

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Biofilm

a. Definisi Biofilm

Biofilm adalah komunitas mikroorganisme yang terdiri dari sel-sel mikroba yang terhubung satu sama lain dalam matriks yang diproduksi sendiri yang terbentuk dari komponen polimer ekstraseluler pada atau dalam organisme inang. Biofilm dapat tumbuh di hampir semua permukaan atau di lingkungan apa pun di mana bakteri berada. Keadaan film dibuat oleh kombinasi bakteri permukaan dengan zat organik atau anorganik yang ada. Substrat, baik biologis maupun anorganik, naik ke atas saat berdifusi ke atas atau dibawa oleh arus cair. Biofilm memiliki kemampuan yang lebih baik untuk mengirimkan nutrisi daripada cairan (Reimann, 2006; Jamal, 2015).

Prosedur perlekatan bergantung pada keadaan film. Polimer organik terendam pada permukaan substrat dapat melemahkan atau memperkuat adhesi mikroba. Dalam beberapa menit setelah pemaparan, keadaan film telah terbentuk, dan akan bertahan selama berjam-jam. Adhesi bakteri pada biomaterial dapat dipengaruhi oleh film yang diproduksi oleh berbagai host, termasuk darah, air mata, urin, air liur, cairan intravaskular, dan sekresi pernapasan (Mittelman, 1996).

b. Struktur dan Komposisi Biofilm

Mikroorganisme dan molekul polimer ekstraseluler yang diproduksi sendiri, yang disebut eksopolisakarida, membentuk biofilm (EPS). Produksi biofilm lengkap dengan polylayers melibatkan matriks EPS dengan struktur vertikal, dan pengembangan film. Struktur vertikal sel mikroba, yang sering dipisahkan oleh ruang interstisial, dapat menyerupai jamur. Sebagian besar biofilm mampu dengan cepat menyerap nutrisi

dalam cairan lain dan menghilangkan produk limbah karena celah interstisial. Deposisi dan pembentukan film, kehadiran mikroba (planktonik) dalam lembaran film, pertumbuhan dan kolonisasi bakteri, dan pengembangan biofilm adalah empat proses umum yang membentuk proses kompleks pembentukan biofilm (Deb M, *et al.* 2014).

c. Siklus Kehidupan Biofilm

1) Perlekatan Sel

Mikroorganisme dapat secara aktif atau pasif menempel pada permukaan, tergantung pada faktor-faktor seperti motilitas bakteri atau transfer sel plankton oleh gravitasi, difusi, atau dinamika fluida dari fase cair di sekitarnya. Hal ini juga tergantung pada tahap pertumbuhan sel bakteri dan ketersediaan nutrisi di media sekitarnya. Ada dua fase berbeda dalam proses ini: perlekatan reversibel pertama dan perlekatan ireversibel terakhir. Untuk memulai, interaksi van der Waals, gaya elektrostatik, dan interaksi hidrofobik semuanya berkontribusi pada pengikatan ireversibel, yang merupakan ungkapan yang digunakan untuk menggambarkan hubungan jangka panjang yang terbentuk antara sel bakteri dan substrat. Pada titik ini, bakteri masih bergerak dengan cara Brown, membuatnya mudah dihilangkan dengan menghentikan aliran cairan (misalnya hanya dengan membilas). Interaksi jangka pendek yang melibatkan interaksi dipol-dipol, ion hidrogen, ikatan kovalen, dan gaya hidrofobik mengikuti setelah ikatan ireversibel. Transfer sel memerlukan energi yang lebih kuat, seperti menggosok atau menggores, dan sebagian besar dimediasi oleh pelengkap bakteri termasuk flagela, fimbriae, pili, dan fibril. Tingkat fiksasi mikroorganisme dipengaruhi oleh suhu dan pH permukaan kontak.

2) Pembentukan Mikro Koloni

Karena ketersediaan nutrisi di lingkungan cairan sekitarnya, pertumbuhan sel-sel bakteri yang menempel dapat menjadi ireversibel. Karena ini, microcolony muncul, yang akhirnya tumbuh dan bergabung menjadi satu lapisan sel yang menutupi permukaan. Sel yang telah menempel pada permukaan mengeluarkan polimer ekstra (eksopolisakarida) yang membantu menjaga sel tetap pada tempatnya. dapat membuat koloni lebih tahan terhadap perubahan lingkungan eksternal.

3) Pembentukan Biofilm

Biofilm berkembang ketika bakteri tetap menempel pada permukaan dan berkembang biak sambil mengeluarkan polisakarida ekstraseluler (EPS). Karena mikroba yang berbeda memiliki kebutuhan nutrisi yang bervariasi, komposisi biofilm dapat menjadi heterogen. Pemisahan atau perlekatan zat organik dan anorganik terlarut tambahan dan partikel dari lingkungan dapat menyebabkan biofilm tumbuh lebih besar.

4) Stabilitas dan Perluasan Biofilm

Setelah biofilm mencapai kematangan, bakteri yang menempel di dalamnya harus dapat menyebar dan menjajah daerah baru jika mereka ingin terus berkembang. Terserah sel anak untuk memutuskan apakah akan membelah dan membentuk organisme baru atau melanjutkan sebagai kelompok. Setelah bebas, bakteri dapat menjajah situs baru dan memulai proses pembentukan biofilm lagi (Riemann, 2006).

2. *Streptococcus Mutans*

Streptococcus mutans tumbuh pada suhu antara 18-40 °C. Bakteri ini pertama kali diisolasi dari karies gigi manusia pada tahun 1924 oleh Clark. Disebut *Streptococcus mutans* karena diambil

berdasarkan hasil pemeriksaan mikrobiologi dengan pewarnaan Gram, yang menunjukkan bahwa bakteri ini berbentuk oval dan berbeda dengan bentuk spesies *Streptococcus* lainnya, maka disebut *Streptococcus mutans* (Varna, Fatmawati, 2011).

Streptococcus mutans adalah bakteri kokus tunggal yang berbentuk bulat atau bulat telur dan tersusun dalam rantai. *Strain Streptococcus mutans* muncul sebagai diplococci dan terkadang berbentuk batang. Bakteri ini juga dikenal sebagai mikroorganisme kariogenik karena sifat *Streptococcus mutans* yang dapat memecah gula untuk energi dan menciptakan lingkungan asam yang mempengaruhi demineralisasi struktur gigi (Nuzulia P, 2017).

a. Klasifikasi *Streptococcus mutans*

Klasifikasi bakteri *S. mutans* menurut Chrismirina (2011) sebagai berikut :

Kingdom : *Monera*

Divisi : *Firmicutes*

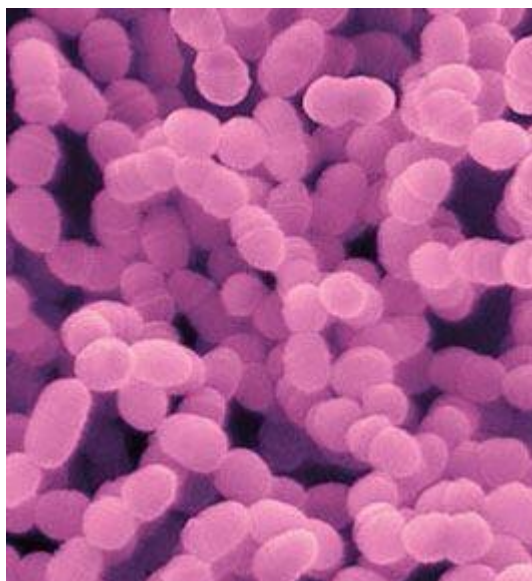
Kelas : *Bacilli*

Ordo : *Lactobacillales*

Famili : *Streptococcaceae*

Genus : *Streptococcus*

Spesies : *Streptococcus mutans*



Gambar 2. 1. Bakteri *streptococcus mutans*

b. Patogenesis bakteri *Streptococcus mutans*

Streptococcus mutans merupakan salah satu mikroorganisme penyebab terjadinya karies gigi, apabila tidak segera dicegah populasinya akan semakin parah. Makanan yang memiliki kandungan gula terutama sukrosa dan glikoprotein apabila dimakan dan melekat pada permukaan gigi, plak gigi akan terbentuk secara perlahan dalam waktu tertentu. Berjuta-juta bakteri *Streptococcus mutans* melekat dalam waktu yang bersamaan pada glikoprotein permukaan gigi dan banyak bakteri penyebab karies gigi lain yang ikut melekat pada permukaan gigi. Proses selanjutnya fruktosa akan digunakan oleh bakteri untuk melakukan metabolisme glikolisis dalam memperoleh energi, sehingga hasil akhir dalam proses glikolisis berupa asam laktat yang terjadi pada kondisi aerob. Fosfat yang terkandung di dalam email gigi perlahan akan hancur karena jumlah kadar pH menurun yang diakibatkan oleh terbentuknya kadar asam yang tinggi dari asam laktat (Warganegara dan Restina, 2016).

Streptococcus mutans di klasifikasikan berdasarkan serotype menjadi 8 kelompok yaitu serotype "a" sampai "h". Pembagian serotype ini berdasarkan perbedaan karbohidrat pada dinding sel. Akan tetapi, berdasarkan hibridisasi DNA bakteri ini dibagi menjadi 4 kelompok genetic. Pembagian ini berdasarkan persentase basa DNA yaitu guanine dan cytosine. Strain *Streptococcus mutans* yang banyak terdapat pada manusia adalah serotype c, e dan f (36 to 38% G + C), dimana *Streptococcus mutans* serotype c merupakan bakteri utama penyebab karies gigi (Fatmawati, 2011).

c. Biofilm *streptococcus mutans*

Streptococcus mutans dapat beradaptasi dengan lingkungannya dengan membentuk biofilm. Matriks ekstraseluler biofilm yang terdiri dari polisakarida, protein, asam nukleat, dan

lipid, memungkinkan hal ini terjadi, zat lain yang berfungsi untuk memadatkan sel bakteri menjadi biofilm, menjebak nutrisi, dan melindungi sel dari kekeringan dan antibiotik (Chahuanavasquez, 2010).

Bakteri menempel permukaan keras dengan cara mengikat reseptor pada film saliva, koloni diperkuat membentuk biofilm, bakteri berupa enzim glycosyltransferase (GTF) dan protein pengikat glukosa non-enzimatik untuk menghasilkan glukagon dan polisakarida ekstraseluler. Sebagai tempat pengikatan, glukon memfasilitasi perlekatan *Streptococcus mutans* ke permukaan gigi (Chahuanavasquez, 2010).

3. Daun Sintrong

Crassocephalum crepidiodes atau yang dikenal dengan nama lain sintrong merupakan tumbuhan dari spesies *crepidiodes*. Sintrong merupakan tumbuhan hortikultura yang tumbuh liar di wilayah tropis dan sub tropis. Tumbuhan ini dikenal sebagai tumbuhan semak belukar dan sering dianggap sebagai gulma, namun ternyata tumbuhan ini memiliki berbagai khasiat untuk pengobatan (Bahar *et al.* , 2016).

Tekstur daun sintrong yang kenyal karena batangnya yang lembut; daun memiliki aroma mint dan rasa ringan dan enak di mulut, oleh karena itu diolah menjadi sayuran oleh masyarakat Indonesia. tumbuhan ini dapat Tumbuh liar di pinggir jalan, di kebun-kebun, membuat masyarakat percaya bahwa sintrong tidak lebih dari rumput liar, tanaman pengganggu yang hanya sedikit orang yang tahu bahwa sintrong dapat digunakan sebagai lalapan dan sebagian kecil orang mengetahui bahwa tanaman ini berkhasiat obat (PR Suci, 2020).

a. Klasifikasi Tumbuhan Sintrong

Divisi : Plantae
Sub divisi : *Magnoliophyta*
Kelas : *Magnoliopsida*

Bangsa : *Asterales*
 Suku : *Asteraceae*
 Marga : *Crassocephalum*
 Jenis : *Crassocephalum crepidioides*
 Sinonim : *Gynura crepidioides Benth*
 Nama lokal : Sintrong (Cronquist, 1981)

Di Indonesia, daun sintrong memiliki nama yang berbeda beda disetiap wilayah. Di Bali, *Crassocephalum crepidioides* lebih dikenal dengan nama daun kejompot/ kempot pot/kejengot/kejlengot, di Pulau Jawa dikenal dengan daun sintrong (Simanungkalit *et al*, 2020). Daun sintrong dapat dikonsumsi sebagai lalapan. Selain itu, dapat digunakan untuk pengobatan bisul (Kusdianti *et al*, 2008). Untuk penggunaan secara tradisional, daun sintrong dipercaya berkhasiat sebagai antelmintik, antiinflamasi, antidiabetes, dan antimalaria. Sintrong juga berkhasiat untuk mengatasi gangguan pencernaan, sakit kepala, sakit perut, mengobati luka (Adjatin *et al*, 2013).



Gambar 2. 2. Tumbuhan Sintrong

(Sumber :Karyati, 2018)

b. Morfologi Tumbuhan Sintrong

Lurus, tingginya hingga 1 meter, dan aromatik saat diremas. Batang lunak dengan punggungan dangkal. Daunnya tersebar, dengan tangkai sering terlihat. Helaian daun memanjang atau lonjong terbalik, berukuran 8–20 3–6 cm, dengan pangkal yang

menyempit secara bertahap di sepanjang tangkai daun dan ujung runcing, tepi rata atau melengkung untuk menyebar menyirip, dan gigi kasar dan tajam. Daun paling atas biasanya lebih kecil dan rata. Mekar majemuk berbentuk bintil mengelompok pada ujung malai datar. Puncuk hijau dengan ujung oranye-coklat hingga merah bata, silindris, 13-16 5-6 mm, terkulai; tegak seperti buah. Dengan mahkota kuning dan ujung berwarna merah kecoklatan. Buah keras (achene) dengan sepuluh rusuk ramping, memanjang, seperti gelendong, panjangnya kira-kira 2,5 mm, dan bulu sikat putih (pappus) 9-12 mm (Karyati, 2018).

c. Manfaat Sintrong

Daun sintrong telah digunakan sebagai obat selama berabad-abad, dan bukan hanya untuk nilai gizinya; mereka dikatakan mampu menyembuhkan berbagai kondisi, dari masalah pencernaan hingga migrain dan sakit perut hingga luka dan diabetes dan malaria (Adjatin *et al* , 2013).

Aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, dan *Vibrio cholerae*; aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans*, *Aspergillus flavus*, dan *Aspergillus niger*; dan adanya senyawa aktif seperti alkaloid dan flavonoid dalam ekstrak daun sintrong hanyalah beberapa dari banyak kegunaan obat yang potensial (Elsie, 2010).

d. Fitokimia Sintrong

Berdasarkan penelitian PR Suci *et al* ., (2020) hasil uji skrining fitokimia pada ekstrak daun sintrong dengan pelarut etanol 70%, didapatkan bahwa ekstrak daun sintrong menunjukkan adanya kandungan positif senyawa flavonoid, Polifenol, Saponin dan Tanin.

Flavonoid antibakteri memiliki efek farmakologis, dan mereka melakukannya dengan mengganggu membran sitoplasma bakteri. Membran sitoplasma bakteri mengontrol penyerapan

berbagai komponen makanan. Metabolit penting pada bakteri akan bocor jika membran sitoplasma terganggu, dan nutrisi yang dibutuhkan untuk membuat energi tidak akan bisa masuk (Dzen, 2013).

Polifenol berperan dalam memberi warna pada tumbuhan seperti warna daun. Kandungan polifenol yang terdapat pada daun sintrong berperan sebagai pemberi warna pada daun. Polifenol memiliki khasiat sebagai pelindung sel tubuh dari radikal bebas agar tidak terjadi kerusakan. Selain itu, polifenol dapat menjadi penghambat enzim hidrolisis dan oksidatif dan bekerja sebagai antibakteri (Pourmouran, 2006).

Ketika digabungkan dengan glukosa, bahan kimia polifenol yang membentuk tanin dapat memblokir sintesis peptidoglikan pada bakteri, sehingga mencegah pembangunan dinding sel bakteri (Linggawati *et al.*, 2002).

Bahan kimia saponin menyebabkan hemolisis dalam sel darah merah melalui mekanisme yang melibatkan ikatan dengan kolesterol dalam membran sel bakteri, sehingga merusak membran dan sel itu sendiri (Faradisa, 2008).

4. Metode Ekstraksi

Istilah ekstraksi mengacu pada teknik menghilangkan komponen yang diinginkan dari tumbuhan, hewan, atau simplisia melalui pelarut. Teknik yang berbeda dapat digunakan untuk ekstraksi, atau mengambil sesuatu, tergantung pada apa yang perlu diambil (Depkes RI, 2000).

Ekstrak kering adalah sediaan yang berasal dari tumbuhan atau hewan yang diperoleh dengan cara pemekatan dan pengeringan ekstrak cair sampai memenuhi standar yang telah ditentukan, semua atau hampir semua pelarut diuapkan, dan massa atau bubuk yang dihasilkan diproses untuk memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan; ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi komponen aktif dari simplisia nabati atau

hewani menggunakan pelarut yang sesuai (Farmakope Indonesia, Edisi IV, Depkes RI, 1995). Bahan inert sering ditambahkan berdasarkan jumlah zat aktif yang akan digunakan dalam pengaturan. Ketika suatu zat dikeringkan, pelarut diuapkan, meninggalkan bubuk atau kering, keadaan rapuh, tergantung pada metode dan peralatan yang digunakan (Martin *et al.*, 1961; Depkes RI, 2000).

Teknik ekstraksi yang digunakan ditentukan oleh spesifikasi bahan awal dan komponen yang diinginkan. Mengetahui tujuan akhir ekstraksi Anda akan membantu Anda memilih pendekatan yang tepat. Banyak benda dapat ditambang untuk bahan berharga mereka.

- a. Senyawa bioaktif yang tidak diketahui
- b. Senyawa yang diketahui ada pada suatu organisme
- c. Sekelompok senyawa dalam suatu organisme yang berhubungan secara struktural (Mukhrani, 2014)

Proses ekstraksi khususnya untuk bahan yang berasal dari tumbuhan adalah sebagai berikut :

- a. Pengelompokan bagian tumbuhan (daun, bunga, dll), pengeringan dan penggilingan bagian tumbuhan
- b. Pemilihan pelarut
- c. Pelarut polar : air, etanol, metanol, dan sebagainya
- d. Pelarut semipolar : etil asetat, diklorometan, dan sebagainya
- e. Pelarut nonpolar : n-heksan, petroleum eter, kloroform, dan sebagainya. (Mukhrani, 2014).

Ada beberapa cara metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut yaitu :

- a. Cara Dingin
 - 1) Maserasi

Maserasi adalah proses ekstraksi sederhana menggunakan pelarut dengan beberapa pengadukan dan pengadukan pada suhu kamar. Tujuan maserasi adalah untuk menarik

komponen bermanfaat. Prinsip dari metode ini adalah untuk mencapai konsentrasi kesetimbangan (Depkes RI, 2000).

2) Perkolasi

Perkolasi adalah proses ekstraksi yang menggunakan pelarut yang selalu segar dan sempurna. pada umumnya dilakukan pada suhu kamar. Perkolasi memiliki prinsip di mana silinder dan bagian bawah dilengkapi dengan partisi berpori. Proses perkolasi dimulai dengan pengembangan bahan, dilanjutkan dengan fase maserasi intermediate, dan fase maserasi itu sendiri yaitu penirisan atau pengumpulan ekstrak dilakukan secara terus menerus sampai ekstrak sama dengan 1-5 kali bahan (Istiqomah, 2013).

b. Cara Panas

1) Refluks

Refluks adalah metode ekstraksi di mana pelarut disimpan pada titik didih selama periode waktu tertentu. Jumlah pelarut yang digunakan terbatas dan relatif konstan dengan pendinginan balik. Metode ini umumnya menggunakan proses pengulangan residu utama sebanyak 3-5 kali (Depkes RI, 2000).

2) Sokletasi

Sokletasi adalah metode ekstraksi yang menggunakan pelarut baru secara berulang-ulang. Pada umumnya proses ekstraksi ini menggunakan peralatan khusus sehingga ekstraksi terus menerus terjadi dengan jumlah pelarut yang relatif konstan dan digunakan pendinginan balik. Biomassa ditempatkan dalam wadah Soxhlet. Perangkat Soxhlet mengosongkan isinya ke dalam labu alas bulat ketika pelarut mencapai batas tertentu. Ekstraksi dilakukan secara efisien dan senyawa atau sampel biomassa dimasukkan ke dalam pelarut (Istiqomah, 2013).

3) Digesti

Berlangsung pada suhu kamar dengan suhu 40-50°C atau disebut maserasi kinetic (pengadukan terus menerus) (Istiqomah, 2013).

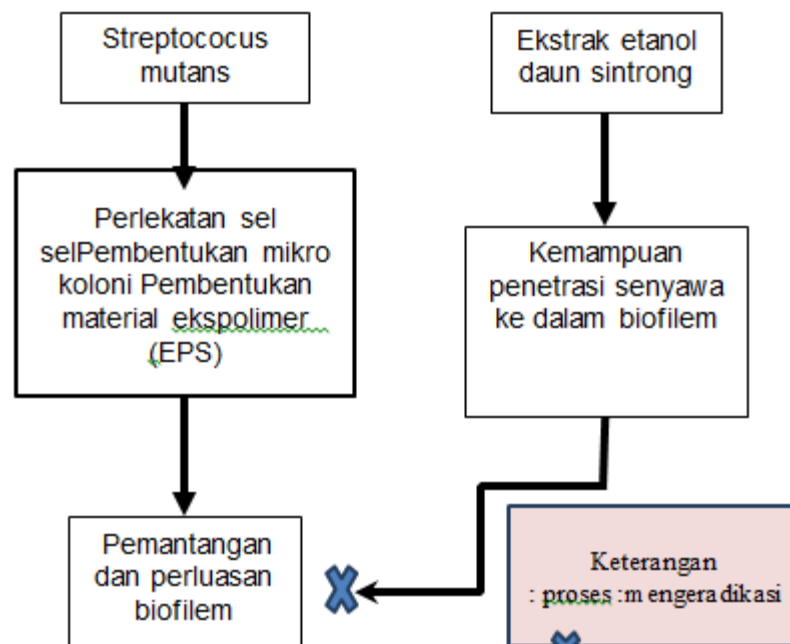
4) Infus

Infus adalah metode ekstraksi dengan pelarut air pada suhu terukur 9698 OC. Wadah infus direndam dalam penangas air mendidih (Istiqomah, 2013).

5) Dekok

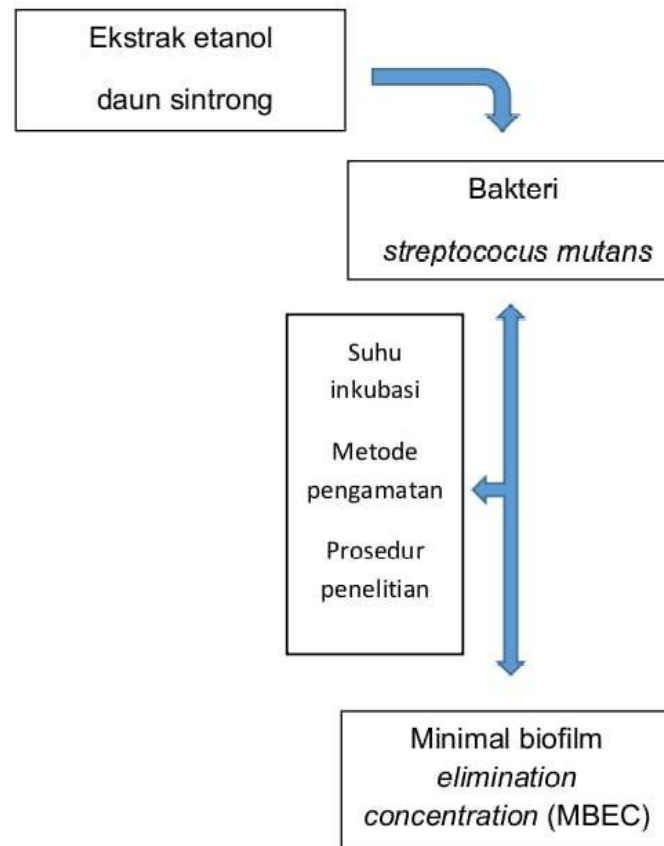
Dekok merupakan metode ekstraksi seperti infus dengan waktu yang lebih lama. Suhu lebih dari 30OC dan temperatur sampai titik didih air (Istiqomah, 2013).

B. Kerangka Teori Penelitian



Gambar 2. 3. Kerangka Teori Penelitian

C. Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 2. 4. Kerangka Konsep Penelitian

D. Hipotesis Penelitian

Hipotesis pada penelitian ini ekstrak etanol daun sintrong (*Crassocephalum crepidioides*) memiliki aktivitas eradikasi terhadap biofilm bakteri *Streptococcus mutans*.