

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Tanaman Sintrong

Daun Sintrong ialah bagian dari tanaman Sintrong (*Crassocephalum crepidioides*) yang mempunyai senyawa-senyawa metabolit sekunder. Sintrong secara tradisional digunakan sebagai nutraceutical dan diklaim dapat mengobati berbagai penyakit, antara lain gangguan pencernaan, sakit kepala, sakit perut, penyembuhan luka, anthelmintik, antiinflamasi, antidiabetes, dan antimalaria (Adjatin et al, 2013). Tanaman Sintrong berasal dari Afrika dan telah menyebar ke Asia, Australia, Fuji, Tonga, Samoa, dan Amerika Serikat (Grubben dan Denton, 2004). Pada tahun 1926, pabrik Sintrong ditemukan pertama kali di dekat Indonesia, di kota Medan. Kemudian menyebar ke seluruh nusantara. Tanaman ini biasanya ditemukan di kebun, tepi sungai, dan tanah tropis dan subtropis yang lembab (Hidayat dan Napitupulu, 2015).

a. Klasifikasi tanaman sintrong



Gambar 2. 1. Tanaman Sintrong
(Sumber: Kec. Loa kulu, Kutai Kartanegara)

Kingdom : Plantae
Phyllum : Tracheophyta
Kelas : Magnoliopsida
Bangsa : Asterales
Suku : Asteraceae
Marga : *Crassocephalum*
Jenis : *Crassocephalum crepidioides* (Benth.) S.

b. Kandungan Kimia

1) Tanin

Tanin sebagai antibakteri mencegah pembentukan sel bakteri dengan menghalangi enzim reverse transcriptase dan DNA topoisomerase. (Rika, 2014).

2) Steroid

Efek antimikroba steroid terhubung ke membran lipid dan kerentanan terhadap komponen steroid, yang mengakibatkan kebocoran liposom. (Rika, 2014).

3) Saponin

Saponin memiliki mekanisme aksi antibakteri yang melibatkan pelepasan protein dan enzim dari sel. Saponin akan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan menurunkan permeabilitas membran karena senyawa aktif permukaan dan deterjen memiliki sifat yang mirip. Kerusakan pada membran sel secara signifikan menghambat perkembangan kehidupan bakteri (Rika, 2014).

4) Flavonoid

Interaksi flavonoid dengan DNA bakteri mengakibatkan kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom (Rika, 2014).

5) Polifenol

Di dalam protoplasma, polifenol berfungsi sebagai racun yang merusak dan menembus dinding sel bakteri dan menyimpan protein dari bakteri (Rika, 2014).

c. Manfaat Tanaman Sintrong

Tanaman sintrong tidak hanya dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai sayuran, tetapi juga merupakan komponen obat tradisional yang digunakan antara lain untuk menyembuhkan maag, sakit kepala, luka, dan gangguan lambung (Hidayat dan Napitupulu, 2015)

2. Permen Jelly

Permen jelly ialah produk yang bisa dikonsumsi oleh segala kalangan mulai dari anak-anak sampai orang dewasa dan juga mudah dibuat dengan kombinasi dengan bahan lainnya (Ahmad dan Mujdalipah, 2017). Permen jelly ialah permen yang dibuat dari bahan air atau sari buah dan bahan pembentuk gel, yang tampak jernih transparan dan mempunyai struktur dan kekenyalan tertentu (Potter, 1986). Mutu permen jelly dipengaruhi pada tingkat kekenyalannya, biasanya ditambahkan pembentuk gel pada pembuatan permen jelly supaya menghasilkan karakteristik permen jelly yang diinginkan (Ahmad dan Mujdalipah, 2017).



Gambar 2. 2. Permen Jelly
(Sumber :koleksi pribadi)

Menurut Badan Standardisasi Nasional (2008), permen jelly memiliki tekstur yang lembut dan diolah dengan menambahkan bahan hidrokoloid antara lain agar, gum, pektin, pati, karagenan, dan lain-lain yang digunakan untuk mengubah tekstur produk agar lebih kenyal (Rismandari dkk, 2017).

pH merupakan salah satu cara menentukan tingkat keasaman suatu produk pangan. pH permen jelly memiliki kisaran 2,90 hingga 3,24. Pencapaian pH yang rendah juga dapat digunakan sebagai usaha untuk memperpanjang umur simpan produk. Rendahnya pH menunjukkan tingkat keasaman lingkungan. Kondisi yang asam dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme dengan mekanisme terjadinya denaturasi komponen protein pada sel mikroorganisme sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan berhenti (Yohana dkk, 2017).

Salah satu alasan mengapa produk permen jelly memiliki potensi yang tinggi untuk dipasarkan, karena secara umum biasa dikonsumsi masyarakat dari berbagai kalangan baik orang tua atau muda, dan pendapatan rendah hingga tinggi. Hal tersebut diperkuat dengan hasil pengukuran tentang tingkat konsumsi makanan jajanan, permen memiliki persentase 34,4% yang menempati urutan atas kedua setelah pentol, sosis, dan tempura yaitu 37,5% (Fitriyah dan Mahmudiono, 2013). Menurut Anonim (2015), di amerika serikat juga terjadi peningkatan penjualan permen non coklat sebesar 2,1% dan memberikan keuntungan \$10.4 milyar. Data tersebut menunjukkan bahwa pengolahan permen memberikan peluang bisnis yang tinggi.

a. **Bahan baku permen jelly**

1) Bahan aktif

Tabel 2. 1. Bahan Aktif Permen Jelly

No	Kriteria Uji	Satuan	Persyaratan	
			Bukan Jelly	Jelly
1	Kadar air	% fraksi massa	Maks. 7,5	Maks. 20,0
2	Kadar abu	% fraksi massa	Maks. 2,0	Maks. 3,0
3	Gula reduksi	% fraksi massa	Maks. 20,0	Maks. 25,0
4	Sakarosa	% fraksi massa	Min. 35,0	Min. 27,0

Secara spesifik bahan aktif yang akan digunakan harus diseleksi untuk kesehatan rongga mulut, seperti antimikroba dan antiinflamasi.

2) Pembentuk gel

Pektin pembentuk gel yang secara alami terkandung dalam dinding sel tanaman adalah pektin dengan polimer dari asam D- galakturonat yang dihubungkan dengan ikatan β -(1,4)-glukosida. Keberadaan pektin merupakan hasil dari perubahan protopektin selama proses pemasakan buah. Protopektin dengan adanya enzim protopektinase akan diubah menjadi pektin, kemudian dengan enzim pektin metilesterase dipecah kembali menjadi asam pektinat. t. Pektin dalam bentuk asam pektinat memiliki sifat larut dalam air, serta dengan adanya gula dan asam pada konsentrasi yang benar memiliki kemampuan untuk membentuk gel (Desroiser, 1988).

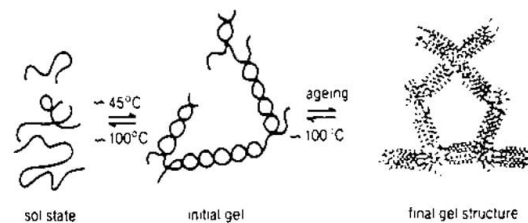
Karagenan adalah polisakarida yang didapat melalui proses ekstraksi dari rumput laut. Polisakarida tersebut memiliki struktur unit D-galaktosa dan L-galaktosa 3,6-anhidrogalaktosa. Karagenan dibedakan menjadi tiga kelompok utama, yaitu kappa karagenan, iota karagenan, dan lamda karagenan. Kappa karagenan terkandung dalam rumput laut jenis *Eucheuma cottoni*, sedangkan iota karagenan dari *Eucheuma spinosum* (Lestari, 2005).

Alginat atau asam alginat secara alami terletak di dinding sel dari alga coklat (*Phaeophyceae*) sebagai garam kalsium, magnesium, dan natrium. Struktur alginat terdiri dari polimer linier dengan lebih dari 700 residu asam uronat yaitu β -D asam manuronat dan α -L asam guluronat dengan ikatan 1,4 (Winarno, 2004). Rantai alginat dibagi menjadi 3 blok, yaitu blok M yang memiliki residu asam manuronat, blok G residu asam gluronat, dan blok MG residu asam manuronat dan asam gluronat (Inukai dan Masakatsu, 1999). Rasio M:G dan persentase MGM berbeda pada berbagai jenis rumput, hal tersebut menyebabkan pembentukan gel yang dihasilkan (Miller, 1996).

Agar atau agar-agar merupakan hasil dari metabolisme primer dari rumput laut *Gracilaria* sp yang memiliki dua fraksi polimer, yaitu agarosa dan agaropektin. Agar juga tergolong kelompok pektin, hanya saja tersusun dari monomer galaktosa. Agarosa memiliki ikatan D-galaktosa yang membentuk ikatan α -1,4 dengan 3,6 anhidro-L-galaktosa, sedangkan rantai D-galaktosa membentuk ikatan antara β -1,4 dengan rantai 3,6 anhidro-L-galaktosa (Glicksman, 1983).

Pembentukan gel yang dihasilkan oleh agar paling kuat karena gel sudah mulai terbentuk pada konsentrasi yang kecil, yaitu 0,04%. Gel yang dibentuk oleh agar-agar memiliki

sifat rigid, rapuh, mudah dibentuk, dan memiliki titik leleh pada suhu tertentu, karena bersifat thermo-reversible (gel akan mencair jika dipanaskan pada suhu titik cairnya). Pendinginan kembali dapat menyebabkan terbentuknya gel kembali (Gambar 2.3). Agar memiliki fenomena histeresis yaitu, karakteristik gel yang memiliki titik cair jauh lebih tinggi dari pada suhu pembentukan gel. Sebagai contoh 1,5% larutan supaya bisa membentuk gel pada pendinginan di suhu 32°C sampai 39°C, serta tidak akan mencair pada suhu dibawah 85°C (Glicksman, 1983) seperti disajikan pada gambar 2.3



Sumber: Glicksman, (1983)

Gambar 2. 3. mekanisme pembentukan gel pada agar

(Sumber : Glicksman, 1983)

Gel pada agar memungkinkan terjadi peristiwa yang disebut sineresis, yaitu suatu fenomena dibebaskannya sejumlah air dari dalam struktur, sehingga memungkinkan terjadinya pengerutan volume. Peristiwa tersebut dapat terjadi pada penyimpanan dingin (Hayashi dan Kanzaki, 1987). Pembentukan gel pada agar (Gambar 2.3) disebabkan oleh tiga buah atom hidrogen dari residu 3,6 anhidro-L-galaktosa yang membentuk molekul dengan struktur helix yang saling berinteraksi. Kekuatan gel dapat dipengaruhi oleh pH dan kandungan gula. pH yang rendah menyebabkan gel semakin lemah (minimal pH 2,5). Kandungan gula yang lebih tinggi akan menciptakan gel

yang keras, namun tekstur kurang kohesif. Viskositas larutan agar akan relatif konstan pada suhu diatas titik pembentukan dan pH 4,5-9 (Glicksman, 1983). Karakteristik agar menurut Tranggono dan Bambang (2009) adalah larut dalam air mendidih, suhu pembentukan gel 37°C, suhu yang menyebabkan gel rusak atau keluarnya air dari struktur gel (sineresis) adalah 60- 70°C.

Bahan pembentuk gel yaitu gelatin berbeda dengan yang lain, karena terdiri dari asam amino yang berikatan dengan ikatan peptida dan memiliki berat molekul 90000g/mol. Gelatin terdapat di kulit, tulang, dan tulang rawan dengan susunan asam amino mirip kolagen. Asam amino utama pembentuknya atau terdiri dari 2/3 bagiannya adalah glisin, sedangkan 1/3 bagian sisanya adalah asam amino prolin dan hidroksiprolin (Chaplin, 2005).

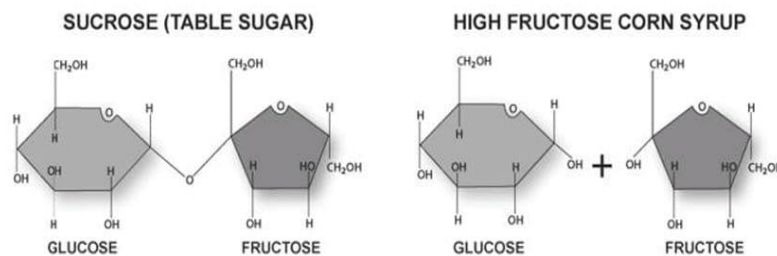
Tipe gelatin terbagi menjadi 2 dari proses pembuatannya, yaitu tipe A dan B. Pembuatan gelatin tipe A diproses dengan merendam pada larutan asam, sedangkan tipe dengan proses alkali. Perbedaan dari kedua tipe gelatin tersebut adalah pada titik isoelektriknya, gelatin A pada pH 9, sedangkan gelatin B pada pH 5. pH lingkungan mendekati titik isoelektrik akan memberikan muatan netral, kalau lebih tinggi memberikan muatan negatif dan kalau lebih rendah memberikan muatan positif.

b. Bahan Pemanis

Gula digunakan sebagai pemanis dan dapat juga sebagai pengawet dengan cara mengikat air sehingga menurunkan ketersediaan air (air bebas). Gula termasuk dalam kelompok karbohidrat yang dapat berupa monosakarida atau oligosakarida Jenis pemanis yang biasa dipakai seperti sukrosa (kristal), glukosa (sirup jagung), dan dekstrosa (kristal D-glukosa). Tingkat kemanisan beberapa pemanis bila

dibandingkan dengan sukrosa=1, maka kemanisan D-galaktosa 0,4-0,6, maltosa 0,3-0,5, laktosa 0,2-0,3 rafinosa 0,15, D-fruktosa 1,32, dan xilitol 0,96- 1,18 (Winarno, 2004).

Sukrosa sering digunakan adalah dalam bentuk gula pasir memiliki peran dalam proses kristalisasi sehingga produk akhir produk menjadi padat. Sukrosa terdiri dari fruktosa dan glukosa yang saling berikatan dan memiliki persentase yang sama yaitu 50% glukosa dan 50% fruktosa. Pemakaian sukrosa pada produk permen bisa dikombinasikan dengan High fructose corn syrup (HFCS) pada perbandingan 19:1 (White, 2014).



Sumber: White, 2014

Gambar 2. 4. Struktur Gula
(Sumber : White, 2014)

1) Sukrosa

Sukrosa ditambahkan ke bahan makanan selama pemrosesan untuk memberi mereka rasa manis. Ini juga dapat digunakan sebagai pengawet karena pada konsentrasi tinggi, itu mencegah pertumbuhan mikroba dengan menurunkan aktivitas air makanan. Disakarida dengan ketersediaan pasar yang tinggi adalah sukrosa. Tebu, bit, siwalan, dan kopyor merupakan sumber utama sukrosa. Sukrosa cukup larut dalam air, dan kelarutan ini menjadi jauh lebih larut ketika dipanaskan. Ketika sukrosa dimasak, terbentuk cairan bening yang cepat berubah warna menjadi karamel (Koswara, 2009). Serta untuk konsentrasi larutan

sukrosa berair berkisar 2%, 6%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, dan 76%. Dan untuk penggunaan *sweetening agent* yaitu 67% (Rowe et al, 2009).

2) Fruktosa'

Manisnya fruktosa 1,12 kali lebih manis dari sukrosa. Dalam pembentukan gel, fruktosa dan sukrosa berkontribusi pada produksi tekstur kasar dan pelunakan permen jelly (Koswara, 2009). Serta untuk konsentrasi larutan fruktosa berkisar 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, dan 60% (Rowe et al, 2009).

c. Bahan pengatur keasaman

Asam sitrat termasuk dalam senyawa organik yang berwujud kristal putih, tidak berwarna, tidak berbau, dan rasa asam. Asam sitrat digunakan sebagai pengatur keasaman untuk mencapai tingkat pH yang diinginkan. Penurunan pH juga dapat berfungsi dalam meperpanjang umur simpan permen jelly. Penggunaan asam sitrat juga dapat mencegah terjadinya kristalisasi gula, mengkatalisator terjadinya hidrolisis sukrosa selama penyimpanan menjadi bentuk gula invert, dan menjernihkan gel. Kisaran penggunaan asam sitrat pada pembuatan permen jelly adalah 0,2% - 0,3% (Firastika dan Wardani, 2016).



Sumber: Firastika dan Wardani, 2016

**Gambar 2. 5. struktur asam sitrat
(Firastika dan Wardani, 2016)**

d. Bahan tambahan pangan

Penggunaan bahan tambahan pangan (BTP) ialah suatu bahan yang dimasukkan ke dalam pangan untuk berpengaruh pada sifat atau bentuk pangan (BPOM, 2013). BTP juga dapat mempengaruhi mutu serta terdapat peraturan yang mengatur jenis dan jumlah penggunaannya pada makanan. BTP yang mungkin digunakan dalam pembuatan permen jelly diantaranya adalah pewarna, pengawet, pemanis, pembentuk gel, dan pengatur keasaman. Penggunaan BTP tersebut secara umum menurut Saprianto dan Hidayati (2006), dilarang penggunaannya untuk tujuan:

- 1) Mengatasi penggunaan material yang tidak sesuai dengan spesifikasi.
- 2) Menutupi cara kerja yang tidak sesuai dengan teknik produksi makanan yang efektif.
- 3) Menutupi kerusakan makanan yang telah terjadi.

e. Pewarna

Bahan pewarna untuk pengaplikasian pada makanan dapat diperoleh dari alam atau pewarna alami dan dapat juga berupa pewarna sintetis. Penggunaan pewarna sintetis umumnya lebih disukai karena harganya yang relatif murah dan dapat memberikan warna yang lebih beragam serta menarik ketika diaplikasikan pada makanan. Penggunaan pewarna sintetis untuk makanan jelas dijabarkan pada peraturan Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM) RI nomor 37 tahun 2013 perkara batas maksimal penggunaan bahan tambahan pangan pewarna. Jenis dan batasan penggunaan pewarna alami serta pewarna sintetis pada makanan dengan kategori pangan 0.05.0 atau 05.2 yaitu kembang gula/permen termasuk permen lunak yang merupakan kategori dari permen jelly.

f. Pengawet

Bahan pengawet pada makanan diatur batas maksimum penggunaannya pada aturan kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan RI nomor 36 Tahun 2013. Pengawet (Preservative) didalam peraturan tersebut diartikan sebagai bahan tambahan pangan yang dipakai agar menangkal atau menahan mikroorganisme dapat merusak makanan melalui fermentasi, pengasaman, pemecahan, dan proses lainnya. Permen jelly tergolong sebagai makanan semi basah dengan Aw berkisar 0,6 hingga 0,85 sehingga jenis mikroorganisme yang masih memungkinkan untuk tumbuh diantaranya adalah kapang, akan tetapi dengan pengolahan yang tepat dapat bertahan hingga 6 sampai 8 bulan (dalam stoples) dan 1 tahun dalam kemasan tertutup (Muchtadi, 2008).

Jenis pengawet yang umum digunakan untuk menghambat pertumbuhan kapang diantaranya adalah asam benzoat. Jenis dan batasan penggunaan bahan pengawet pada makanan dengan kategori pangan 05.0 atau 05.2 yaitu kembang gula/permen termasuk permen lunak yang merupakan kategori dari permen jelly. Bahan pengawet yang diperbolehkan digunakan pada pengolahan pangan menurut peraturan BPOM sebanyak 10 jenis, akan tetapi hanya 2 jenis yang jelas tertulis untuk digunakan dalam pengolahan permen jelly yaitu asam askorbat dan asam benzoat.

3. *Streptococcus mutans*

Pada tahun 1924, Clark pertama kali mengisolasi *Streptococcus mutans* dari gigi manusia yang karies. Karies gigi sangat dipengaruhi oleh keberadaan *Streptococcus mutans*. menyatakan *Streptococcus mutans* diisolasi dari hasil uji mikrobiologi gram. Bakteri ini berbentuk oval dan berbeda dari spesies *Streptococcus* lainnya, itulah sebabnya kadang-kadang disebut sebagai mutan

Streptococcus. *Streptococcus mutans* diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Monera
Divisi : Firmicutes
Class : Bacili
Ordo : Lactobacilalles
Familia : *Streptococcaceace*
Genus : *Streptococcus*
Spesies : *Streptococcus mutans*

a. Morfologi dan Fisiologi

Spesies bakteri *Streptococcus mutans* bersifat nonmotil, atau tidak dapat bergerak bebas. Bakteri ini dapat bertahan hidup baik secara aerobik maupun anaerobik pada suhu kamar, khususnya antara kisaran ideal 18 hingga 40 °C. Suhu yang ekstrim akan menyebabkan mikroorganismenya ini mati, sama seperti semua bakteri lainnya.

Dinding sel bakteri terdiri dari sejumlah besar peptidoglikan, karbohidrat, dan protein. Akibatnya, mikroorganismenya ini dikategorikan sebagai bakteri gram positif. Dimensi dan bentuk *Streptococcus mutans* merupakan ciri khas bakteri pada umumnya. Namun, sel-sel tubuh bakteri ini tumbuh dalam pola seperti rantai, biasanya mencakup empat sel bakteri. (Irianto, 2013).

b. Patofisiologi

Dari berbagai macam jenis spesies mikroorganismenya yang terdapat pada rongga mulut, yang berpotensi untuk mengakibatkan karies ialah spesies bakteri yang bisa menempel di permukaan gigi. Banyak penelitian yang menyatakan tersebut adalah spesies *Streptococcus mutans*.

Bakteri penyebab karies pertama kali terpapar gula kariogenik atau karbohidrat, yang memicu produksi asam oleh

bakteri. Untuk memicu demineralisasi email, produk asam ini akan berikatan dengan material di permukaan luar gigi. Bintik putih, kadang-kadang dikenal sebagai bintik putih, adalah indikator awal dari proses ini. Demineralisasi akan berlanjut sampai email gigi hancur dan rusak, yang akan menyebabkan gigi berlubang di permukaan.

Sementara itu, keberadaan bakteri *acidogenic* (penghasil asam) dan *aciduric* (mampu hidup) di lingkungan asam memulai mekanisme plak gigi. Bakteri ini membutuhkan fruktosa untuk memberi mereka energi. Dalam kondisi anaerobik, fruktosa dari glikolisis diubah menjadi energi dan asam laktat. PH akan diturunkan oleh asam laktat yang dihasilkan ke titik di mana demineralisasi email gigi dimungkinkan. Dekstran polisakarida lengket diproduksi ketika enzim *glukosil transferase* (GTF) bakteri ini mempromosikan polimerisasi glukosa. Dalam beberapa artikel, dekstran sering disebut sebagai glukon.

Lapisan protein seluler, yang biasa disebut sebagai biofilm gigi, selalu ada di permukaan gigi. Biofilm gigi ini berkembang dari glikoprotein saliva, fosfoprotein, dan produksi pelikel lipid. *Streptococcus mutans* menempel pada permukaan biofilm gigi ketika ada dekstran. *Streptococcus mutans* menghasilkan lingkungan yang asam dan lengket pada permukaan biofilm gigi yang menarik spesies bakteri aciduric lainnya, yang kemudian membentuk koloni di sana. Plak gigi adalah nama lain dari biofilm berisi mikroorganisme ini pada gigi (Febrian, 2014).

4. Metode Ekstraksi

a. Maserasi

Maserasi adalah teknik yang umum dan mudah. Baik pengaturan laboratorium maupun pabrik dapat memperoleh manfaat dari teknik ini (Agoes, 2007). Bubuk tanaman dan

pelarut yang sesuai digabungkan dalam wadah tertutup pada suhu kamar untuk melakukan prosedur ini.

b. Perkolasi

Perkolasi adalah menambahkan air secara bertahap ke sampel bubuk dalam perkolator (wadah berbentuk silinder yang dilengkapi dengan keran di bagian bawah). Pelarut ditempatkan di atas bubuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan ke bawah.

c. Soxhlet

Prosedur Soxhlet mencakup penutupan labu dengan kloning dan pengaturan codensor di atasnya. Serbuk sampel kemudian ditempatkan di dalam selubung selulosa (kertas saring juga dapat digunakan). Ketika labu diisi dengan pelarut yang sesuai dan suhu rendaman diturunkan di bawah suhu refluks, reaksi dapat dilanjutkan.

d. Reflux dan Destilasi Uap

Sampel dan pelarut digabungkan dalam labu yang dihubungkan ke codensor, menciptakan teknik refluks. Setelah uap kental mendidih, pelarut dikembalikan ke labu untuk digunakan lebih lanjut.

Minyak atsiri sering diekstraksi dengan teknik yang mirip dengan destilasi uap (campuran senyawa volatil). Sebuah wadah yang terpasang pada codensor menampung uap yang terkondensasi dan distilat (dua komponen yang tidak dapat dibandingkan) saat boiler sedang beroperasi. Metode Uji Antibakteri.

Uji aktivitas antibakteri memiliki beberapa tahapan, diantaranya sebagai berikut :

1) Pembuatan media agar miring

Ditimbang 2,8 g nutrisi agar menghasilkan media agar miring yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme (NA). 100 ml air suling kemudian harus ditambahkan setelah

dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 200 ml. Untuk melarutkan media sepenuhnya, panaskan di atas hot plate sampai mendidih. Kemudian, tambahkan 5 ml NA ke dalam tabung reaksi yang bersih. Selanjutnya media disterilisasi selama 15 menit pada suhu 121°C dalam autoklaf. Media steril kemudian diposisikan pada sudut yang sesuai, dan Anda menunggu sampai mengeras. (Romas, Rosyida, & Aziz, 2015).

2) Penanaman bakteri uji pada media agar miring

Dengan menggunakan jarum bulat, kultur bakteri *Streptococcus mutans* dikumpulkan. Bakteri tersebut kemudian digoreskan pada media sehingga miring dari bawah ke atas dengan pola zigzag. Kultur kemudian dikultur selama 24 jam pada suhu kamar (37°C) (Romas, Rosyida, & Aziz, 2015).

3) Penanaman bakteri uji pada media cair

Dengan menggunakan jarum ose steril, ambil koloni bakteri yang telah ditumbuhkan pada media miring. Medium cair kemudian digabungkan dengan koloni bakteri. Bakteri dalam medium cair kemudian diinkubasi selama 24 jam dengan kecepatan 120 rpm dalam *shaker* (Romas, Rosyida, & Aziz, 2015).

4) Uji daya hambat (zona inhibisi)

Jarum ose steril kemudian harus digunakan untuk mengumpulkan koloni bakteri yang telah ditumbuhkan pada media miring. Setelah itu, media cair ditambahkan ke koloni bakteri. Setelah itu, bakteri dalam medium cair dikocok selama 24 jam dengan kecepatan 120 rpm dengan suhu 37°C.

Tahap selanjutnya setiap enam jam, mengukur zona hambat menggunakan jangka sorong untuk mendapatkan data kuantitatif dan informasi kualitatif tentang aktivitas

bakteri tersebut. Jangka sorong digunakan untuk mengukur zona bening yang terbentuk. Tiga sisi zona bersih diukur untuk pengukuran: miring, vertikal, dan horizontal. Setelah itu, ukurannya dirata-ratakan. Diameter zona bening dalam satuan millimeter (mm) (Romas, Rosyida, & Aziz, 2015).

5. Metode Difusi

a. Difusi disk (cakram)

Metode *disc* bermaksud untuk menentukan aktivitas agen antibakteri. Metode ini dilakukan dengan meletakkan piringan yang berisi antibakteri agar berdifusi di media agar. Selanjutnya diinkubasi di suhu 37°C selama 18-24 jam. Daerah bening disekitar cakram memiliki arti adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antibakteri (Pratiwi, 2008).

b. Difusi cup (sumuran)

Sumuran dibuat pada media agar yang telah diisi dengan mikroba dan agen antibakteri diterapkan pada sumur yang akan diperiksa, pendekatan ini sebanding dengan metode parit. kemudian ditahan pada suhu 37 °C selama 18 hingga 24 jam. Wilayah parit memiliki area yang jelas, yang menunjukkan penghalang bagi pertumbuhan mikroorganisme (Pratiwi,2008).

c. Difusi ditch (parit)

Sampel uji, zat antibakteri, ditempatkan ke dalam parit yang dibuat dengan mengiris media agar dalam cawan petri secara longitudinal, dan bakteri kemudian digores ke arah zat antibakteri. kemudian ditahan selama 18 sampai 24 jam pada suhu 37°C. Adanya bercak-bercak bening di daerah parit menunjukkan bahwa pengobatan antibakteri telah mencegah pertumbuhan mikroba (Pratiwi, 2008).

6. Penyakit dari bakteri *Streptococcus mutans*

a. Karries gigi

Karies gigi ialah suatu penyakit pada jaringan gigi, yakni di daerah dentin, enamel, sementum disebabkan oleh aktivitas mikroorganisme pada karbohidrat yang dapat difermentasi. Gigi berlubang atau karies gigi adalah penyakit yang disebabkan oleh bakteri yang menggerogoti dentin, email, dan sementum gigi. Sebuah lubang dibuat di gigi sebagai akibat dari cedera dampak jaringan. Dibutuhkan waktu yang sangat lama untuk menciptakan profesi di bidang kedokteran gigi, yang mengakibatkan sebagian penderitanya mengalaminya seumur hidup (Ziyaan A.B, dkk, 2018).



Gambar 2. 6. Karies Gigi

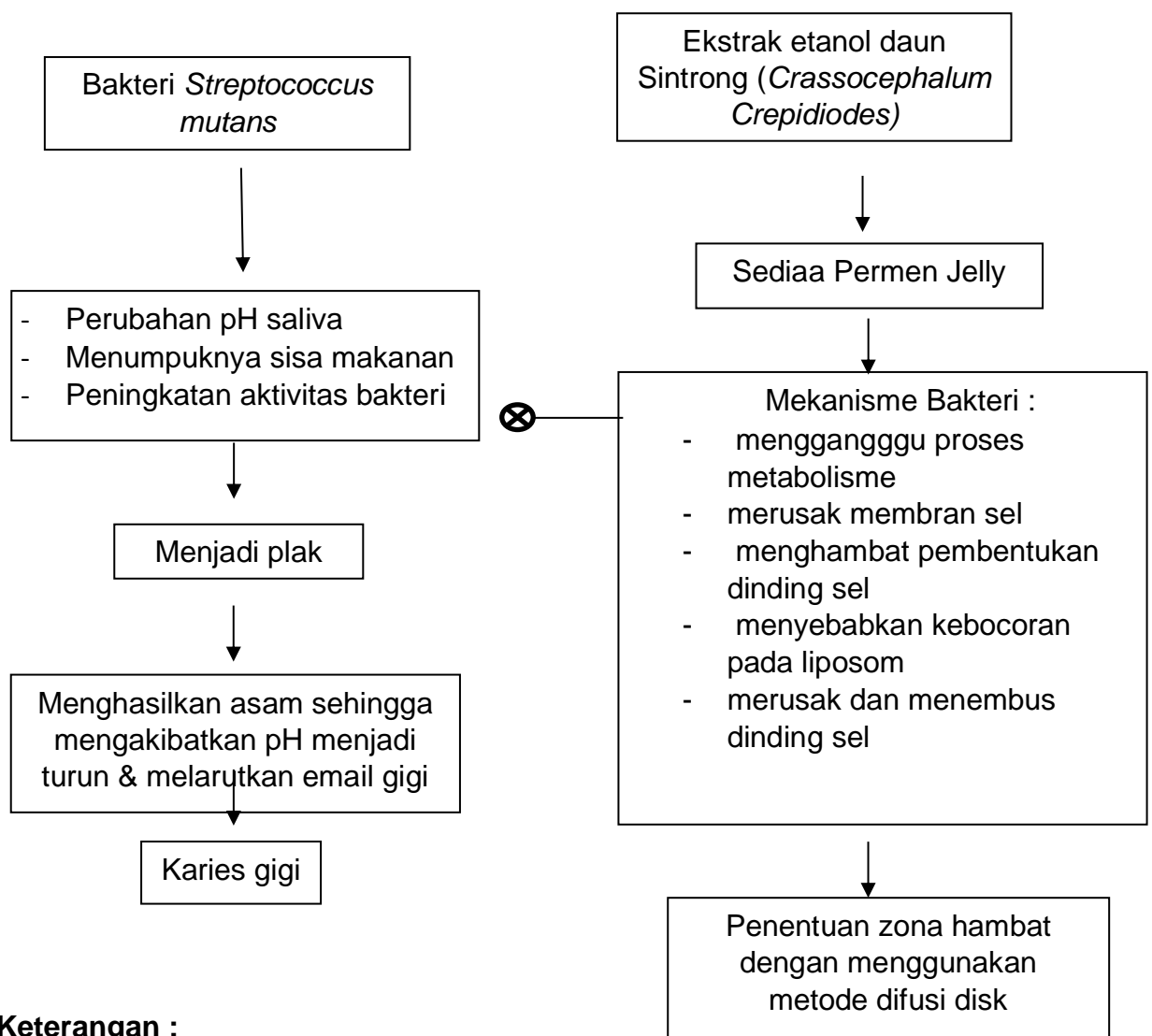
(Sumber: Ivo A, 2013 dalam Mariati, 2015)

Streptococcus merupakan strain bakteri yang mengawali pembentukan plak dan *Streptococcus mutans* merupakan penyebab utama adanya plak dan karies gigi. *Streptococcus mutans* awalnya diisolasi oleh Clark pada tahun 1924 dari gigi manusia yang memiliki karies. Strain *Streptococcus* yang banyak terdapat pada manusia ialah serotype c,e dan / (36 to 38% G + C), dimana *Streptococcus mutans* serotype c merupakan bakteri utama penyebab karies gigi (Dwi Warna A.F, 2011).

b. Plak

Plak ialah lapisan lunak yang terdiri dari gabungan mikroorganismes beserta produk yang dihasilkannya, contoh mikroorganismes yang bisa mengakibatkan plak yaitu *Streptococcus mutans* dan *Lactobacillus*. Faktor lainnya seperti host atau inang (gigi dan saliva), substrat (makanan) serta waktu sebagai faktor tambahan (Calvin, 2008).

B. KERANGKA TEORI PENELITIAN

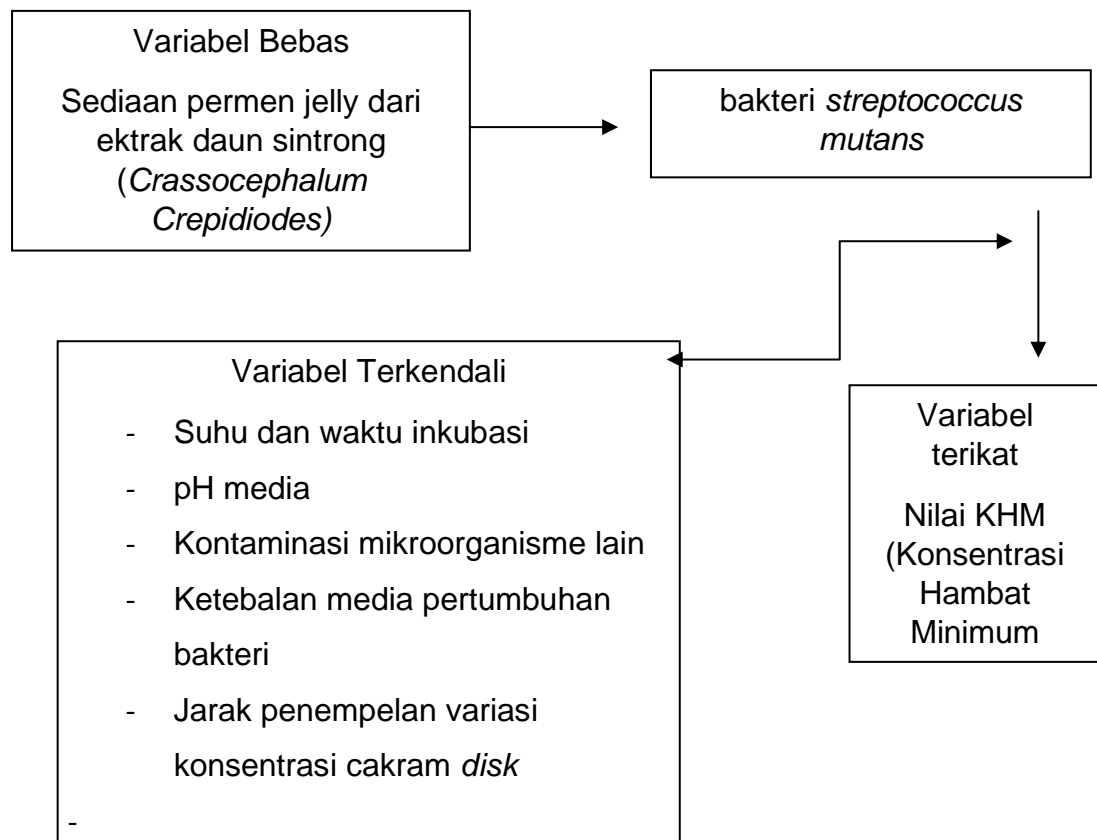


Keterangan :

Menghambat : ⊗

Gambar 2.7 Bagan Kerangka teori penelitian

C. KERANGKA KONSEP PENELITIAN



Gambar 2.8 bagan Kerangka konsep penelitian

D. HIPOTESIS PENELITIAN

Ekstrak etanol daun Sintrong (*Crassocephalum crepidioides*) memiliki efek antibakteri dengan metode difusi disk pada bakteri *Streptococcus mutans*