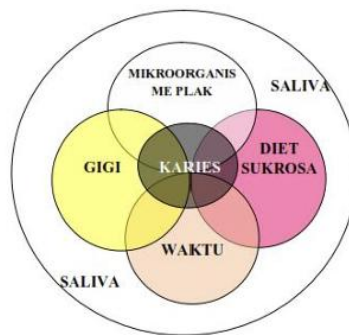


## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Karies

Karies gigi merupakan masalah kesehatan gigi dan mulut yang utama, yang sering dialami oleh masyarakat Indonesia dan ditemukan di dalam rongga mulut. Karies gigi adalah kondisi patologis yang mempengaruhi struktur gigi, ditandai dengan kerusakan jaringan pada berbagai tingkat, mulai dari lapisan luar gigi, yaitu email, kemudian melibatkan dentin dan dapat menyebar hingga ke pulpa. Pembentukan biofilm bakteri atau plak gigi di permukaan gigi memiliki peran penting dalam proses terjadinya karies gigi. Bakteri yang membentuk biofilm dapat memetabolisme karbohidrat yang dapat difermentasi, terutama sukrosa, menjadi asam, yang secara agresif melarutkan komponen mineral dari struktur gigi. Proses ini menyebabkan demineralisasi gigi, yang pada akhirnya mengarah pada terjadinya karies (Dewi & Astuti, 2023).

Karies gigi adalah penyakit yang berkembang secara bertahap hingga merusak struktur gigi secara keseluruhan. Karies merupakan proses abnormal yang disebabkan oleh ketidakseimbangan fisiologis lokal, yang melibatkan interaksi berbagai faktor seperti waktu, kerentanan, pola makan dan mikroorganisme. Mikroorganisme utama yang menyebabkan kondisi ini adalah *Streptococcus mutans* (Dewi & Astuti, 2023). *Streptococcus mutans* termasuk spesies bakteri utama pada plak gigi yang memiliki enzim glukosiltransferase (mengubah sukrosa menjadi glukon) dan enzim fruktosiltransferase (mengubah sukrosa menjadi fruktan) serta hasilnya dapat membantu perlekatan bakteri lain pada gigi geligi (Theresia *et al.*, 2023).



**Gambar 2. 1** Etiologi Karies (Listrianah *et al.*, 2019)

## 2.2 Patogenesis Karies

Patogenesis karies gigi adalah proses kompleks yang melibatkan interaksi antara mikroorganisme kariogenik, substrat makanan terutama karbohidrat, serta lingkungan rongga mulut dan struktur gigi itu sendiri. Secara garis besar, karies gigi merupakan penyakit infeksi kronis yang muncul sebagai akibat dari demineralisasi jaringan keras gigi akibat paparan asam organik yang dihasilkan oleh metabolisme bakteri dalam plak gigi (Fang *et al.*, 2024)

Proses terjadinya karies dimulai dengan adanya plak dipermukaan gigi. Plak terbentuk dari campuran bahan-bahan air ludah seperti musin, sisa-sisa sel jaringan mulut, leukosit, agar cair yang lama kelamaan menjadi kelat, tempat bertumbuhnya bakteri. Selain karena adanya plak karies gigi juga disebabkan oleh sukrosa (gula) dari sisa makanan dan bakteri yang menempel pada waktu tertentu yang berubah menjadi asam laktat yang akan menurunkan pH mulut menjadi kritis (5,5) yang akan menyebabkan demineralisasi email yang berlanjut menjadi karies gigi. Secara perlahan-lahan demineralisasi interna berjalan ke arah dentin melalui lubang fokus tetapi belum sampai kavitasi (Widyatmoko *et al.*, 2022).

Kavitasi baru timbul bila dentin terlibat dalam proses tersebut. Namun kadang-kadang begitu banyak mineral hilang dari inti lesi sehingga permukaan mudah rusak secara mekanis, yang menghasilkan kavitasi yang makroskopis dapat dilihat. Pada karies dentin yang baru mulai, yang terlihat hanya lapisan keempat (lapisan transparan, terdiri dari atas tulang dentin sklerotik, kemungkinan membentuk rintangan hidup mikroorganisme dan enzimnya) dan lapisan kelima (lapisan opak/tidak tembus penglihatan, di dalam tubuli terdapat lemak yang mungkin merupakan gejala degenerasi cabang-cabang odontoblas). Baru setelah terjadi kavitasi, bakteri akan menembus tulang gigi (Elianora *et al.*, 2019).

Koloni bakteri yang merupakan sekelompok mikroorganisme dapat merupakan flora normal. Di dalam rongga mulut berbagai macam jenis bakteri dapat ditemukan, antara lain *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Staphylococcus* dan *Corynebacteria*, serta jenis bakteri anaerob seperti *Bacteroides*. Bakteri tersebut dapat bersifat komensal, namun jika keadaan rongga mulut yang menguntungkan perkembangan bakteri maka

jumlah bakteri akan meningkat, yang menjadi pencetus terjadinya penyakit dalam rongga mulut. Perubahan jumlah koloni ini dipengaruhi oleh diet, komposisi dan aliran saliva, pengaruh hormon, kualitas *oral hygiene* dan penggunaan agen antimikroba. Salah satu penyakit dalam rongga mulut yang dapat terjadi akibat dari perkembangan bakteri adalah karies gigi (Widyatmoko *et al.*, 2022).

### 2.3 Bakteri *Streptococcus mutans*

*Streptococcus mutans* diklasifikasikan berdasarkan serotype menjadi 8 kelompok yaitu serotipe “a” sampai “h”. Pembagian serotipe ini berdasarkan perbedaan karbohidrat pada dinding sel. Berdasarkan hibridasi DNA bakteri ini dibagi menjadi 4 kelompok genetik diantaranya c, e, f dan k. Berdasarkan komposisi polisakarida yang diisolasi dari plak gigi 75% serotipe c, 20% serotipe e dan 5% sisanya diklasifikasikan sebagai serotipe f atau k. Pembagian ini berdasarkan prosentase basa DNA yaitu guanine dan cytosine (Kriswandini *et al.*, 2024). *Streptococcus mutans* merupakan bakteri Gram positif, bersifat non-motil dan anaerob fakultatif yang dapat memetabolisme karbohidrat (Hasanuddin & Salnus, 2020). *Streptococcus mutans* merupakan flora normal dalam rongga mulut yang dapat berubah menjadi patogen bila terjadi peningkatan jumlah koloni yang berlebihan. Dalam bidang kedokteran gigi, *Streptococcus mutans* berperan penting dalam pembentukan karies. Pencegahan karies dan penyakit periodontal dengan cara melakukan peningkatan kesehatan gigi telah menjadi tujuan utama dalam dunia kedokteran gigi sejak diketahui plak gigi merupakan 10aecal yang mendominasi penyebab hilangnya gigi (Lukaraja *et al.*, 2020).

#### 2.3.1 Klasifikasi Bakteri *Streptococcus mutans*

Klasifikasi ilmiah dari *Streptococcus mutans* (Taxonomy ID:1309) sebagai berikut (Kriswandini *et al.*, 2024):

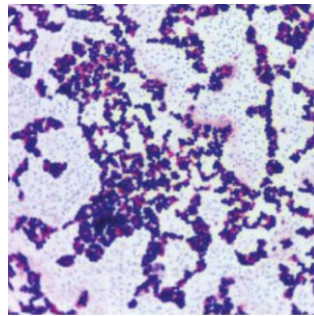
Kingdom : *Monera*  
Divisio : *Firmicutes*  
Class : *Bacili*  
Order : *Lactobacilalles*  
Family : *Streptococcaceae*

Genus : *Streptococcus*

Species : *Streptococcus mutans*

### 2.3.2 Morfologi Bakteri *Streptococcus mutans*

*Streptococcus mutans* merupakan bakteri Gram positif, berbentuk bulat lonjong, tersusun berpasangan atau rantai pendek selama pertumbuhan bakteri, tidak membentuk spora, bersifat anaerob fakultatif, tidak bergerak, merupakan sintesis dari kapsul dekstran polisakarida, yaitu katalase negatif. Koloninya tampak berwarna biru muda (1-2 mm) berbentuk oval atau bulat dengan permukaan agar MSB yang cembung. Secara biokimia, strain *Streptococcus mutans* menghasilkan oksidase, motilitas, sitrat simon dan urease negatif, mampu memfermentasi glukosa dan berbagai jenis gula seperti sukrosa, ribosa, sorbitol, manitol, fruktosa dan laktosa. *Streptococcus mutans* banyak ditemukan di rongga mulut dan merupakan penyebab utama kerusakan gigi. Ia memiliki faktor virulensi seperti: glikans yang tidak larut dalam air, toleransi asam, dan produksi asam laktat (Sulistyorini *et al.*, 2025).



**Gambar 2. 2** Bakteri *Streptococcus mutans* (Alauddin *et al.*, 2022)

### 2.3.3 Peran *Streptococcus mutans* Terhadap Karies

*Streptococcus mutans* adalah bakteri penyebab utama karies gigi. Bakteri tersebut menempel di pelikel gigi dan memecah gula sebagai energi untuk menghasilkan asam laktat dan menyebabkan kondisi asam di sekitar gigi dan berakibat terjadinya demineralisasi email. Koloni *Streptococcus mutans* memfermentasi sukrosa menjadi asam. Asam yang dihasilkan mempercepat terjadinya plak yang berakibat pada turunnya pH permukaan gigi. Apabila pH tersebut terus turun hingga angka kritis (5,2-5,5), maka email gigi akan larut dan timbulah karies gigi. (Sulistyorini *et al.*, 2025).

Saliva berfungsi sebagai tempat perlekatan bagi bakteri *Streptococcus mutans* di seluruh permukaan rongga mulut. Komponen yang terdapat dalam saliva, seperti IgA, B2, mikroglobulin dan glikoprotein, berperan dalam membentuk ikatan antara bakteri dan permukaan gigi. Perlekatan ini akan menghasilkan koloni yang kemudian membentuk biofilm, yang dapat menyebabkan akumulasi plak dan berujung pada terjadinya karies. Selain perannya dalam pembentukan biofilm dan produksi asam, *Streptococcus mutans* juga memproduksi *extracellular polysaccharides* (EPS) dari sukrosa yang berfungsi untuk memperkuat struktur biofilm dan meningkatkan ketahanan plak terhadap proses pembersihan mekanis. Hal ini menyebabkan plak gigi menjadi lebih sulit dihilangkan dan memungkinkan terjadinya akumulasi bakteri yang lebih besar pada permukaan gigi (Fang *et al.*, 2024)

Karies gigi adalah salah satu penyakit rongga mulut yang khas, yang disebabkan oleh pertumbuhan mikroorganisme di rongga mulut yang tidak seimbang. Beberapa ahli berpendapat bahwa keberadaan bakteri adalah syarat penting untuk terjadinya karies gigi. Jumlah koloni bakteri *Streptococcus mutans* yang tinggi menunjukkan adanya hubungan sebab-akibat yang sangat erat dengan tingkat keparahan karies (Wulandari *et al.*, 2022).

#### **2.4 Klorheksidin**

Klorheksidin merupakan obat kumur, telah diakui secara luas dalam konteks perawatan saluran akar gigi karena sifat antibakterinya yang efektif. Klorheksidin merupakan golongan bisbiguanida yang dikembangkan pada tahun 1940 di Inggris dan sudah dimanfaatkan sebagai desinfektan, khususnya dalam kedokteran gigi. Konsentrasi klorheksidin 0,2% terbukti efektif dalam mengurangi plak gigi dan memiliki efek fungisidal serta bakterisidal yang luas, dengan keunggulan dari segi toksisitas yang rendah dan kemudahan aksesibilitasnya (Afifah Lubis & Wahyuni, 2023). *Chlorhexidine gluconate* memiliki keunggulan utama dibandingkan obat kumur lainnya berupa daya cengkeramnya pada zat (jaringan dalam rongga mulut). Efek klorheksidin bertahan lama disebabkan ikatannya yang kuat dengan jaringan lunak dan keras mulut (Kurniawati, 2024).

Klorheksidin 0,2% dapat mempengaruhi jumlah koloni bakteri saliva karena kandungan fenol yang terdapat di dalamnya. Fenol memberikan efek bakteriostatik pada kadar 0,1-1%, bersifat bakteriosid pada kadar 0,4-1,6% dan bersifat fungisidal pada kadar 1,3%. Kandungan bahan dasar *chlorine* pada khlorheksidin merupakan desinfektan tingkat tinggi, karena sangat aktif pada semua bakteri, virus, fungi, parasit dan beberapa spora. Klorheksidin sendiri memiliki kemampuan mengikat yang sangat kuat dalam rongga mulut, dimana hal ini merupakan keunggulannya dibandingkan dengan bahan lain. Efek antiseptik dari khlorheksidin tidak hanya bakteriostatik tetapi juga memiliki daya lekat yang lama pada permukaan gigi, sehingga memungkinkan efek bakterisid (Syahrul *et al.*, 2023).

Penggunaan obat kumur untuk berkumur dapat menghilangkan bakteri yang tidak dapat dijangkau oleh sikat gigi pada sela-sela gigi. Pembersihan rongga mulut secara mekanis dan kimiawi merupakan mekanisme kerja obat kumur. Hal ini disebabkan berkumur dengan obat kumur memungkinkan kontrol plak menjangkau lebih banyak permukaan mulut (Kurniawati, 2024).

## **2.5 Tumbuhan Gletang (*Tridax procumbens L.*)**

Gletang (*Tridax procumbens L.*) merupakan tumbuhan liar yang berasal dari Amerika Latin. *Tridax procumbens L.*, yang juga dikenal dengan sebutan “*coat buttons*” adalah tanaman tahunan dari keluarga *Asteraceae* yang berasal dari Amerika Tengah, namun kini dapat ditemukan di seluruh wilayah tropis dan subtropis. Tanaman ini sangat berharga karena memiliki berbagai aktivitas farmakologis yang maksimal dan merupakan salah satu bahan penting dalam sebagian besar ramuan senyawa dalam literatur Ayurveda (Dattaray, 2022). Gletang banyak ditemukan dengan kondisi lingkungan kering dan tahan terhadap cekaman kekeringan. Tumbuhan gletang merupakan tanaman gulma, namun baik bagi kesehatan karena dipakai sebagai pengobatan dapat menyembuhkan diare, disentri dan mencegah rambut rontok. Khasiatnya yang terkenal adalah mampu menghilangkan rasa nyeri kaku dan pembengkakan dipersendian karena rematik, menurunkan kadar asam urat, memperbaiki metabolisme fungsi hati dan ginjal, serta meningkatkan stamina tubuh.

Ekstrak daunnya juga bisa menurunkan tekanan darah dan denyut jantung, mengobati hipertensi. Selain itu mempunyai efek mikrobial melawan bakteri Gram positif dan Gram negatif dan bisa menstimulasi penyembuhan luka. Keunggulan dari gletang adalah tidak beracun, aman bagi penderita gangguan hati dan ginjal, kaya mineral seperti kalium, magnesium dan kalsium yang baik untuk pertumbuhan (Debeturu *et al.*, 2022).

### 2.5.1 Klasifikasi Tumbuhan Gletang

Klasifikasi tumbuhan gletang (*Tridax procumbens L.*) menurut (Ahmed *et al.*, 2021; N *et al.*, 2024) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Sub-kingdom	: <i>Tracheobionta</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyte</i>
Filum	: <i>Spermatophyta</i>
Subfilum	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledons</i>
Sub-Kelas	: <i>Asteridae</i>
Ordo	: <i>Asterales</i>
Famili	: <i>Asteraceae</i>
Genus	: <i>Tridax</i>
Species	: <i>Tridax procumbens L.</i>



**Gambar 2. 3** Tumbuhan Gletang (*Tridax Procumbens L.*) (Chaudari & Patil, 2022)

*Tridax procumbens L.* adalah tumbuhan herba tahunan atau perenial dengan batang semi-prostrat merambat, biasanya mencapai 20–50 cm, terkadang hingga 75 cm, bercabang dan berambut jarang serta dapat berakar pada ruas batang. (Anandrao *et al.*, 2024). Daunnya berbentuk tunggal berhadapan dan bentuknya bervariasi, memainkan peran penting dalam fotosintesis dan pertumbuhan tanaman yang cepat. Biasanya berbentuk lonjong atau elips dengan tepi bergerigi tidak beraturan, panjang daunnya berkisar antara 3 hingga 8 cm dan lebarnya 2 hingga 4 cm. Permukaannya kasar dan ditutupi bulu-bulu halus, yang dapat membantu melindungi tanaman dari herbivora dan tekanan lingkungan. Daunnya memiliki pola venasi menyirip, dengan pelepah daun yang menonjol dan urat daun lateral yang bercabang. Struktur daun ini, bersama dengan pubertasnya yang halus, memungkinkan gletang beradaptasi dengan berbagai kondisi lingkungan, seperti keterbatasan air dan tekanan herbivora, yang mendukung kemampuannya untuk tumbuh subur di habitat yang terganggu (Aarefoddin *et al.*, 2025).

Struktur bunga *Tridax procumbens L.* merupakan karakteristik kunci untuk identifikasinya, karena menghasilkan bunga majemuk yang khas dari famili *Asteraceae*. Tanaman ini membentuk kepala bunga soliter atau berkelompok di ujung batangnya, masing-masing berdiameter 2–3 cm. Seperti terlihat pada Gambar 2.4 s etiap kepala bunga terdiri dari gugusan pusat bunga cakram kuning yang dikelilingi oleh bunga ray putih, yang steril dan terutama berfungsi untuk menarik penyerbuk seperti lebah dan kupu-kupu. Bunganya biseksual, dengan banyak kepala sari yang mengelilingi kepala putik. Penyerbukan utamanya dilakukan oleh serangga (entomofil), meskipun tanaman ini juga mampu melakukan penyerbukan sendiri (Aarefoddin *et al.*, 2025).

### **2.5.2 Kandungan Senyawa Bunga Gletang**

*Tridax procumbens L.*, yang umum dikenal karena sifat obatnya, menunjukkan profil kaya senyawa fitokimia yang berkontribusi pada berbagai aktivitas farmakologisnya. Berbagai studi telah mengidentifikasi komponen penting yang terdapat dalam tanaman ini yang memberikan banyak manfaat kesehatan. Tumbuhan

ini mengandung beragam fitokimia, seperti alkaloid, terpenoid, flavonoid dan tanin semuanya teridentifikasi melalui uji fitokimia sebagai kandungan dalam bunga ini. Bunga *Tridax procumbens L.* dikenal secara luas dalam pengobatan tradisional karena kandungan senyawa bioaktifnya. Berdasarkan hasil penelitian terbaru, bunga ini berperan dalam berbagai aktivitas biologis, termasuk aktivitas antibakteri dan sebagai antioksidan (Jaiswal & Gajbhiye 2020). Berikut ini adalah penjelasan kandungan senyawa bunga gletang (*Tridax procumbens L.*) menurut (Widyawati *et al.*, 2022) :

**Tabel 2. 1** Kandungan Senyawa Bunga Gletang (*Tridax procumbens L.*)

Senyawa	Metode/Uji	Manfaat
Flavonoid	Reagen FeCl <sub>3</sub> 5%	a. Antibakteri b. Antioksidan c. Antikanker d. Antiinflamasi e. Kardioprotektif.
Tanin	Reagen FeCl <sub>3</sub> 1%	a. Antibakteri b. Antioksidan c. Antimutagenik d. Antikarsinogenik
Alkaloid	Reagen Dragendorf	a. Antikanker b. Antibakteri c. Antioksidan d. Antimikroba
Terpenoid	Anhidrida Asetat + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat	a. Antibakteri b. Antijamur

### 2.5.3 Manfaat Tumbuhan Gletang

Tumbuhan gletang memiliki berbagai manfaat medis yang telah terbukti secara ilmiah. *Tridax procumbens L.* dikenal luas dalam pengobatan tradisional untuk pengobatan luka dan sebagai antidiabetik (Jeevitha *et al.*, 2024; Lakhera *et al.*, 2022; Putale *et al.*, 2024). Secara khusus, gletang terbukti efektif menghambat pertumbuhan

berbagai bakteri patogen, termasuk *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium tuberculosis*, bahkan patogen mulut seperti *Streptococcus mutans* sering menjadi penyebab infeksi gigi dan mulut. Aktivitas antibakteri ini terutama disumbang oleh kandungan flavonoid, alkaloid dan tanin yang bekerja merusak membran sel bakteri dan menghambat enzim vital bakteri (Seetharaman *et al.*, 2025). Metode uji laboratorium menunjukkan ekstrak daun dan bunga gletang dalam berbagai pelarut mampu menghasilkan zona hambat pada media pertumbuhan bakteri, dengan efektivitas setara atau lebih tinggi dibandingkan kontrol antibiotik tertentu (Syed *et al.*, 2020a; Widyawati *et al.*, 2022).

Selain sebagai antibakteri, tumbuhan ini juga mendukung kesehatan melalui aktivitas antioksidan dan antiinflamasi. Ekstrak gletang mampu menurunkan stress oksidatif dan peradangan sehingga bermanfaat sebagai pelengkap terapi untuk kesehatan secara menyeluruh, termasuk dalam percepatan penyembuhan luka (Evbuomwan *et al.*, 2023).

## **2.6 Proses Ekstraksi Bunga Gletang**

Ekstraksi merupakan proses pemisahan senyawa campuran zat terlarut dari zat yang tidak larut menggunakan pelarut yang tepat. Ukuran kelarutan, keadaan partikel padat, jenis, ukuran, bentuk, suhu dan waktu pengadukan merupakan hal yang mempengaruhi ekstraksi (Noviyanty *et al.*, 2024). Ekstraksi pada dasarnya merupakan metode penarikan atau pemisahan satu atau lebih komponen aktif senyawa metabolit sekunder dari jaringan tumbuhan ataupun hewan dengan menggunakan pelarut yang sesuai melalui prosedur yang telah ditetapkan. Selama proses ekstraksi, pelarut akan berdifusi sampai ke material padat tumbuhan atau hewan yang menyebabkan dinding sel akan mengalami pembengkakan dan pelonggaran kerangka selulosa sehingga pori-pori dinding sel menjadi lebar yang membuat pelarut dapat dengan mudah masuk ke dalam sel. Selanjutnya, komponen isi sel akan pecah dan berbagai macam bahan yang ada akan larut ke dalam pelarut sesuai dengan tingkat kelarutannya lalu berdifusi keluar akibat adanya gaya yang ditimbulkan karena perbedaan konsentrasi bahan terlarut yang

terdapat didalam dan diluar sel. Jumlah dan jenis senyawa yang tertarik kedalam pelarut bergantung pada jenis pelarut yang digunakan (Wahyuningsih *et al.*, 2024).

Prosedur ekstraksi yang dipakai pada penelitian ini adalah maserasi. Maserasi merupakan suatu metode sederhana yang paling banyak digunakan karena dapat digunakan untuk skala kecil maupun skala industri. Cara kerja metode ini pertama masukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert tertutup rapat pada suhu kamar. Ketika telah tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman maka proses ekstraksi dihentikan. Apabila proses ekstraksi telah selesai maka pelarut dipisahkan dari sampel dengan cara penyaringan. Metode ini juga terdapat kelemahan yaitu membutuhkan banyak waktu dalam ekstraksinya, penggunaan pelarut yang cukup banyak, memungkinkan beberapa senyawa hilang, beberapa senyawa kemungkinan sulit diekstrak pada suhu kamar. Metode ini dapat menghindari rusaknya senyawa yang bersifat termolabil pada saat ekstraksi (Wahyuningsih *et al.*, 2024).

Dalam penelitian ini, proses ekstraksi dilakukan menggunakan metanol 96% dengan metode maserasi. Metanol 96% merupakan pelarut polar yang mampu melarutkan berbagai metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, tanin dan senyawa fenolik. Kandungan air sebesar 4% dalam metanol meningkatkan kemampuan pelarut untuk mengekstrak senyawa polar tanpa mengurangi efisiensi terhadap senyawa semi-polar. Proses maserasi dilakukan dengan merendam serbuk simplisia dalam pelarut metanol 96% pada suhu ruang selama waktu tertentu, disertai pengadukan sesekali untuk mempercepat difusi senyawa aktif ke dalam pelarut. Setelah proses perendaman selesai, maserat disaring dan pelarut diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental metanol yang mengandung campuran berbagai senyawa bioaktif (Halimatushadyah & Yuliana, 2023).

## **2.7 Proses Fraksinasi Bunga Gletang**

Fraksinasi adalah cara untuk memisahkan ekstrak kental berdasarkan kadarnya, fraksinasi menggunakan dua pelarut yang tidak menyatu satu sama lain (Noviyanty *et al.*, 2024). Pada proses fraksinasi digunakan dua pelarut yang tidak tercampur dan

memiliki tingkat kepolaran yang berbeda. Fraksinasi bertingkat menggunakan pelarut berbeda berdasarkan tingkat kepolaritasannya menghasilkan ekstrak alami yang berbeda, sehingga senyawa metabolit sekunder dapat tertarik secara maksimal oleh pelarut. Metode fraksinasi pada umumnya dijadikan acuan dalam pendugaan sifat kepolaran suatu senyawa yang akan dipisahkan (senyawa target). Berdasarkan hal tersebut metode fraksinasi memiliki kelebihan dibandingkan dengan metode lain, sebab dapat memisahkan senyawa bioaktif berdasarkan tingkat kepolaran karena senyawa yang bersifat polar larut dalam pelarut polar sedangkan senyawa semi polar larut dalam pelarut semi polar dan senyawa non polar larut dalam pelarut non polar. Pelarut yang biasa digunakan yaitu etanol yang bersifat polar akan melarutkan senyawa polar, n-heksan adalah pelarut non polar akan melarutkan senyawa non polar yang bersifat stabil dan mudah menguap, etil asetat adalah pelarut semi polar yang mampu melarutkan senyawa dengan rentang polaritas hingga non polar (Purba *et al.*, 2023). Pelarut n-heksan adalah pelarut yang baik jika digunakan untuk mengekstrak senyawa yang sifatnya non polar sebab mempunyai berbagai kelebihan, yaitu stabil dan selektif (Constanty & Tukiran, 2021b). Identifikasi senyawa terpenoid dan steroid pada beberapa tanaman menggunakan pelarut n-heksan menunjukkan bahwa pelarut n-heksan umumnya dapat mengekstrak senyawa lipofilik seperti terpenoid dan steroid. Pemilihan pelarut pada fraksinasi bergantung pada sifat analitnya dimana pelarut dan analit harus memiliki sifat yang sama, karena metode fraksinasi merupakan suatu prosedur pemisahan antara suatu senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya (Putri *et al.*, 2023).

Berikut adalah beberapa metode fraksinasi yang dapat dilakukan :

1. Fraksinasi Cair-Cair

Metode ini merupakan pemisahan dengan menggunakan pelarut yang tidak saling bercampur sehingga senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar, senyawa yang bersifat non polar akan larut ke dalam pelarut non polar dan senyawa yang bersifat semi polar akan larut ke dalam pelarut semi polar. Fraksinasi dengan cair-cair dilakukan dengan pengocokan. Prinsip pemisahan

pada proses fraksinasi adalah didasarkan pada perbedaan tingkat kepolaran dan perbedaan bobot jenis antara dua fraksi (Makalunsenge *et al.*, 2022).

## 2. Kromatografi Kolom

Kromatografi kolom dikenal sebagai teknik yang memiliki fase gerak (*mobile phase*) dan fase diam (*stationary phase*). Prinsip kerja kromatografi kolom adalah adanya perbedaan absorbansi dari masing-masing senyawa campuran yang akan dipisahkan. Fase gerak yang digunakan dapat berupa pelarut murni atau campuran dua pelarut yang bersesuaian dengan perbandingan tertentu. Fase diam ditempatkan dalam kolom yang dilewati fase gerak yang dipengaruhi oleh adanya tekanan gravitasi. Keuntungan utama dari kromatografi kolom adalah dapat memisahkan senyawa dengan sifat fisik yang sangat mirip sehingga menghasilkan fraksi yang lebih murni (Emilda & Delfira, 2023).



**Gambar 3. 1** Kromatografi Kolom (Fernanda *et al.*, 2021)

## 3. Kromatografi Lapis Tipis

Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan salah satu metode analisis sederhana yang dapat digunakan untuk mengetahui ada tidaknya senyawa yang terkandung dalam ekstrak (Lintang *et al.*, 2024). Uji KLT dilakukan dengan dibuat garis bagian atas dan bawah pada plat silika GF254 selebar 1 cm, lalu dipanaskan di oven  $\pm 30$  menit dengan suhu  $110^{\circ}\text{C}$ . Sampel ditotolkan pada plat silika dengan menggunakan *white tip* dan dimasukkan dalam bejana yang sebelumnya telah jenuhkan terlebih dahulu, kemudian didiamkan hingga eluen sampai tanda batas yang telah ditentukan. Setelah itu, plat silika

dikeluarkan dan diangin-anginkan sampai kering, kemudian dilakukan penyinaran pada sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Selanjutnya disemprotkan  $AlCl_3$  5% sebagai penampak bercak lalu diamati dengan melihat noda yang ada pada lempeng kemudian ditentukan nilai Rf (Oktapiya *et al.*, 2022).

## 2.8 Metode Uji Antibakteri

Antibakteri adalah senyawa yang dapat digunakan untuk pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Penggunaan antibiotik yang sembarangan telah memicu munculnya resistensi bakteri terhadap obat-obatan yang umum digunakan. Seiring dengan meningkatnya resistensi bakteri di dunia kesehatan, maka perlu adanya penemuan dan pengembangan obat baru khususnya antibakteri. Sumber antibakteri baru dapat diperoleh dari senyawa bioaktif yang terkandung dalam suatu tumbuhan. Produk alami telah membantu kita dalam melawan bakteri Banyak tanaman yang telah diteliti menunjukkan aktivitas antimikroba (Guntur *et al.*, 2021).

Pada umumnya, pengujian potensi antibiotik secara mikrobiologi dilakukan dengan menggunakan 2 metode, yaitu dilusi dan lempeng silinder atau difusi agar. Prinsip metode lempeng silinder atau difusi agar adalah membandingkan zona hambatan pertumbuhan mikroorganisme uji oleh dosis senyawa antibiotik yang diuji terhadap zona hambatan oleh dosis antibiotik baku pembanding pada media lempeng agar. Selain itu, metode difusi digunakan dalam uji sensitivitas bakteri. Metode tersebut dilakukan dengan cara mengamati daya hambat pertumbuhan mikroorganisme oleh ekstrak yang diketahui dari daerah di sekitar kertas cakram (*paper disc*) yang tidak ditumbuhi oleh mikroorganisme. Zona hambatan pertumbuhan inilah yang menunjukkan sensitivitas bakteri terhadap bahan anti bakteri (Fitriana *et al.*, 2020).

### 1. Metode Dilusi

Metode ini dilakukan dengan mencampurkan zat antimikroba dan media agar, yang kemudian diinokulasikan dengan mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa tumbuh atau tidaknya mikroba dalam media. Aktivitas zat antimikroba ditentukan dengan melihat konsentrasi hambat minimum (KHM) dan

konsentrasi bunuh minimum (KBM). Metode ini digunakan untuk mengetahui jumlah populasi mikroba yang tinggi. Metode dilusi sangat cocok digunakan untuk isolasi bakteri dari spesimen yang berasal dari makhluk hidup atau untuk kepentingan identifikasi satu bakteri dalam campuran bakteri yang kompleks. Kelebihan dari metode dilusi adalah dapat menentukan tingkat resistensi secara kuantitatif dan kekurangan metode dilusi adalah memerlukan pengerjaan yang rumit (Rahmah *et al.*, 2024). Metode dilusi terdiri dari 2 cara yaitu:

a. Dilusi Cair

Metode ini dapat mengukur KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bunuh Minimum) dengan cara membuat seri pengenceran dari sampel yang berisi populasi bakteri dari suatu sampel spesimen atau koloni bakteri campuran yang kompleks. Penambahan antimikroba pada medium cair dapat ditambahkan dengan mikroba uji. Dilusi cair disebut juga pengenceran serial dalam tabung-tabung yang telah diisi suspensi bakteri atau populasinya dalam berbagai konsentrasi. Zat yang akan diuji aktivitas antibakterinya harus diencerkan dalam seri konsentrasi tertentu menggunakan media cair. Selanjutnya inokulasi bakteri uji dilakukan menggunakan media cair dan diinkubasi pada waktu dan suhu yang sesuai dengan bakteri uji. Aktivitas antibakteri dinyatakan sebagai kadar hambat minimum (KHM) dan kadar bunuh minimum (KBM).

b. Dilusi Padat

Metode ini menggunakan media padat (solid). Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi suatu antibakteri dapat digunakan untuk menguji beberapa bakteri uji. Antibakteri yang telah diencerkan dituangkan ke dalam cawan petri yang telah diisi media agar. Selanjutnya setelah agar membeku, bakteri diinokulasikan dan diinkubasi pada waktu dan suhu yang sesuai. Konsentrasi terendah larutan antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri disebut konsentrasi hambat minimum (KHM).

2. Metode Difusi

Metode ini merupakan metode yang paling sering digunakan. Metode ini dapat dilakukan dengan beberapa cara, yaitu (Erikania & Rosalina, 2022):

a. Metode *Kirby Bauer*

Metode ini dilakukan untuk menentukan aktivitas antimikroba menggunakan suatu disk atau cakram yang berisi antimikroba atau senyawa uji. Disk tersebut diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme. Senyawa uji di dalam disk akan berdifusi pada media agar tersebut menghasilkan suatu kondisi di mana terdapat area jernih dan area keruh. Area jernih menggambarkan adanya penghambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh senyawa uji yang terkandung dalam disk/cakram pada permukaan media agar. Sedangkan area keruh menggambarkan adanya pertumbuhan bakteri di permukaan media agar. Kelebihan metode ini adalah memiliki tingkat fleksibilitas yang tinggi dalam memilih senyawa uji yang akan diteliti atau diperiksa. Disk/cakram dapat berisi senyawa uji berupa antibiotik sebagai kontrol positif atau pembanding. Disk/cakram kosong dapat diisi senyawa uji yang berupa ekstrak dari bahan alam dengan cara direndam selama waktu tertentu pada konsentrasi tertentu.

b. Metode Sumuran

Pada metode ini media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri dilubangi seperti sumuran (*hole/cup*) menggunakan alat pelubang media. Lubang atau sumuran tersebut dapat dibuat sesuai dengan diameter yang dikehendaki. Sumuran tersebut selanjutnya diisi larutan berisi senyawa uji baik itu senyawa antibakteri atau senyawa ekstrak yang akan diuji aktivitas antibakterinya. Proses selanjutnya adalah inkubasi sesuai dengan suhu dan waktu yang sesuai dengan mikroba yang diuji. Luas zona hambat senyawa antibakteri dinyatakan dengan zona bening di daerah sumuran. Metode sumuran memiliki kelebihan yaitu lebih mudah mengukur luas zona hambat yang terbentuk karena isolat beraktivitas tidak hanya di permukaan atas nutrisi agar tetapi juga sampai ke bawah sedangkan kekurangannya yaitu pada metode ini media sangat rentan

terkontaminasi pada saat pembuatan lubang dan memasukan sampel karena sering membuka cawan.

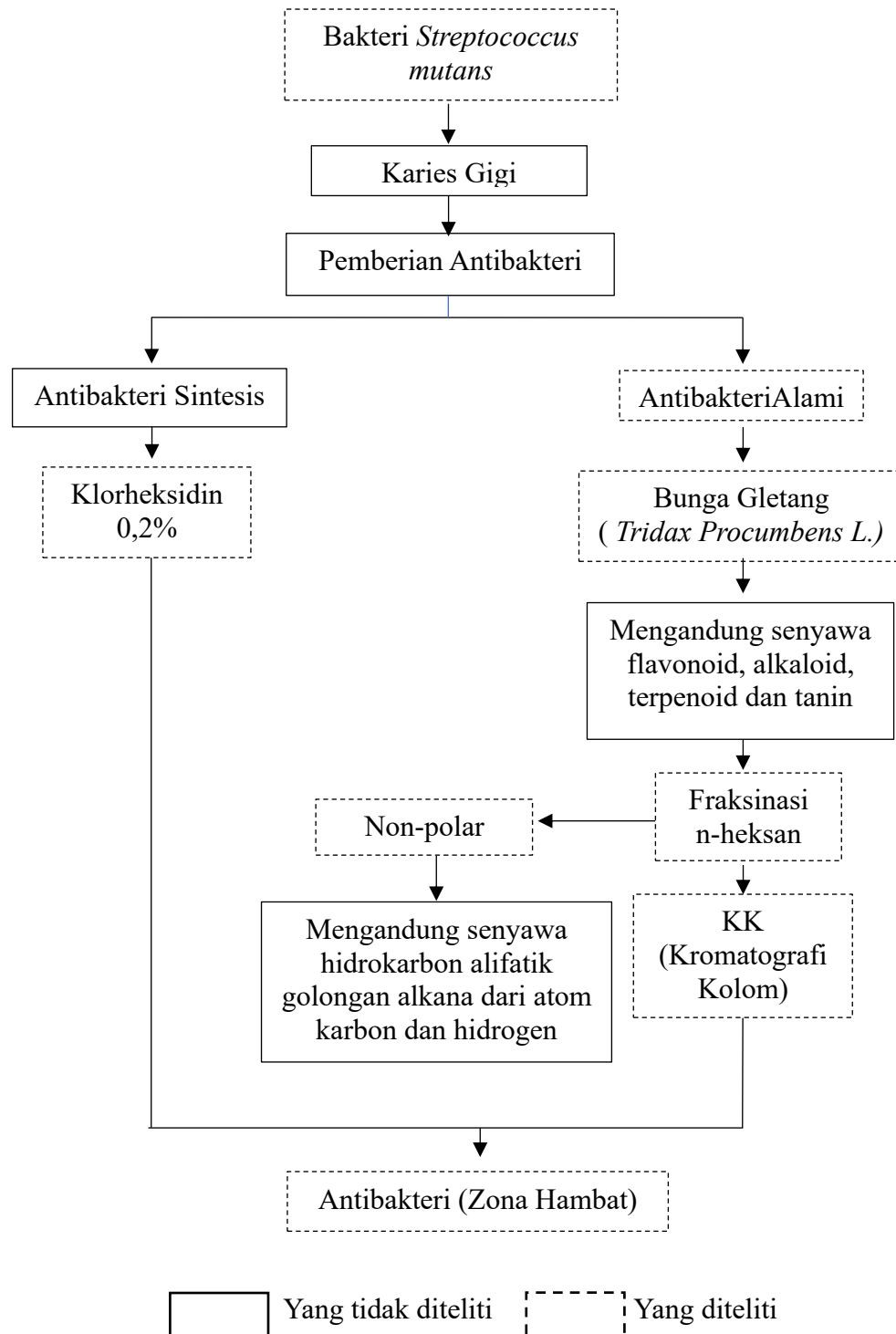
### 2.8.1 Zona Hambat

Metode zona hambat bakteri adalah cara untuk menguji potensi suatu bahan (misalnya, obat-obatan, ekstrak tanaman) dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Metode ini melibatkan pengamatan zona jernih (zona hambat) di sekitar bahan uji yang ditambahkan pada media pertumbuhan bakteri, yang menunjukkan area di mana bakteri tidak dapat tumbuh karena efek bahan uji. Daya antibakteri berdasarkan diameter zona hambat terbagi sangat kuat (zona hambat lebih dari 20 mm), kuat (zona hambat 10-20 mm), sedang (zona hambat 5-10 mm) dan lemah (zona hambat kurang dari 5 mm). Kerentanan antimikroba diuji dengan metode cakram menggunakan suspensi nutrisi agar (NA). NA adalah media yang cocok untuk budidaya berbagai bakteri Gram-positif dan Gram-negatif serta larutan berair merupakan sumber nutrisi untuk pertumbuhan bakteri yang berfungsi sebagai satu kesatuan. Bakteri diinkubasi pada suhu 37 ° C selama 1 x 24 jam, dilanjutkan dengan pengamatan. Zona bening mewakili kerentanan bakteri terhadap antibakteri yang diuji, diukur sebagai perluasan zona penghambatan. Diameter zona hambat diukur dalam milimeter (mm) dengan menggunakan jangka sorong berskala (Nurhamidin *et al.*, 2021).

**Tabel 2. 2** Klasifikasi Zona Hambat Bakteri (Davis & Stout, 1971)

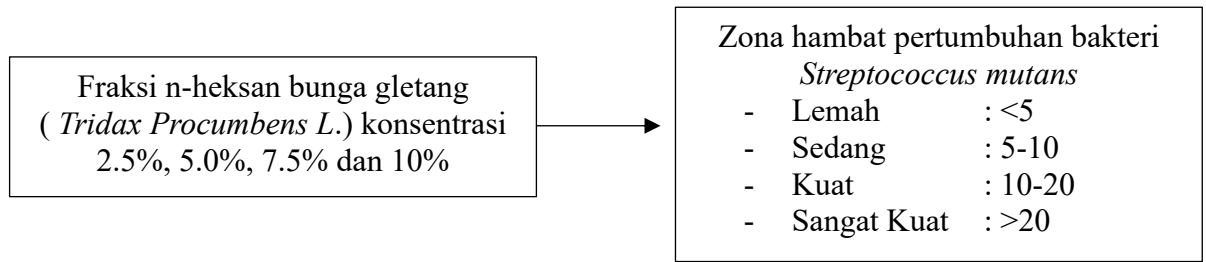
Luas Zona Hambat (mm)	Kategori
>20	Sangat Kuat
10-20	Kuat
5-10	Sedang
<5	Lemah

## 2.9 Kerangka Teori



**Gambar 2.1** Kerangka Teori

## 2.10 Kerangka Konsep



## 2.11 Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Ho : Tidak terdapat aktivitas antibakteri fraksi n-heksan bunga gletang (*Tridax procumbens L.*) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*  
 Ha : Terdapat aktivitas antibakteri fraksi n-heksan bunga gletang (*Tridax procumbens L.*) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*
2. Ho : Tidak terdapat perbedaan aktivitas antibakteri fraksi n-heksan bunga gletang (*Tridax procumbens L.*) dengan konsentrasi 2.5%, 5.0%, 7.5% dan 10% terhadap bakteri *Streptococcus mutans*  
 Ha : Terdapat perbedaan aktivitas antibakteri fraksi n-heksan bunga gletang (*Tridax procumbens L.*) dengan konsentrasi 2.5%, 5.0%, 7.5% dan 10% terhadap bakteri *Streptococcus mutans*