

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Telaah Pustaka

##### 1. Daun Sintrong



Gambar 2.1 Daun Sintrong (Sumber: Latifah, 2021)

##### a. Klasifikasi

Klasifikasi daun sintrong adalah sebagai berikut (Sari, 2020):

- Divisi : *Spermatophyta*
- Kelas : *Dicotyledoneae*
- Bangsa : *Asterales*
- Suku : *Asteraceae*
- Marga : *Crassocephalum*
- Jenis : *Crassocephalum crepidioides (Benth.) S. Moore*

##### b. Morfologi

Tanaman sintrong merupakan jenis tanaman herba yang tumbuh musiman biasanya berumur 3-4 bulan. Tumbuhan ini dapat tumbuh hingga satu meter dan jika diremas menghasilkan bau harum aromatis. Daunnya berwarna hijau, letak daunnya tersebar, memiliki panjang 8-20 cm serta lebar 3-10 cm, helaian daunnya berbentuk bulat telur terbalik, berujung runcing, tulang daunnya menyirip, dan tepi daun bergerigi. Batang tumbuhan sintrong tegak, lunak, berair, dan berwarna hijau. Memiliki bunga majemuk berbentuk bongkol dengan warna hijau dan ujungnya berwarna jingga coklat hingga merah bata, serta kelopak bunganya tertutup, kemudian tegak setelah menjadi buah. Saat bunga mekar menyebar berbentuk lingkaran dengan bulu-bulu halus dan akar serabut berwarna putih (Sari, 2020).

### c. Kandungan Kimia

Flavonoid memiliki potensi penghambatan biofilm. Biofilm dapat dihambat dengan mekanisme pada flavonoid dan tanin melalui penghambatan *intercellular adhesion* yaitu IcaA dan IcaD. PIA (*Polysaccharide Intercellular Adhesion*) yang merupakan komponen penting dalam pembentukan biofilm dapat dibentuk melalui mediasi Ica. Pembentukan PIA akan terhambat apabila *intercellular adhesion* dihambat, dan hal tersebut akan mengganggu pembentukan komponen biofilm (Aviantina, 2019).

Peran polifenol yaitu memberi warna pada tumbuhan seperti warna daun. Polifenol memiliki khasiat sebagai pelindung sel tubuh dari radikal bebas agar tidak terjadi kerusakan. Selain itu, polifenol dapat bekerja sebagai antibakteri, serta menghambat enzim hidrolisis dan oksidatif (Lestari, 2015).

### d. Manfaat

Selain sebagai sayuran, tumbuhan sintrong dimanfaatkan sebagai bahan obat tradisional untuk mengatasi gangguan perut, mengobati luka, obat bisul, sakit kepala, dan sebagai antioksidan, serta antibakteri (Sari, 2020).

## 2. Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan kandungan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan maupun hewan dengan penyari tertentu. Sebelum ekstraksi dilakukan biasanya bahan-bahan dikeringkan terlebih dahulu kemudian dihaluskan pada derajat kehalusan tertentu. Beberapa metode ekstraksi yang sering digunakan dalam berbagai penelitian yaitu (Sari, 2020):

### a. Cara Dingin

1) Teknik merendam simplisia dengan melarutkan zat yang sesuai, kemudian dilakukan pengocokan atau pengadukan beberapa kali pada suhu ruangan yang terlindung dari cahaya pada penyarian disebut dengan maserasi. Saat maserasi dilakukan, pengadukan secara terus menerus ini disebut

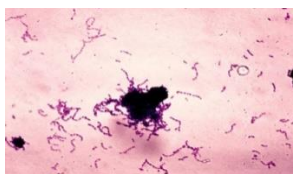
maserasi kinetik, sedangkan pengulangan penambahan pelarut setelah penyaringan terhadap maserat pertama dan seterusnya disebut remaserasi (Sari, 2020).

- 2) Cara penyarian menggunakan pelarut yang baru sampai sempurna dan dilakukan pada suhu ruangan disebut dengan perkolasi. Tahap yang dilakukan saat proses perkolasi terdiri dari perendaman, maserasi antara, penampungan ekstrak yang dilakukan secara terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) (Sari, 2020).

#### b. Cara Panas

- 1) Refluks merupakan cara penyarian simplisia dengan menggunakan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Sari, 2020).
- 2) Sokhletasi merupakan cara penyaringan yang menggunakan pelarut baru, umumnya menggunakan alat khusus yang memicu ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Sari, 2020).

### 3. *Streptococcus mutans*



**Gambar 2.2** Bakteri *Streptococcus mutans* (Sumber: Rakhmanda, 2008)

#### a. Taksonomi

Klasifikasi dari *Streptococcus mutans* adalah sebagai berikut (Adrianto, 2012):

- Kingdom : *Monera*  
 Divisio : *Firmicutes*  
 Class : *Bacilli*  
 Order : *Lactobacilalles*  
 Family : *Streptococcaceae*  
 Genus : *Streptococcus*  
 Species : *Streptococcus mutans*

## b. Morfologi

Terdapat dua bentuk dari bakteri *S. mutans*, yaitu *coccus* (bulat) dan berpasangan menyerupai rantai. Saat sendirian, bakteri membentuk *coccus* dan bulat telur yang tersusun dalam rantai. Selama masa pertumbuhannya, *S. mutans* membentuk bulat berpasangan atau rantai dan selnya berdiameter 0,5-0,7  $\mu\text{m}$ . Saat ditanam menggunakan medium yang diperkaya seperti *BHI Broth* bakteri ini cenderung berbentuk *coccus* dengan formasi rantai panjang, dan berbentuk rantai pendek dengan bentuk sel tidak beraturan jika ditanam di media agar (Adrianto, 2012).

Bakteri *S. mutans* memiliki sifat nonmotil dan merupakan bakteri anaerob fakultatif, serta merupakan bakteri gram positif. Bakteri ini dapat berubah menjadi patogen saat terjadi peningkatan populasi yang menguntungkan pada lingkungan (Adrianto, 2012).

Dari rongga mulut manusia dan hewan percobaan seperti tikus, bakteri *S. mutans* telah terisolasi. Biasanya, bakteri ini ditemukan pada rongga gigi manusia. Pada suhu 18°C-40°C, bakteri ini dapat tumbuh secara optimal (Adrianto, 2012).

## c. Habitat

Area permukaan gigi merupakan habitat utama *S. mutans*, dan hanya tumbuh di area tertentu pada permukaan gigi. Koloni *S. mutans* biasanya ditemukan di dalam pit dan fisur, area proksimal gigi, gingiva atau pada lesi karies gigi, serta di permukaan oklusal. Munculnya plak gigi disebabkan oleh koloni kuman ini yang hanya tumbuh di permukaan yang tidak deskuamatik. Beberapa faktor yang mempengaruhi jumlah populasi *S. mutans*, diantaranya yaitu sukrosa, *oral hygiene*, topikal aplikasi *fluor*, obat kumur antiseptik, dan penggunaan antibiotik (Adrianto, 2012).

Agar *Mitis Salivarius* merupakan media selektif dalam pertumbuhan *S. mutans* yang dapat menghambat banyak bakteri mulut lainnya selain *Streptococcus*. Penghambatan ini terjadi

karena adanya kadar biru *trypan*. Terdapat membran violet, telurit, dan sukrosa dengan kadar tinggi yang terkandung dalam media ini. Pada agar *Mitis Salivarius*, tampak ciri-ciri yang terlihat di dalam pertumbuhan bakteri *S. mutans* yaitu membentuk koloni halus berdiameter 0,5 hingga 1,5 mm, warnanya biru tua, cembung, membentuk genangan air di sekitarnya, dan pinggiran koloninya kasar (Adrianto, 2012).

Pada perbenihan yang padat atau kaldu, pertumbuhan *S. mutans* menjadi kurang subur, kecuali diperkaya dengan darah atau cairan jaringan. *Trypto Yeast Cystein (TYC)*, *Brain Heart Infusion (BHI) Broth*, dan agar darah dapat digunakan sebagai media lain dalam penumbuhan *S. mutans*. Kebanyakan *Streptococcus* dapat tumbuh sebagai koloni diskoid dalam media padat dengan diameter 1-2 mm. Koloni mukoid sering terbentuk dari *strain* yang menghasilkan bahan kapsular. *Peptostreptococcus* merupakan obligat anaerob (Adrianto, 2012).

#### d. Patogenitas

Tanpa adanya faktor lain seperti sukrosa, *S. mutans* merupakan agen utama dalam karies gigi dan bakteri ini tidak menyebabkan karies. *Glikosiltransferase* dan *fruktosil transferase* adalah enzim dari hasil bakteri *S. mutans*. Enzim-enzim tersebut memiliki sifat spesifik pada substrat sukrosa dalam penggunaan fruktan dan sintesa glukosa. Enzim *glikosiltransferase* menggunakan sukrosa untuk mensintesa molekul glukosa yang berat molekulnya tinggi dan terdiri dari ikatan glukosa alfa (1-6) dan alfa (1-3) pada metabolisme karbohidrat. Ikatan glukosa alfa (1-3) lengket, pekat seperti lumpur, dan tidak larut dalam air. Pada permukaan gigi, pembentukan koloni *S. mutans* dapat dipengaruhi oleh kelarutan dalam air. Ikatan ini berfungsi dalam membantu kelekatan koloni bakteri satu dengan lainnya pada enamel yang berkaitan erat dalam pembentukam plak dan terjadinya karies gigi (Adrianto, 2012).

Bakteri *S. mutans* memiliki sifat asidogenik yang dapat menghasilkan asam, asidodurik, mampu berada di lingkungan yang asam, dan menghasilkan polisakarida yang lengket (*dextran*) sehingga menyebabkan *S. mutans* lengket dan mendukung bakteri lain menuju ke email gigi, mendukung bakteri lainnya, pertumbuhan bakteri asidodurik lainnya, dan asam yang melarutkan email gigi. Serta, dalam waktu 1-3 menit dapat menghasilkan pH <5 jika dibandingkan dengan bakteri lainnya (Adrianto, 2012).

e. Hubungan *Streptococcus mutans* terhadap Biofilm

*Streptococcus mutans* adalah bakteri yang dapat membentuk biofilm. Terdapat beberapa faktor virulensi pada bakteri ini yang memungkinkan organisme ini untuk membentuk biofilm, berkoloni, dan dapat menghasilkan asam yang merusak mineral gigi (kalsium hidroksiapatit), serta dapat tumbuh dan bermetabolisme dalam lingkungan asam (Maghfirah, 2017).

4. Biofilm

a. Definisi

Biofilm merupakan kumpulan sel-sel mikroba yang melekat secara *irreversibel* pada suatu permukaan dan terbungkus dalam matriks EPS (*Extracelullar Polymeric Substance*) yang dihasilkannya sendiri serta memperlihatkan adanya perubahan transkripsi gen dari sel planktonik atau sel bebasnya (Donlan, 2002). Didalam lapisan biofilm, mikroba cenderung tumbuh dan berkembang dengan pesat hingga membentuk koloni terutama pada permukaan bahan yang lembab dan kaya akan nutrisi (Choudhary, 2020). Bakteri dalam biofilm dapat terlindungi dari berbagai gangguan, seperti pengeringan, bakteriofag, amoeba, dan biosida dalam penggunaan industri. Pada antibiotik, sel dalam biofilm lebih resisten dibandingkan dengan sel dalam bentuk planktonik. Biofilm menjadi salah satu masalah besar pada

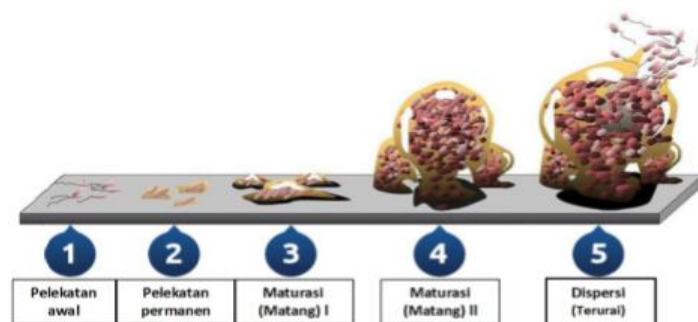
kesehatan karena pada alat-alat medis, biofilm juga terbentuk, seperti kateter urin (Abidah, 2020).

#### b. Mekanisme

Biofilm bisa terbentuk pada permukaan biotik, seperti jaringan binatang, sel epitel, dan kulit manusia. Dan pada permukaan abiotik, seperti kaca, baja, *stainless steel*, plastik, dan implan medis (Abidah, 2020).

Pada perkembangan dan pemeliharaan biofilm, hal yang paling penting yaitu komunikasi antarsel. Pelekatan suatu sel pada suatu permukaan merupakan hasil dari sinyal pada pengekspresian gen-gen pembentuk biofilm. Gen-gen ini memberi kode ke protein-protein untuk mensintesis sinyal komunikasi antarsel dan mulai membentuk polisakarida. Homoserin lakton merupakan komponen pada bakteri gram negatif molekul sinyal yang utama, dan berfungsi sebagai agen kemostatik dalam pengumpulan sel-sel yang berdekatan (melalui mekanisme *quorum sensing*) dan pembentukan biofilm (Madigan, 2006).

Proses pembentukan biofilm memiliki 5 tahapan. Pada tahap pertama sel-sel bakteri menempel pada permukaan (bersifat sementara). Tahap kedua terbentuknya material eksopolimer. Pada tahap ketiga terbentuknya mikrokoloni dan biofilm mulai terbentuk. Tahap keempat biofilm terbentuk semakin banyak. Pada tahap kelima terjadinya dispersi sel sehingga sel-sel tersebut berpindah dan membentuk biofilm baru (Achinas, 2019). Kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan merupakan salah satu pemicu pembentukan biofilm (Monroe, 2007).



**Gambar 2.3** Proses Pembentukan Biofilm (Sumber: Bhakti, 2017)

Pembentukan biofilm terjadi dengan syarat biofilm harus berada cukup dekat dengan suatu permukaan, yaitu dengan jarak sekitar 10-20 nm. Proses pembentukannya terdiri dari tiga tahap, yaitu perlekatan (*attachment*), pematangan (*maturation*), dan penyebaran (*dispersion*). Pada tahapan yang pertama, mikroorganisme planktonik melekat pada suatu permukaan. Pada perlekatan awal, flagela dan pili tipe IV berperan penting dalam interaksi antara sel dan permukaan. Komponen tersebut sangat penting untuk memperkuat perlekatan koloni pada suatu permukaan (Muhammad, 2020).

### c. Uji Pembentukan Biofilm

#### 1) Metode Tabung

Untuk mendeteksi biofilm dengan metode kualitatif dilakukan mengamati garis biofilm yang terbentuk di bagian dasar dan dinding tabung disebut dengan metode tabung. Jika terlihat garis pada dinding dan dasar tabung maka pembentukan biofilm positif. Jika lemah atau tidak terbentuk biofilm, maka jumlah biofilm yang terbentuk dinilai dengan angka 1, bernilai 2 apabila sedang, dan jika kuat atau tinggi bernilai 3 (Abidah, 2020).

#### 2) Metode *Congo Red Agar*

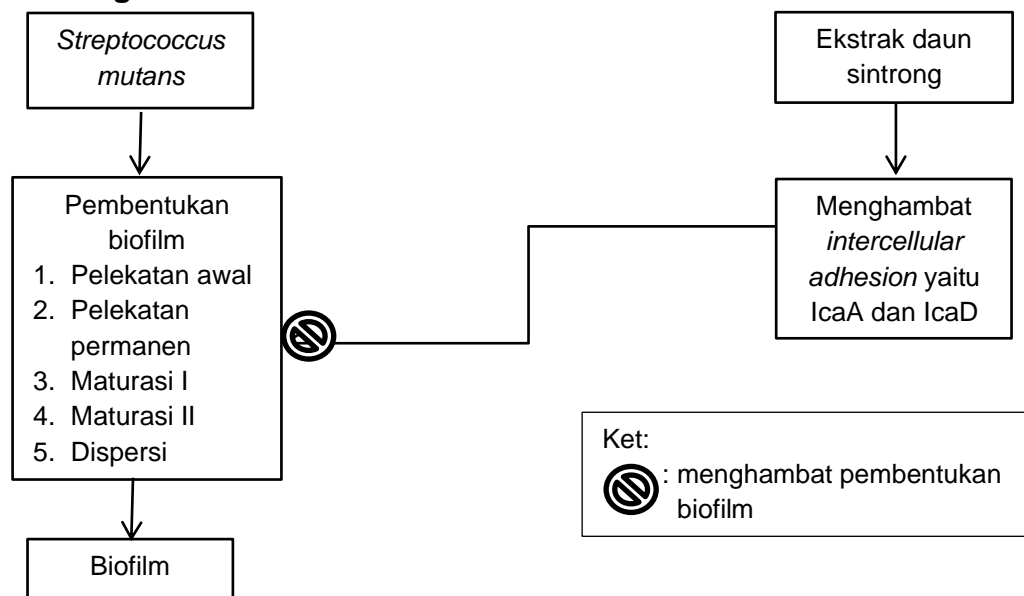
Perubahan warna pada koloni bakteri dilakukan metode deteksi biofilm secara kualitatif bakteri disebut metode *Congo Red Agar* (CRA). Medium CRA terdiri dari sukrosa 50 g/L, indikator *Congro Red* 8 g/L, *brain hearth infusion broth* 37 g/L, dan agar nomor 1 10 g/L. Pada suhu 37°C selama 24 jam dalam keadaan anaerob. Bakteri diinokulasikan pada *plate* CRA dan diinkubasi. Koloni berwarna hitam dengan konsistensi kristal kering merupakan tanda untuk koloni pembentuk biofilm. Sedangkan, warna pink atau merah merupakan tanda untuk koloni bukan penghasil biofilm (Abidah, 2020).



### 3) Metode *Microtiter Plate*

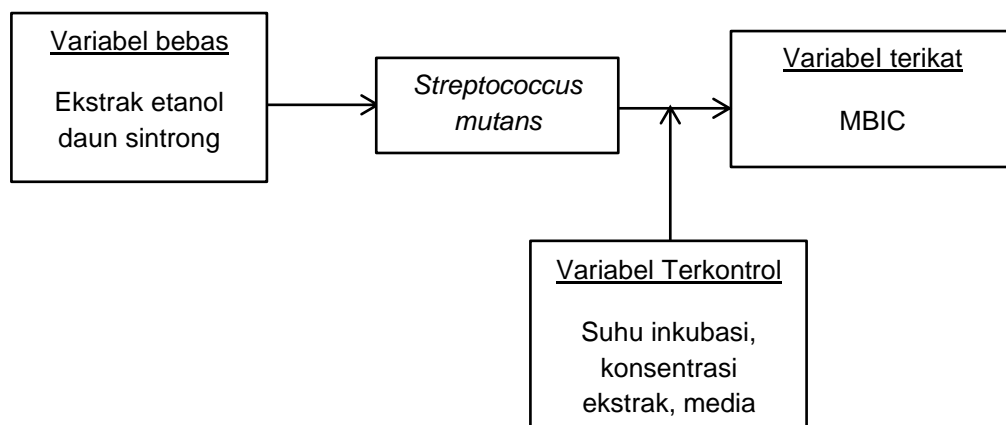
Dalam deteksi biofilm disebut dengan metode *Microtiter Plate* (MtP). *Microplate reader* (microELISA) merupakan alat untuk mengukur biofilm yang terbentuk. Skrining aktivitas agen antibiofilm terhadap biofilm yang dihasilkan oleh bakteri dapat dilakukan menggunakan metode ini. Untuk mengidentifikasi apakah isolat menghasilkan biofilm atau tidak bisa menggunakan nilai OD *blank*. (Abidah, 2020)

#### B. Kerangka Teori Penelitian



Gambar 2.4 Kerangka Teori Penelitian

#### C. Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 2.5 Kerangka Konsep Penelitian

**D. Hipotesis**

Ekstrak etanol daun sintrong memiliki aktivitas penghambatan biofilm terhadap bakteri *Streptococcus mutans*.