SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA TERHADAP *Streptococcus mutans* DAN SKRINING FITOKIMIA DARI EKSTRAK KULIT BATANG DURIAN (*Durio zibenthinus)*

ANTIMICROBIAL ASSAY AGAINST *Streptococcus mutans* AND PHYTOCHEMICAL SCREENING OF DURIAN *(Durio zibenthinus)* CORTEX EXTRACTS

Disusun dan diajukan oleh

ANDI ASNA ABDULLAH

N011 17 1323

PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021

UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA TERHADAP *Streptococcus mutans* DAN SKRINING FITOKIMA DARI EKSTRAK KULIT BATANG DURIAN *(Durio zibenthinus)*

ANTIMICROBIAL ASSAY AGAINST *Streptococcus mutans* AND PHYTOCHEMICAL SCREENING OF DURIAN *(Durio zibenthinus)* CORTEX EXTRACTS

SKRIPSI

untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana

ANDI ASNA ABDULLAH

N011 17 1323

PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021

UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA TERHADAP *Streptococcus mutans* DAN SKRINING FITOKIMIA DARI EKSTRAK KULIT BATANG DURIAN *(Durio zibenthinus)*

ANDI ASNA ABDULLAH

N011 17 1323

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,	Pembimbing Pendamping,
Yayu Mulsiani Evary, S.Si, M.Pharm, Sci, Apt	Nana Juniarti Natsir Djide, S.Si, M.Si, Apt
NIP. 19850417 201504 1 001	NIP. 19900602 201504 2 002

Pada tanggal 22-09- 2021

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA TERHADAP *Streptococcus mutans* DAN SKRINING FITOKIMIA DARI EKSTRAK KULIT BATANG DURIAN *(Durio zibenthinus)*

Disusun dan diajukan oleh

ANDI ASNA ABDULLAH
N011 17 1323

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin pada tanggal 22-09-2021 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama,	Pembimbing Pendamping,
Yayu Mulsiani Evary, S.Si, M.Pharm, Sci, Apt	Nana Juniarti Natsir Djide, S.Si, M.Si, Apt
NIP. 19850417 201504 1 001	NIP. 19900602 201504 2 002

Plt.Ketua Program Studi S1 Farmasi,

Firzan Nainu, S.Si., M.Biomed.Sc., Ph.D., Apt.
NIP. 19820610 200801 1 012

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini ;

Nama	: Andi Asna Abdullah
NIM	: N011171323
Program Studi	: Farmasi
Jenjang	: S1

Menyatakan dengan ini bahwa Skripsi dengan judul "Uji Aktivitas Antimikroba Terhadap *Streptococcus mutans* Dan Skrining Fitokimia Dari Ekstrak Kulit Batang Durian *(Durio zibenthinus)"* adalah karya saya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila di kemudian hari skripsi karya saya ini terbukti bahwa sebagian atau keseluruhannya adalah hasil karya orang lain yang saya pergunakan dengan cara melanggar hak cipta pihak lain, maka saya bersedia menerima sanksi.

Makassar, 22-09-2021

g Menyatakan

Andi Asna Abdullah

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah subhanahu wa ta'alaa atas berkat, rahmat, karunia, dan petunjuk-Nya sehingga skripsi ini dapat diselesaikan. Dalam penyusunan skripsi ini, penulis mendapatkan banyak bantuan dari berbagai pihak berupa bimbingan, saran, hingga ucapan semangat sehingga penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan. Oleh sebab itu penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Ibu Yayu Mulsiani Evary, S.Si., M.Sci., Apt. selaku pembimbing utama penulis dalam penyusunan skripsi ini, dimana beliau telah memberikan bimbingan dengan baik dan banyak masukan dari awal penelitian hingga tahap akhir pembuatan skripsi ini
2. Ibu Nana Juniarti Natsir Djide, S.Si., M.Si., Apt. selaku pembimbing pendamping penulis yang juga telah memberikan banyak sekali masukan, saran dan arahan terkait penelitian dan skripsi ini
3. Bapak Usmar, S.Si., M.Si., Apt. dan Ibu Dr. Risfah Yulianty, S.Si., M.Si., Apt. Selaku dosen penguji yang telah memberikan koreksi dan arahan untuk penelitian dan perbaikan skripsi ini.
4. Ibu Dr, Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt. Selaku penasehat akademik yang telah memberikan arahan serta bimbingan selama masa perkuliahaan
5. Seluruh pihak terkait Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, meliputi bapak dekan, para wakil dekan, para dosen, hingga para staf terkait yang bertugas, baik secara langsung maupun tidak langsung

turut membantu penulis selama perkuliahan beberapa tahun ini.

6. Teman-teman dekat penulis selama berkuliah di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, Terkhusus Zilfrida Aura Bening Azizy, LM. Alif Fauzan Rifdah Aulia, A. Aulia Nur Azizah, Andi Nailil Aulia, dan Hardiana Lestari yang menjadi tempat berkeluh kesah, canda tawa serta menolong dan mendukung penulis dalam menyusun skripsi ini
7. Teman seperjuangan dalam melaksanakan penelitian, Chindy Claudia Asmara dan Nur Amalia Ramadhani yang selalu bersama-masa dalam mengerjakan penelitian dan tempat berkeluh kesah.
8. Muhammad Shidiq, Selaku teman terdekat penulis yang sudah membantu dan memberikan dukungan serta semangat selama masa perkuliahaan
9. Sahabat-sahabat baik penulis terkhusus Sri Mulyani Akil, Aisyah Syamsuddin, Khadijah Syamsuddin, Arisa, Annisa, Anggi putri, Mutmainna, Feby Fadilah, Syarifa Tenriola, Endang Utami, Muhammad Aliafid yang menjadi tempat berkeluh kesah, canda tawa serta menolong dan mendukung sejak SMA hingga saat ini.
10. Keluarga besar CLOSTRI17IUM KEMAFAR-UH selaku teman angkatan 2017 yang penulis sayangi, seluruh manis pahit yang telah dilalui sejak mahasiswa baru hingga sekarang akan selalu terukir di ingatan penulis
11. Teman-teman pengurus BEM KEMAFAR-UH Kabinet Karya periode 2019-2020 yang telah menjadi wadah pengembangan diri dan

organisasi KEMAFAR-UH

12. Segenap anggota Keluarga Mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah menjadi wadah pengembangan diri penulis selama menjalani kehidupan mahasiswa

Skripsi ini terselesaikan oleh penulis tidak ada artinya tanpa dorongan serta bantuan dari kedua orang tua yang telah memberikan semangat, dukungan dan material hingga doa tiada hentinya kepada penulis. Rasa terima kasih penulis hantarkan kepada Ayahanda Abdullah dan Ibunda Hj. A. Rusmiati. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada saudara penulis Andi Asri Abdullah dan Andi Intan Abdullah yang senantiasa memberikan bantuan, semangat serta doa untuk penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa terdapat banyak kekurangan sehingga skripsi ini jauh dari kata sempurna. Oleh sebab itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun sehingga tercipta karya yang lebih baik lagi. Semoga karya ini dapat bermanfaat bagi ilmu serta pengetahuan.

Makassar, 22-9-2021

Andi Asna Abdullah

ABSTRAK

ANDI ASNA ABDULLAH. Uji Aktivitas Antimikroba Terhadap *Streptococcus mutans* Dan Skrining Fitokimia Dari Ekstrak Kulit Batang Durian *(Durio zibenthinus)* (dibimbing oleh Yayu Mulsiani Evary dan Nana Juniarti Natsir Djide)

Streptococcus mutans merupakan bakteri yang paling banyak menyebabkan karies gigi di Indonesia. Hingga saat ini, antibiotik yang digunakan dalam terapi infeksi *S. mutans* masih tergolong efektif, namun, kasus resistensi antimikroba pada *S. mutans* semakin meningkat. Sehingga, penemuan senyawa antimikroba baru dari tananaman—seperti kulit batang Durian (*Durio zibenthinus*)—dapat memberi kontribusi dalam menangani masalah ini. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antimikroba dari ekstrak dan fraksi kulit batang Durian serta menganalisis golongan senyawa antimikrobanya. Ekstrak etanol diperoleh secara maserasi sedangkan fraksi larut dan tidak larut-etil asetat diperoleh menggunakan ekstraksi cair-padat. Sampel kemudian diuji aktivitas antimikrobanya menggunakan metode difusi agar dan mikrodilusi dilanjutkan dengan skrining fitokimia. Semua sampel menunjukkan penghambatan terhadap *S. mutans* pada uji difusi agar sedangkan tidak ada penghambatan yang dapat diamati pada metode mikrodilusi. Hasil skrining fitoimia menunjukan semua sampel mengandung senyawa fenolik dan alkaloid. Dapat disimpulkan bahwa kulit batang durian mengandung senysawa fenolik dan alkaloid serta menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap *S. mutans.*

Kata Kunci : *Streptococcus mutans, Durio zibenthinus,* Uji Penghambatan, Skrining Fitokimia

ABSTRACT

ANDI ASNA ABDULLAH. Antimicrobial Assay Against *Streptococcus mutans* And Phytochemical Screening Of Durian *(Durio zibenthinus)* Cortex Extracts (Supervised by Yayu Mulsiani Evary and Nana Juniarti Natsri Djide).

Streptococcus mutans is a major cause of dental caries cases in Indonesia. Nowdays, antibiotics in therapy of *S. mutans* infection are still effective, but in the future, cases of antimicrobial resistance in *S. mutans* might arise. Thus, research on new antimicrobial compounds from plantssuch as Durian (*Durio zibenthinus*) cortex might contribute to resolve this problem. This study aims to determine the antimicrobial activity of the extract and fraction of Durian cortex as well as determining its active phytochemical compounds. Ethanol extracts were obtained by maceration method while ethyl acetate and insoluble acetate fractions were obtained by solid-liquid extraction method. The samples were screened for its antimicrobial activity using agar diffusion method and microdilution method followed by phytochemical screening. All samples showed inhibition against S. mutans in agar diffusion method while no inhibition was shown in microdilution methods. The results of phytochemical screening showed that all samples contained phenolic and alkaloid compounds. In conclusion, Durian cortex contains phenolic and alkaloid compounds, also shows antimicrobial activity against *S. mutans*.

Keywords: *Streptococcus mutans, Durio zibenthinus,* Inhibition Test, Phytochemical Screening

DAFTAR ISI

	halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1. Latar Belakang	1
I.2. Rumusan Masalah	2
I.3. Tujuan Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1. Tanaman Durian	4
II.1.1. Taksonomi Tanaman Durian	4
II.1.2. Morfologi Tanaman	4
II.1.3. Kandungan dan Manfaat	5
II.1.4. Metode Ekstraksi	7
II.1.4.1 Maserasi	7
II.1.4.2 Sokhletasi	7
II.1.4.3 Perkolasi	7

DAFTAR ISI

II.1.4.4 *Supercritical Fluid Extraction* 8

II.1.4.5 *Utrasound Assisted Extraction* 8

II.1.5. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) 9

II.1.6. Metabolit Sekunder Tumbuhan 9

II.1.6.1. Alkaloid 9

II.1.6.2. Flavonoid 10

II.1.6.3. Terpenoid 10

II.1.6.4. Tannin 11

II.2 *Streptococcus mutans* 11

II.2.1. Klasifikasi *Streptococcus mutans* 11

II.2.2. Morfologi *Streptococcus mutans* 12

II.2.3. Patogenesis *Streptococcus mutans* 13

II.3 Metode Pengujian Antibakteri 15

II.3.1. Metode Difusi Agar 15

II.3.2. Metode Dilusi Cair 16

BAB III METODE PENELITIAN 17

III.1. Alat dan Bahan 17

III.2. Pengambilan Pengolahan Sampel 17

III.2.1. Pengambilan Sampel 17

III.2.2. Pengolahan Sampel 17

III.2.3. Ekstraksi Sampel 18

III.2.4. Partisi Ekstrak 18

III.2.4.1. Uji Fitokimia 18

III.3. Uji Kualitatif Kandungan Fitokimia 19

III.3.1 Uji Flavanoid 19

DAFTAR ISI

III.3.2. Uji Fenolik 19

III.3.3. Uji Saponin 19

III.3.4. Uji Tanin 20

III.3.5. Uji Alkaloid 20

III.4. Uji Aktivitas Antimikroba 20

III.4.1. Sterilisasi Alat 20

III.4.2. Pembuatan Larutan Stok 20

III.4.3. Pembuatan Medium Mueller Hinton Agar (MHA) 21

III.4.4 Pembuatan Medium Mueller Hinton Broth 21

III.4.5. Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Difusi Agar 21

III.4.6. Penyiapan Suspensi Biakan Uji 22

III.4.7. Penentuan Nilai KHM Menggunakan Metode Mikrodilusi 22

III.4.8. Analisis Data, Pembahasan, dan Penarikan Kesimpulan 23

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 24

IV.1. Hasil Ekstraksi 24

IV.2.Hasil Skrining Fitokimia 24

IV.3. Hasil Penentuan Nilai KHM 25

IV.4. Hasil Penentuan Diamater Hambat 27

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN 29

V.1. Kesimpulan 29

V.2. Saran 29

DAFTAR PUSTAKA 30

LAMPIRAN 35

DAFTAR TABEL

Tabel		halaman
1.	Hasil Skrining Fitokimia	25
2.	Hasil Penentuan Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)	26
3.	Hasil Penentuan Diameter Hambat	27

DAFTAR GAMBAR

Gambar halaman

1. Tanaman Durian 4
2. *Streptococcus mutans* 11
3. Uji Kualitatif Kandungan Fitokimia 38
4. Hasil Uji Antibakteri Menggunakan Metode Difusi Agar 39
5. Hasil Uji Antibakteri Menggunakan Metode Dilusi Cair 40
6. Proses Pengambilan Sampel 45
7. Proses Pemotongan Sampel 45
8. Proses Pencucian Sampel 45
9. Simplisia Kulit Batang Durian 45
10. Proses Maserasi 45
11. Penguapan Pelarut Menggunakan *Rotary Evaporator* 45
12. Ekstrak Pekat 46
13. Ekstrak Etanol 46
14. Ekstrak Larut Etil Asetat 46
15. Ekstrak Tidak Larut Etil Asetat 46
16. Proses Pengerjaan Metode Difusi Agar 46
17. Proses Pengerjaan Metode Mikrodilusi 46

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		halaman
1.	Skema Kerja	35
2.	Komposisi Media	36
3.	Perhitungan Ekstrak Etanol Total	37
4.	Gambar Penelitian	38

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Tanaman Durian (*Durio zibethinus* Murr) adalah tumbuhan tropis yang tumbuh dengan baik di Indonesia. Banyaknya durian di Indonesia, khususnya di Provinsi Jambi mencapai 7.037 ton pada tahun 2010 (data durian penanaman). Eksplorasi lebih lanjut sehubungan dengan kimia konstituen dan aktivitas biologis yang diinginkan karena ini memiliki potensi untuk menambah manfaat ekonomi durian (*D. zibethinus*) komersial perkebunan (Rudiyansyaha *et al.,* 2015).

Kulit batang durian (*D. zibethinus*) mengandung banyak komponen fitokimia penting seperti alkaloid, saponin, tanin, flavonoid, terpenoid, glikosida dan senyawa fenolik. Dalam ekstrak kulit batang durian (*D. zibethinus*) terkandung dua triterpenoid baru, yaitu *metil-27-O-trans-kaffeoil silikodiskat* dan *metil-27-O-sis-kaffeoil silikodiskat* sebuah senyawa fenolik baru*, 1,2-diaril propan-3-ol* dan tujuh senyawa yang diketahui, fraksidin, eukrifin, buhmenan, treokarolignan E, *(-)-(3R,4S)-4-hidroksi mellein* metil-protokatekuat dan (+)-(R)-de-O-metillasiodiplodin (Lim, 2012). Kehadiran senyawa fitokimia ini di tanaman ini menunjukkan potensi farmakologisnya yang luas. Selain itu, ekstrak kulit batang durian (*D. zibethinus*) juga menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus agalactiae* dengan hasil untuk ekstrak tunggal sebesar 14,67 mm, dan 16,67 mm untuk

kombinasi ekstrak dan penisilin G (Sivananthan and Elamaran, 2013). Hal ini menunjukkan potensi pemanfaatan ekstrak kulit batang durian (*D. zibethinus*) sebagai sumber senyawa antimikroba baru.

Salah satu mikroba patogen dengan prevalensi kasus infeksi yang cukup tinggi ialah *Streptococcus mutans,* bakteri anaerobik fakultatif penyebab karies gigi serta endokarditis infektif (Kojima *et al.,* 2012). Prevalensi karies gigi di Indonesia pada tahun 2020 ditargetkan hanya sebesar 54,6%, namun angka ini meningkat menunjukkan nilai 72,6% (Syah *et al.,* 2019). Bakteri ini telah menunjukkan resistensi terhadap beberapa obat antibiotik seperti eritromisin, lincomisin, penisilin, dan amoxicillin sehingga dibutuhkan pencarian senyawa antimikroba baru (Al-Shami *et al.,* 2019). Belum ada penelitian mengenai potensi ekstrak kulit batang durian (*D. zibethinus*) terhadap *S. mutans.*

Berdasarkan uraian di atas, maka penelitian ini berfokus pada uji aktivitas antimikroba terhadap *S. mutans* dan skrining fitokimia dari ekstrak kulit batang durian *(D. Zibenthinus*).

I.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana aktivitas ekstrak etanol, ekstrak etil asetat dan ekstrak tidak larut etil asetat dari kulit batang durian (*D. zibethinus*) dalam menghambat bakteri *Streptococcus mutans*?
2. Golongan senyawa fitokimia apakah yang terkandung dalam ekstrak etanol, ekstrak etil asetat dan ekstrak tidak larut etil asetat kulit batang durian (*D. zibethinus)*?

I.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol, ekstrak etil asetat dan ekstrak tidak larut etil asetat dari kulit batang durian (*D. zibethinus*) dalam menghambat bakteri *Streptococcus mutans.*
2. Untuk mengetahui golongan senyawa fitokimia yang terkandung dalam ekstrak etanol, ekstrak etil asetat dan ekstrak tidak larut etil asetat kulit batang durian (*D. zibethinus)*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Tanaman Durian

II.1.1 Taksonomi Tanaman Durian

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Trachaeobioanta
Superdivision : Spermatophyte
Division : Magnoliophyta
Class : Magnoliopsida
Family : *Bombacaceae*
Genus : Durio
Spesies : *Durio zibethinus* Murray.

Gambar 1. Tanaman Durian (Sumber: cybex.pertanian.go.id)

II.1.2 Morfologi Tanaman

Durian termasuk dalam ordo Malvales, famili Bombacaceae, dan genus Durio. Ada enam dari 29 spesies dalam genus ini yang dapat dimakan termasuk *D. kutejensis, D. oxleyanus, D. tombolens, D. ducis, D. grandifl orus,* dan *D. zibethinus*. Durian diyakini berasal dari Pulau Kalimantan, di mana lebih banyak spesies Durio telah ditemukan ditemukan daripada di tempat lain (Soegeng-Reksodihardjo, 1962; Zainab and Abidin, 2008). Buahnya berbentuk kapsul lokulisida dengan bentuk bulat, bulat telur, silinder atau ellipsoidal, umumnya terdiri dari lima segmen (lokul). Ukurannya berkisar antara 1–5 kg, dengan batang silinder besar, diameter

1–1,2 cm. Batangnya terdiri dari dua bagian. Bagian bawah, dari buah menuju zona absisi, berkembang dari pedisel bunga. Bagian atas, dari zona absisi ke titik lampiran di cabang, berkembang dari tangkai bunga. Buah jatuh dari pohon pada zona absisi setelah pematangan. Kulitnya berwarna hijau kecoklatan hingga hijau kekuningan di bagian luar, putih di bagian luar bagian dalam, keras dan berserat, tebal 0,3 sampai 1,5 cm dan ditutupi dengan tiga sampai tujuh sisi duri tajam dan keras berbentuk piramida. Di tengah setiap lokula ada jahitan dari batang ke ujung stylar. Ini adalah zona luka dimana dinding ovarium masing-masing karpel bergabung dengan yang lain, sejak awal saat perkembangan bunga membentuk lokul. Jika penyerbukan dan pembuahan selesai maka buah akan berkembang menjadi bentuk simetris. Buah terbentuk dari satu bunga. Diantara 10–30 bunga pada bunga yang muncul dari cabang utama, hanya satu sampai tiga buah yang berkembang menjadi buah matang. Biji berukuran besar, lebar 2–3 cm dan panjang 5–7 cm, keras dan ditutup dengan lapisan tipis kulit berwarna coklat. Daging buahnya relatif tebal, sampai 3 cm. Dengan struktur durian yang disebutkan di atas, masing-masing buah mengandung 55–66% kulit buah, 20–35% aril dan 5–15% biji (Polprasid, 1983).

II.1.3 Kandungan dan Manfaat

Durian kaya akan makronutrien (gula dan lemak) dan mikronutrien (kalium), serat, senyawa bioaktif, dan minyak atsiri. Durian kaya kalium dan mirip dengan buah kaya kalium lain seperti pisang (United States Department of Agriculture, 2019). Sebuah studi meta-analisis menunjukkan

bahwa ada respon dosis linier antara kalium serum rendah dan risiko diabetes mellitus tipe 2 (Hu *et al.,* 2001). Chatterjee *et al.,* (2017) menunjukkan bahwa suplementasi kalium klorida mengurangi efek memburuknya glukosa puasa di pada probandus Afrika-Amerika dibandingkan dengan plasebo. Secara kolektif, bukti menunjukkan bahwa kandungan kalium dalam durian mungkin berperan dalam regulasi glukosa darah. Pengaruh durian pada glukosa darah belum dieksplorasi secara menyeluruh baik dalam penelitian hewan maupun manusia, dan karenanya, memerlukan penyelidikan lebih lanjut. Sifat anti-aterosklerotik durian aril telah dilaporkan pada tikus percobaan (Aziz and Jalil, 2019). Penelitian in vitro dan in vivo sebelumnya menyelidiki manfaat kesehatan dari durian (varietas Monthong) pada profil lipid (Gorinstein *et al.,* 2011; Haruenkit *et al.,* 2007; Poovarodom *et al.,* 2013). Haruenkit *et al.,* (2007) menunjukkan bahwa tikus diberi perlakuan durian secara signifikan ($p < 0,05$) menurunkan kolesterol total plasma postprandial (TC) dan low density lipoprotein choesterol (LDL-C) sebesar 14,9% dan 21,6% dibandingkan dengan kelompok kontrol (Haruenkit *et al.,* 2007). Gorinstein *et al.,* (2010) mempelajari aktivitas anti-proliferasi durian menggunakan sel kanker payudara (MCF-7). Penelitian ini menunjukkan bahwa buah durian dapat dipertimbangkan sebagai sumber potensial polifenol dengan efek perlindungan terhadap proliferasi yang diinduksi nitrat oksida pada sel MCF-7. Pada konsentrasi 600 µg/mL, ekstrak buah durian menghambat

pertumbuhan sel MCF-7 hingga 40%. Namun, studi in vivo diperlukan untuk mengkonfirmasi efek ini (Jayakumar and Kanthimathi, 2011).

II.1.4 Metode Ekstraksi

II.1.4.1 Maserasi

Maserasi merupakan metode ekstraksi konvensional dimana seluruh bahan berupa bubuk bersentuhan dengan pelarut yang berada dalam wadah tertutup untuk jangka waktu tertentu dengan pengadukan. Di akhir proses, pelarut dikeringkan sehingga didapatkan hasil berupa ekstrak kental. Maserasi bukanlah teknik modern dikarenakan bahan aktif tidak dapat diekstraksi sepenuhnya (De Silva *et al.,* 2017).

II.1.4.2 Sokhletasi

Metode ini digunakan secara luas bila senyawa yang diinginkan memiliki kelarutan terbatas dalam pelarut dan memiliki impurity yang kurang larut dalam pelarut. Sampel yang ditumbuk halus ditempatkan dalam kantong berpori terbuat dari kertas saring atau selulosa. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi ditempatkan di labu alas bulat (De Silva *et al.,* 2017).

II.1.4.3 Perkolasi

Perkolasi merupakan metode ekstraksi dengan menggunakan alat perkolator, yaitu tabung yang memiliki bejana sempit berbentuk kerucut terbuka di kedua ujungnya. Bahan tanaman dibasahi dengan pelarut dan ditempatkan di ruang perkolasi. Kemudian bahan tanaman dibilas dengan

pelarut beberapa kali sampai bahan aktif diekstraksi. Dengan menggunakan metode ini pelarut dapat digunakan sampai titik jenuhnya (De Silva *et al.,* 2017).

II.1.4.4 Supercritical Fluid Extraction

Gas superkritis seperti karbon dioksida, nitrogen, metana, etana, etilen, dinitrogen oksida, sulfur dioksida, propana, propilen, amonia dan belerang heksafluorida digunakan untuk mengekstraksi bahan aktif. Bahan tanaman disimpan di ruang yang diisi dengan gas dalam kondisi terkendali suhu dan tekanan. Bahan aktifnya yang terlarut dalam gas terpisah saat temperatur dan tekanan dalam ruang rendah. Faktor penting dari metode ini adalah perpindahan besar solut dalam kondisi superkritis. Umumnya suhu dan tekanan memiliki efek yang saling terpengaruh. Namun efek faktor tekanan bersifat lebih langsung. Saat tekanan meningkat, kepadatan yang lebih tinggi dicapai oleh cairan superkritis. Dengan demikian kerapatan medium meningkat dan kelarutan zat terlarut akan meningkat. Untuk mendapatkan hasil yang lebih tinggi, proses tersebut harus dioptimalkan dengan metode sufrace response (De Silva *et al.,* 2017).

II.1.4.5 Utrasound Assisted Extraction

Metode ini merupakan metode ekstraksi modern yang memiliki kemampuan mengekstraksi sejumlah besar senyawa bioaktif dalam waktu ekstraksi yang lebih singkat. Keuntungan utama dari teknik ini adalah meningkatnya penetrasi pelarut ke dalam sel karena untuk gangguan dinding sel yang dihasilkan oleh kavitasi akustik. Dan juga metode ini

menggunakan suhu ruang, dengan demikian lebih cocok untuk ekstraksi senyawa yang tidak stabil secara termal.

II.1.5 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah teknik dasar kromatografi yang digunakan untuk memisahkan senyawa yang tidak mudah menguap. TLC umumnya dikerjakan di atas lembaran kaca atau plat alumunium foil yang umumnya dilapisi dengan lapisan tipis berbagai bahan penyerap seperti silika gel, bahan selulosa dan aluminium oksida (Factor, 1991). Pelarut yang digunakan untuk pemisahan berupa fase gerak dan fase diam. Kedua fase tersebut memiliki polaritas yang berbeda. Pemisahan terjadi berdasarkan polaritas dan migrasi yang lebih sedikit dari yang lain (Stahl, 2013). Pemisahan senyawa fitokimia oleh KLT sangat bergantung pada pelarut yang digunakan. Migrasi senyawa aktif dan spot yang diperoleh sangat bergantung oleh pemilihan pelarut. Setelah percobaan, diperoleh hasil noda senyawa. Berbagai proses kimia dan penggunaan cahaya pada frekuensi tertentu digunakan untuk memvisualisasikan noda tersebut. Hasil noda dikuantifikasi oleh nilai faktor retensi (Rf) (Stoddard *et al.,* 2007).

II.1.6 Metabolit Sekunder Tumbuhan

II.1.6.1 Alkaloid

Alkaloid adalah produk alami yang mengandung atom nitrogen heterosiklik dan bersifat basa. Nama alkaloid berasal dari "Alkaline" dan digunakan untuk mendeskripsikan senyawa basa yang mengandung

nitrogen. Alkaloid adalah kelompok senyawa sintesis alami oleh sejumlah besar organisme, termasuk hewan, tumbuhan, bakteri dan jamur. Beberapa hasil bahan alam yang diisolasi dari tanaman obat adalah senyawa alkaloid saat pertama kali diperoleh dari bahan tanaman pada tahun-tahun awal abad ke-19, ditemukan bahwa senyawa ini adalah basa yang mengandung nitrogen membentuk garam dengan asam (Kurmukov, 2013). Uji kualitatif alkaloid menggunakan pereaksi Dragendorff yang terdiri dari (Nitrooksi) oksobismutin ($BiNO_4xH_2O$), asam tartarat dan KI dan digunakan untuk deteksi alkaloid pada amina tersier. Amina tersier terprotonasi karena asam tartarat dan pasangan ion yang terbentuk terdiri dari $[BiI_4]$ dan $[HNR_3]^+$ (Parbuntari *et al.,* 2018).

II.1.6.2 Flavonoid

Flavonoid adalah senyawa polifenol. Lebih dari 4.000 flavonoid telah diidentifikasi, banyak diantaranya terdapat di sayur mayur, buah-buahan dan minuman seperti teh dan kopi. Flavonoid memiliki peran utama dalam dunia medis zaman kuno dan penggunaannya telah bertahan sampai sekarang. Flavonoid ada di mana-mana seperti di tumbuhan vaskuler berbentuk aglikon, glukosida, dan turunan metilasi. Lebih dari 4000 flavonoid telah diidentifikasi sejauh ini di bagian tumbuhan yang biasa dikonsumsi manusia dan sekitar 650 flavon dan 1030 flavanol telah dikenal (Kurmukov, 2013). Pada proses ini pengujian kualitatif dari flavonoid melibatkan reagen aluminum klorida yang akan membentuk kompleks asam yang stabil dengan berikatan pada gugus keto C-4 dan salah satu

dari kelompok hidroksil C-3 atau C-5 dari flavon dan flavonol (Ahmed, 2018).

II.1.6.3 Terpenoid

Terpenoid adalah senyawa alami yang berupa turunan lima unit karbon isoprena. Sebagian besar terpenoid memiliki struktur multi siklik yang berbeda dari satu sama lain berdasarkan gugus fungsi dan rangka dasar karbonnya. Banyak dari senyawa terpenoid digunakan secara komersial karena penggunaannya sebagai perasa dan wewangian dalam makanan dan kosmetik, seperti mentol dan *sclareol* dan digunakan dalam produk produk lainnya seperti perasa buah-buahan dan aroma bunga seperti linalool. Terpenoid tersebar luas di alam, terutama pada tumbuhan sebagai konstituen minyak esensial. Struktur dasar terpenoid adalah isoprena hidrokarbon $CH_2=C(CH_3)-CH=CH_2$. Hidrokarbon terpen oleh karena itu memiliki rumus molekul $(C_5H_8)_n$ dan diklasifikasikan menurut jumlah unit isoprena (Kurmukov, 2013). Uji kualitatif dari terpenoid menggunakan reagen Liebermann-Burchard yang melibatkan reaksi asam sulfat dan asam asetat anhidrida menghasilkan kompleks berwarna merah hingga ungu (Adu *et al.,* 2019).

II.1.6.4 Tanin

Tanin merupakan senyawa alami bersifat heterogen yang termasuk dalam kelompok polifenol dengan berat molekul tinggi dengan kapasitas untuk membentuk ikatan kompleks reversibel dan ireversibel dengan protein, polisakarida (selulosa, hemiselulosa, pektin, dll.), alkaloid, asam

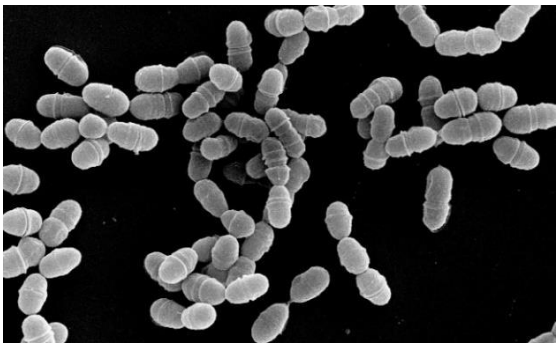
nukleat, dan mineral. Atas dasar karakteristik struktural, tanin dibagi menjadi empat besar kelompok: Gallotannins, ellagitannins, kompleks tannin, dan terkondensasi tannin. Tanin banyak ditemukan pada buah-buahan seperti anggur, kesemek, blueberry, teh, coklat, legum, pohon legum seperti *Acacia* spp. dan *Sesbania* spp., pada rerumputan seperti sorgum, jagung. Beberapa manfaat kesehatan telah diakui untuk asupan tanin pada beberapa penyakit (Kurmukov, 2013). Uji kualitatif tanin menggunakan reagen $FeCl_3$ dikarenakan struktur tanin yang akan bereaksi dengan ion besi membentuk warna positif hijau gelap (Nurzaman *et al.,* 2018).

II.1.6.5 Fenolik

Senyawa fenol adalah sekelompok molekul kecil yang dicirikan oleh strukturnya yang memiliki setidaknya satu unit fenol. Berdasarkan struktur kimianya, fenolik senyawa dapat dibagi menjadi subkelompok yang berbeda, seperti asam fenolik, flavonoid, tanin, kumarin, lignan, kuinon, stilbens, dan kurkuminoid (Gan *et al.,* 2018). Uji kualitatif senyawa fenolik menggunakan reagen $FeCl_3$ yang akan membentuk kompleks *ferric phenoxide* (Apostică *et al.,* 2018).

II.2 Streptococcus mutans

II.2.1 Klasifikasi *Streptococcus mutans*



Gambar 2. *Streptococcus mutans (Integrated Taxonomic Information System*, 2021)

Kingdom : Bacteria

Filum : Firmicutes

Kelas : Bacilli

Ordo : Lactobacillales

Famili : Streptococcaceae

Genus : Streptococcus

Species : *Streptococcus mutans* (*Integrated Taxonomic Information System,* 2021)

II.2.2 Morfologi *Streptococcus mutans*

Streptococcus mutans adalah bakteri Gram-positif yang merupakan flora normal pada mulut. Bakteri ini dapat tumbuh pada suhu mulai dari 18-40 derajat Celcius. *Streptococcus mutans* dapat memetabolisme berbagai jenis karbohidrat sehingga menciptakan suasana asam di mulut sebagai hasil dari proses ini. Suasana asam di mulut inilah yang menyebabkan kerusakan gigi. Hal ini adalah penyebab utama karies gigi (kerusakan gigi)

di seluruh dunia. *S. mutans* dianggap paling kariogenik dari semua penyakit Streptokokus oral *S. mutans* pertama kali dideskripsikan oleh James Kilian Clarke (1886-1950) setelah dia mengisolasinya dari lesi karies, tetapi baru pada tahun 1960 mikroba diteliti secara mendalam untuk mempelajari karies gigi (European Bioinformatics Institute, 2014).

II.2.3. Patogenesis *Streptococcus mutans*

Streptococcus mutans merupakan baktreri parasit pada hewan, terutama pada hewan yang memiliki diet tinggi karbohidrat (sukrosa, fruktosa, dan glukosa) dan dikenal sebagai agen penyebab karies gigi pada manusia (Grey *et al.,* 1997).

S. mutans merupakan penyumbang utama kerusakan gigi, dan banyak ditemukan pada permukaan gigi. Bakteri ini paling terkonsentrasi di celah, lubang, dan celah yang merupakan bagian normal dari gigi dan struktur sekitarnya. Orang dewasa mungkin konsentrasi *S. mutans* yang tinggi di mulut mereka. Sebaliknya, bayi dan anak memiliki konsentrasi yang lebih kecil, tetapi lebih rentan terhadap bakteri. *S. mutans* dapat ditularkan dari orang tua ke bayi atau anak melalui air liur, misalnya dengan membiarkan bayi atau anak memasukkan jari mereka ke dalam mulut orang tua dan kemudian ke mulut mereka sendiri (Microbewiki, 2014).

Streptococcus mutans sangat berperan sebagai agen etiologi utama dalam karies gigi. Salah satu sifat virulensi penting dari organisme ini adalah kemampuannya untuk membentuk biofilm yang dikenal sebagai plak gigi pada permukaan gigi. Pembentukan plak gigi pada permukaan gigi

melibatkan tiga langkah berbeda. Pertama, pembentukan lapisan atau pelikel yang didapat pada email gigi. Kedua, perlekatan sel bakteri ke permukaan. Ketiga, interaksi antar sel bakteri yang menyerang dan bakteri asli dari daerah perlekatan (Yoshida and Kuramitsu, 2002). Biofilm adalah hasil dari sesil yang melekat pada suatu permukaan, dan pembentukannya terjadi sebagai respons terhadap berbagai isyarat lingkungan (Microbewiki, 2014).

Ketika makanan yang mengandung karbohidrat dikonsumsi, *S. mutans* berinteraksi dengannya dan menghasilkan asam yang menyebabkan hilangnya mineral pada gigi. Rongga gigi adalah hasil dari kehilangan mineral ini dan pada akhirnya dapat merusak seluruh gigi. Kerusakan gigi dapat menyebar ke dalam mulut, dan dapat menyebabkan rasa sakit yang luar biasa dengan kesulitan mengunyah. Beberapa infeksi yang disebabkan oleh *S. mutans* bahkan dapat mengakibatkan kematian pada kasus yang ekstrim (Microbewiki, 2014).

Beberapa faktor virulensi *S. mutans* ditemukan yang membedakan strain *S. mutans* dari streptokokus oral lain yang diisolasi dari rongga mulut manusia. Pertama, *S. mutans* mampu mensintesis glukan perekat yang tidak larut dari sukrosa. Kedua, *S. mutans* memiliki toleransi asam yang relatif lebih tinggi. Ketiga, *S. mutans* memiliki produksi asam laktat yang cepat yang berasal dari glukosan makanan. Selain itu, sejumlah gen yang mempengaruhi virulensi ditemukan. Gen ini termasuk gen gtfB, gtfC, dan gtfD yang mengkode glukosiltransferase, gen gbpA dan gbpC yang

mengkode protein pengikat glukan, spaP yang mengekspresikan adhesi permukaan sel, dan gen glgR yang terlibat dalam penyimpanan polisakarida intraseluler. Selain itu, sejumlah gen lain yang telah terbukti mempengaruhi sifat virulensi potensial secara in vitro juga dikarakterisasi, termasuk beberapa yang terlibat dalam respons stres *S. mutans*. Gen-gen tersebut adalah ffh, dgk, gbpB, dan gen endonuklease apurinik-apyrimidinik (Fischetti *et al.,* 2006).

II.3 Metode Pengujian Antibakteri

II.3.1 Metode Difusi Agar

Metode difusi agar adalah metode yang dikembangkan pada tahun 1940 (Heatley, 1943), merupakan metode resmi yang digunakan di banyak laboratorium mikrobiologi klinis untuk pengujian kerentanan antimikroba. Dalam prosedurnya, pelat agar-agar diinokulasi dengan inokulum standar dari mikroorganisme uji. Lalu, cakram kertas (berdiameter sekitar 6 mm), berisi senyawa uji pada konsentrasi yang diinginkan, ditempatkan pada permukaan agar-agar. Cawan Petri diinkubasi dalam kondisi yang sesuai. Umumnya, agen antimikroba berdifusi ke dalam agar dan menghambat pertumbuhan mikroorganisme uji dan kemudian diameter zona pertumbuhan hambatan diukur (Balouiri *et al.,* 2016).

Metode difusi agar menawarkan banyak keunggulan dibandingkan metode lain: sederhana, biaya rendah, kemampuan untuk menguji jumlah mikroorganisme dan agen antimikroba yang besar, dan kemudahan untuk menafsirkan hasil yang diberikan. Selain itu beberapa penelitian

menunjukkan hasil yang baik pada pasien yang menderita infeksi bakteri dari antibiotik berdasarkan antibiogram agen penyebab (Kreger *et al.,* 1980). Fakta ini karena korelasi yang baik antara data in vitro dan in vivo (Caron, 2012).

II.3.2 Metode Dilusi

Metode paling populer yang digunakan untuk pengukuran aktivitas antimikroba dari ekstrak adalah metode difusi agar (difusi cakram atau difusi sumur) dan metode pengenceran (pengenceran agar dan mikrodilusi) (Kalemba and Kunicka, 2005; Mann and Markham, 1998; Tan and Lim, 2015). Namun, metode difusi agar terbatas pada pembuatan data kualitatif pendahuluan saja karena komponen minyak esensial dan ekstrak tumbuhan tidak berdifusi dengan baik di media agar (Golus *et al.,* 2016).

Metode dilusi memungkinkan penilaian kuantitatif antimikroba dengan menentukan konsentrasi terendah agen yang mampu menghambat pertumbuhan organisme yang diuji, yang digambarkan sebagai konsentrasi penghambatan minimum (MIC). Dalam mikrodilusi, baik metode makro dan mikrodilusi memiliki efektivitas yang sama. Namun karena penggunaan jumlah media, reagen dan agen yang diuji lebih kecil, metode mikrodilusi memiliki keuntungan berupa lebih ekonomis dan lebih mudah dibandingkan metode makrodilusi. Dengan demikian hal ini menjadikan metode mikrodilusi lebih praktis dan populer dalam pengujian konvensional agen antimikroba (Jorgensen and Ferraro, 2009; Wiegand *et al.,* 2008).