengamatan ada tidaknya pertumbuhan kuman dengan cara membandingkan kadar kekeruhan dengan kontrol positif.

e. Kadar hambat minimal diperoleh dengan mengamati tabung yang tidak menunjukkan kekeruhan dan adanya pertumbuhan kuman pada

- f. Tabung-tabung subkultur yang tidak memperlihatkan pertumbuhan kuman selanjutnya ditanam dengan menggunakan ose pada medium agar nutrien.
- g. Kemudian diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 48 jam.
- h. Kadar bunuh minimal ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri pada medium agar nutrien pada konsentrasi terendah.

Pembacaan KHM ditentukan dengan melihat kekeruhan pada cairan di dalam tabung reaksi yang dibandingkan dengan kontrol standar.

Pembacaan nilai didasarkan pada :

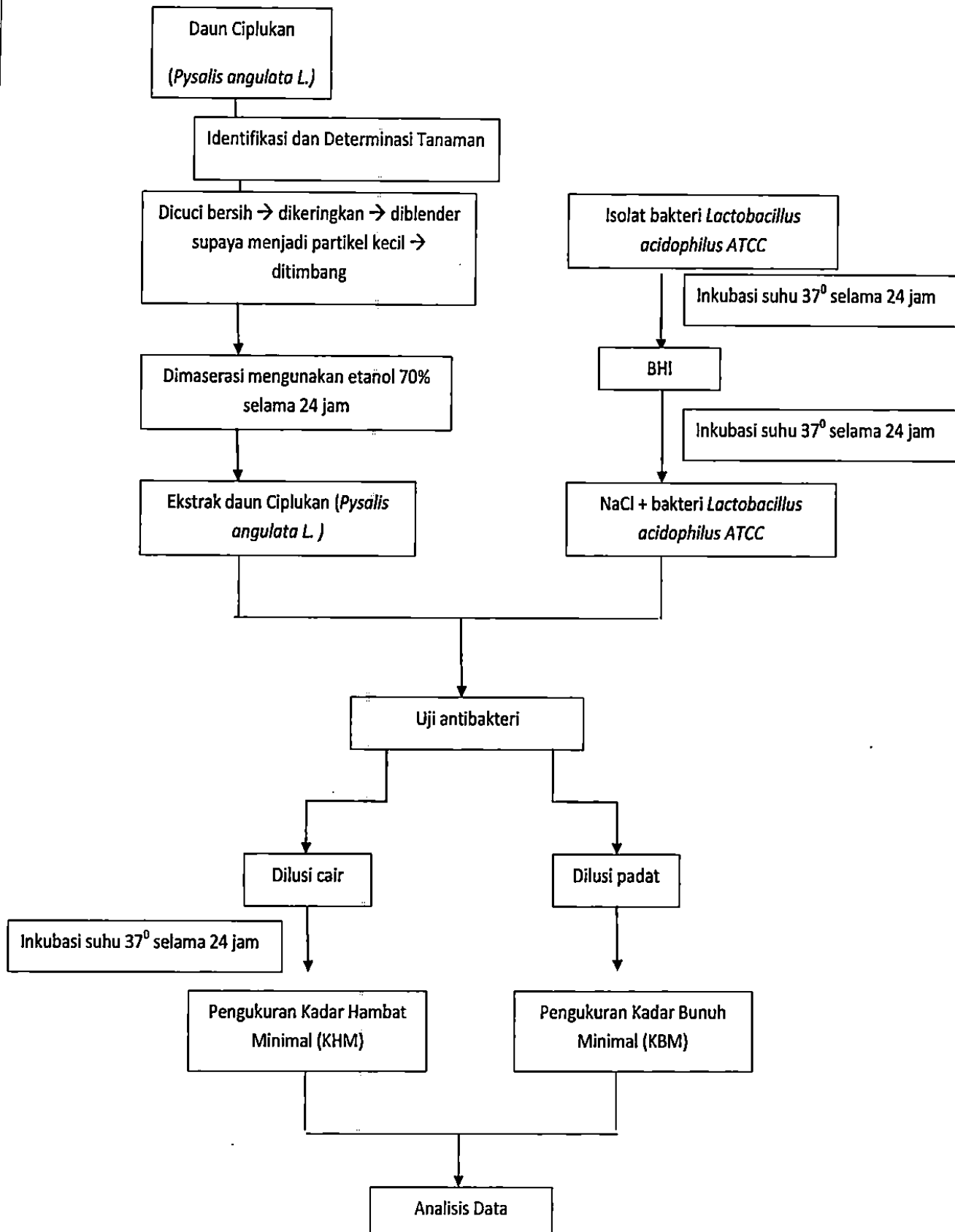
- a. Tanda negatif (-) : melihat adanya kejernihan pada tabung menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus* sehingga ekstrak etanol daun ciplukan dapat menghambat pertumbuhan bakteri.
- b. Tanda positif (+) : melihat adanya kekeruhan pada tabung menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus* sehingga ekstrak daun ciplukan tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Sedangkan pembacaan KBM ditentukan dengan melihat konsentrasi terendah dari bahan uji yang masih dapat membunuh bakteri. Hal ini ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri *Lactobacillus*

## **G. Analisis Data**

Data hasil dari penelitian tersebut dianalisis dengan analisis Deskriptif. Analisis hasil penelitian berupa analisis deskriptif dan bersifat kuantitatif dengan mengukur kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM) dari ekstrak daun *C. glaberrima* dan *C. glaberrima*.

## H. Alur Penelitian



Gambar 4. Alur Penelitian