



**POTENSI EKSTRAK DAUN KATUK (*Sauropus androgynus* (L).
Merr.) TERHADAP AKTIVITAS MIKROBISIDA SEL
NEUTROFIL YANG DIPAPAR *Streptococcus mutans***

SKRIPSI

Oleh:

**Maulida Nusantari
NIM 111610101035**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER**

2015



**POTENSI EKSTRAK DAUN KATUK (*Sauropus androgynus* (L).
Merr.) TERHADAP AKTIVITAS MIKROBISIDA SEL
NEUTROFIL YANG DIPAPAR *Streptococcus mutans***

SKRIPSI

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan
Program Studi Kedokteran Gigi (S1) dan mencapai gelar
Sarjana Kedokteran Gigi

Oleh:

Maulida Nusantari
NIM 111610101035

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2015

PERSEMBAHAN

Dengan penuh rasa syukur, skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Allah SWT dan Nabi Muhammad SAW, atas segala rahmat dan karunia yang begitu besar, sehingga saya mampu menyelesaikan skripsi ini. Semoga skripsi ini menjadi suatu ibadah
2. Kedua orang tuaku, Bapak Sumarlan dan Ibu Sunarti, atas segala do'a dan dukungan yang selalu menyertai disetiap langkah, serta kasih sayang yang selalu dicurahkan.
3. Kakak-kakakku, yang selalu mendo'akan dan memberi semangat
4. Keponakanku tersayang Chelsy dan Arsen yang selalu menjadi perekah senyuman dan penyemangat.
5. Guru-guruku tercinta sejak taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi.
6. Almamaterku tercinta Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang selalu aku banggakan.

MOTTO

Menuntut ilmu adalah takwa, menyampaikan ilmu adalah ibadah, mengulang-ulang ilmu adalah dzikir dan mencari ilmu adalah jihat (*Imam Al Gazali*).

Jangan pernah mengeluh, karena mengeluh itu ibarat beban yang menghalangi langkah kita. Teruslah berusaha dan bersabar, maka kau pasti akan mendapatkan hasil terbaik (*Muhammad Noor Fitriansyah*).

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Maulida Nusantari

NIM : 111610101035

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Potensi Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L). Merr.) terhadap Aktivitas Mikrobisida Sel Neutrofil yang Dipapar *Streptococcus mutans*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung.

Demikian pernyataan ini saya buat, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 9 April 2015

Yang menyatakan,

Maulida Nusantari

111610101035

SKRIPSI

**POTENSI EKSTRAK DAUN KATUK (*Sauropus androgynus (L). Merr.*)
TERHADAP AKTIVITAS MIKROBISIDA SEL NEUTROFIL YANG
DIPAPAR *Streptococcus mutans***

Oleh

MAULIDA NUSANTARI
NIM : 111610101035

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : Dr. drg. Purwanto, M.Kes
Dosen Pembimbing Pendamping : Dr. drg. Sri Hernawati, M.Kes

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “POTENSI EKSTRAK DAUN KATUK (*Sauropus androgynus* (L). Merr.) TERHADAP AKTIVITAS MIKROBISIDA SEL NEUTROFIL YANG DIPAPAR *Streptococcus mutans*”, telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada :

Hari, tanggal : Kamis, 9 April 2015

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Ketua,

Penguji Anggota,

drg. Depi Praharani, M.Kes

NIP. 196801221997022001

drg. Pujiana Endah Lestari, M.Kes

NIP. 197608092005012002

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

Dr. drg. Purwanto, M.Kes

NIP. 195710241986031002

Dr. drg. Sri Hernawati, M.Kes

NIP. 197007052003122001

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Kedokteran Gigi,
Universitas Jember,

drg. Hj. Herniyati, M.Kes

NIP. 195909061985032001

RINGKASAN

Potensi Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) terhadap Aktivitas Mikrobisida Sel Neutrofil yang Dipapar *Streptococcus mutans*; Maulida Nusantari, 111610101035; 2014; 75 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Perawatan serta pengobatan pilihan dengan menggunakan tanaman obat di Indonesia saat ini lebih digalakkan baik pada bidang kedokteran maupun kedokteran gigi. Sejak dahulu, masyarakat kita percaya bahwa penggunaan bahan alam mampu mengobati berbagai macam penyakit dan jarang menimbulkan efek samping yang merugikan dibanding dengan obat yang terbuat dari bahan sintetis. Sehingga diperlukan adanya penelitian mengenai pemanfaatan bahan herbal sebagai alternatif. Salah satu tanaman yang telah diketahui memiliki kandungan yang bermanfaat bagi kesehatan daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.).

Ekstrak daun katuk memiliki berbagai kandungan zat aktif yang bermanfaat bagi tubuh seperti flavonoid, tanin, alkaloid, saponin, serta vitamin C yang memiliki kemampuan sebagai antibakteri dan antioksidan. *Streptococcus mutans* merupakan bakteri yang memiliki peranan dalam proses terjadinya karies, jika lesi ini terus berlanjut dapat menyebabkan pulpitis. Bakteri ini mudah masuk ke dalam aliran darah, dapat menyebabkan plak aterosklerotik dan penyakit aterotrombotik. Adanya bakteri yang masuk pada pulpa merupakan salah satu penyebab terjadinya inflamasi. Neutrofil merupakan sel pertahanan tubuh yang pertama kali mengatasi adanya antigen melalui proses fagositosis. Tujuan penelitian ini adalah membuktikan potensi ekstrak daun katuk dalam meningkatkan aktivitas mikrobisida sel neutrofil yang dipapar *S. mutans* dan mengetahui konsentrasi ekstrak daun katuk yang efektif terhadap aktivitas mikrobisida sel neutrofil yang dipapar *S. mutans*.

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris *in vitro*, dengan rancangan penelitian *the post test only control group design*. Besar sampel yang digunakan pada

masing-masing kelompok adalah 4 sampel di setiap 7 kelompok perlakuan, yaitu kelompok I (kontrol positif yang diinkubasi dengan *penstrep*, kelompok II (kontrol negatif, tidak diinkubasi ekstrak), kelompok III (diinkubasi dengan ekstrak 100%), kelompok IV (diinkubasi dengan ekstrak 75%), kelompok V (diinkubasi dengan ekstrak 50%), kelompok VI (diinkubasi dengan ekstrak 25%), dan kelompok VII (ekstrak 100% dan *S. mutans*). Kemudian dilakukan subkultur pada media BHI-A dan diinkubasi selama 24 jam. Setelah itu dilakukan penghitungan koloni menggunakan *colony counter*.

Data yang diperoleh selanjutnya dilakukan analisis data, dilakukan uji normalitas dengan menggunakan uji *Kolmogorov smirnov* dan hasilnya data berdistribusi normal. Kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas menggunakan uji *Levene*, hasilnya data tersebut homogen. Data yang berdistribusi normal dan homogen selanjutnya dilakukan uji *Oneway annova* untuk mengetahui perbedaan yang bermakna, dan uji *LSD* untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan antar kelompok perlakuan. Data hasil penelitian diketahui normal dan homogen, serta memiliki perbedaan yang bermakna antar tiap kelompok. Selanjutnya diuji dengan uji korelasi *Pearson* dan uji Regresi linier sederhana dan didapatkan hasil bahwa terdapat hubungan yang sangat erat antara pemberian ekstrak daun terhadap penurunan koloni *S. mutans*, dimana semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun katuk maka terjadi penurunan jumlah koloni *S. mutans*. Seluruh uji statistik yang digunakan menggunakan derajat kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$).

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat ditarik kesimpulan bahwa ekstrak daun katuk dapat meningkatkan aktivitas mikrobisida sel neutrofil yang dipapar *S. mutans*. Konsentrasi yang paling efektif untuk meningkatkan aktivitas mikrobisida sel neutrofil adalah ekstrak daun katuk 100%.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan segala rahmat dan karunia-Nya sehingga skripsi yang berjudul “Potensi ekstrak daun katuk (*Sauropus androgynus* (L). Merr.) terhadap Aktivitas Mikrobisida Sel Neutrofil yang Dipapar *Streptococcus mutans*” dapat terselesaikan. Skripsi ini disusun untuk memenuhi persyaratan memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Gigi pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan, bimbingan, dan dukungan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih kepada :

1. Dr. drg. Purwanto, M.Kes. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Dr. drg. Sri Hernawati, M.Kes. selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah bersedia meluangkan waktu, pikiran, motivasi dan perhatiannya dalam penulisan skripsi ini. Terimakasih atas kesabaran dan bimbingannya selama penyusunan skripsi ini.
2. drg. Depi Praharani, M.Kes. selaku Dosen Penguji Ketua dan drg. Pujiana Endah Lestari, M.Kes. selaku Dosen Penguji Anggota yang telah memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun. Terimakasih telah meluangkan waktu, pikiran, dan bimbingannya.
3. Seluruh staff dan teknisi Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium *Bioscience* Rumah Sakit Gigi dan Mulut Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, terimakasih atas segala bantuannya.
4. Moh. Harish, terimakasih telah bersedia menjadi subyek dalam penelitian.
5. Kedua orang tuaku, Ayahanda Sumarlan Jamaah dan Ibunda Sunarti terimakasih atas do’a, kasih sayang, dukungan dan motivasi, serta kesabaran tiada batas untukku selama ini.

6. Kakak-kakakku, Irawan Elfin Rahardi, Renanda Lazuardi, dan Gusti Dewi Irma Andina, yang dengan tulus selalu memberikan do'a, semangat dan kasih sayang.
7. Keponakanku tersayang Chelsy Rezky Amanda dan M. Arsenio Zwageri yang selalu menjadi penyemangat, pelipur lara, dan penghibur dalam kejenuhan.
8. Muhammad Noor Fitriansyah, terimakasih atas segala perhatian, bantuan, kesabaran dan motivasinya, meskipun dari kejauhan.
9. Teman-teman seperjuangan, Mbak Lila, Dheka, Lita, Aulia, Cicik, Betty, Icha dan Heni yang telah mendukung, menemani dan menolong dalam penyelesaian skripsi ini.
10. Teman-teman FKG 2011, terimakasih atas dukungan dan kebersamaannya selama ini dan juga semua pihak yang telah membantu kelancaran penyusunan skripsi ini, yang tidak bisa disebutkan satu-persatu.

Penulis juga menyadari masih banyak kekurangan dan ketidaksempurnaan dalam penulisan skripsi ini. Untuk itu, kritik dan saran yang membangun dari semua pihak sangat diharapkan demi perbaikan skripsi ini. Akhirnya, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 9 April 2015

Penulis

DAFTAR ISI

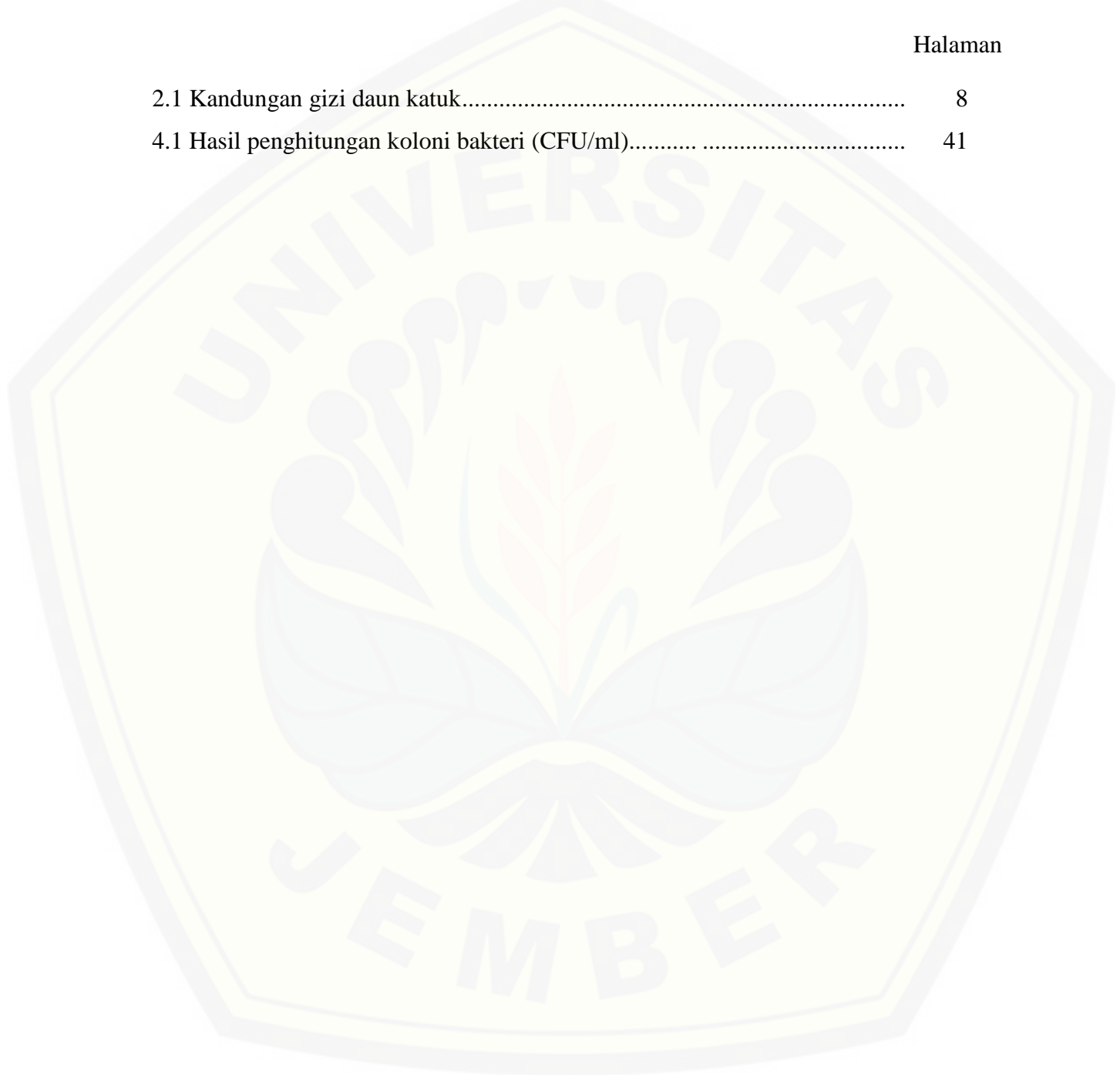
	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tanaman Katuk (<i>Sauropus androgynus (L.) Merr.</i>)	5
2.1.1 Taksonomi Tanaman Katuk	5
2.1.2 Morfologi Tanaman Katuk	5
2.1.3 Manfaat Tanaman Katuk	7
2.1.4 Kandungan Daun Katuk	8
2.2 Antioksidan	14
2.3 <i>Streptococcus mutans</i>	16

2.3.1 Taksonomi <i>S. mutans</i>	15
2.3.2 Morfologi <i>S. mutans</i>	17
2.3.3 Habitat <i>S. mutans</i>	18
2.3.4 <i>S. mutans</i> pada Karies Gigi.....	18
2.4 Neutrofil	20
2.4.1 Morfologi Neutrofil	20
2.4.2 Fungsi Neutrofil	21
2.4.3 Aktivitas Mikrobisida Sel Neutrofil dalam Imunitas Tubuh ...	22
2.5 Hipotesis	24
2.6 Kerangka Konsep	25
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	26
3.1 Jenis Penelitian	26
3.2 Rancangan Penelitian	26
3.3 Waktu dan Tempat Penelitian	26
3.3.1 Waktu Penelitian	26
3.3.2 Tempat Penelitian	26
3.4 Identifikasi Variabel Penelitian	27
3.4.1 Variabel Bebas.....	27
3.4.2 Variabel Terikat.....	27
3.4.3 Variabel Terkendali	27
3.5 Definisi Operasional	27
3.5.1 Ekstrak Daun Katuk	27
3.5.2 <i>S. mutans</i>	27
3.5.3 Neutrofil	28
3.5.4 Aktivitas Mikrobisida.....	28
3.6 Sampel Penelitian	28
3.6.1 Kriteria Sampel.....	28
3.6.2 Jumlah Sampel.....	29
3.6.3 Kriteria Penggolongan Sampel.....	29

3.7 Alat dan Bahan Penelitian	30
3.7.1 Alat Penelitian	30
3.7.2 Bahan Penelitian	30
3.8 Prosedur Penelitian	31
3.8.1 Tahap Persiapan.....	31
3.8.2 Prosedur Uji Mikrobisida Sel Neutrofil.....	35
3.9 Analisis Data	37
3.10 Alur penelitian	38
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	39
4.1 Hasil Subkultur <i>S. mutans</i>	39
4.2 Hasil Isolasi Neutrofil	40
4.3 Hasil Uji Aktivitas Mikrobisida	40
4.4 Analisis Data	42
4.5 Pembahasan	43
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	48
5.1 Kesimpulan	48
5.2 Saran	48
DAFTAR PUSTAKA	49
LAMPIRAN	54

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Kandungan gizi daun katuk.....	8
4.1 Hasil penghitungan koloni bakteri (CFU/ml).....	41



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1. Foto morfologi daun katuk (<i>Sauropus androgynus</i> (L.) Merr.).....	6
2.2. Morfologi <i>S. mutans</i> terlihat berbentuk kokus dan formasi rantai panjang.....	17
2.3. Empat faktor etiologi karies.....	19
2.4. Gambaran mikroskopis neutrofil.....	21
2.5 Kerangka Konsep.....	25
4.1 Sediaan <i>S. mutans</i>	39
4.2 Gambar mikroskopis neutrofi dengan menggunakan mikroskop <i>Inverted</i>	40
4.3 Histogram rata-rata jumlah koloni <i>S. mutans</i> setelah diberikan perlakuan	42

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Hasil Analisis Data.....	54
B. Foto Alat dan Bahan Penelitian.....	59
C. Surat Keterangan Determinasi Tanaman Katuk.....	65
D. Surat Keterangan Prosedur Ekstraksi Tanaman Katuk.....	66
E. Surat Keterangan Data Hasil Ekstrak.....	67
F. Surat Keterangan Identifikasi Bakteri.....	68
G. Surat Keterangan Sertifikat Bakteri.....	69
H. Surat Pernyataan (<i>Informed Consent</i>).....	70
I. Dokumentasi Saat Penelitian.....	71
J. Foto Hasil Penelitian.....	73

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pemanfaatan bahan alam dalam bidang kesehatan telah lama digunakan untuk keperluan preventif, kuratif, dan rehabilitatif. Perawatan serta pengobatan pilihan dengan menggunakan tanaman obat di Indonesia saat ini lebih digalakkan baik pada bidang kedokteran maupun kedokteran gigi. Sejak dahulu, masyarakat kita percaya bahwa penggunaan bahan alam mampu mengobati berbagai macam penyakit dan jarang menimbulkan efek samping yang merugikan dibanding dengan obat yang terbuat dari bahan sintetis. Indonesia dikenal dengan keanekaragaman hayati, sehingga diperlukan penelusuran lebih mendalam mengenai penggunaan tanam dalam pengobatan (Purnamasari *et al.*, 2010).

Penggunaan obat antibiotik yang apabila digunakan tidak sesuai dengan aturan, dapat menimbulkan terjadinya resistensi dan berbagai macam reaksi antara lain; hipersensitifitas, kerusakan sel-sel darah, keracunan obat, kerusakan ginjal (gagal ginjal) dan kerusakan sel-sel saraf. Perkembangan resistensi obat dalam populasi mikroba, dapat menyebabkan terjadinya perubahan flora normal rongga mulut dan dapat mengakibatkan terjadinya infeksi (Jawetz, 2005). Resistensi bakteri akibat pemakaian antibiotik menyebabkan penyakit sulit diobati, untuk itu diperlu- kannya penelitian mencari obat alternatif pengganti antibiotik, seperti antimikroba pada tanaman herbal. Saat ini bidang kedokteran gigi sering memanfaatkan bahan alam sebagai material klinis (Purnamasari *et al.*, 2010).

Tanaman katuk (*Sauropus androgynus (L). Merr.*) merupakan tanaman yang banyak dikenal oleh masyarakat di negara Asia Barat dan Asia Tenggara, termasuk

Indonesia. Masyarakat telah mengenal daun katuk hanya digunakan sebagai sayuran yang dipercaya memiliki khasiat untuk melancarkan air susu ibu (ASI). Pemanfaatan daun katuk yang masih terbatas ini sangat disayangkan, karena daun katuk memiliki berbagai kandungan yang bermanfaat. Hasil penelitian Kelompok Kerja Nasional Tumbuhan Obat Indonesia menunjukkan bahwa tanaman katuk mengandung beberapa senyawa kimia, antara lain alkaloid, protein, lemak vitamin, mineral, saponin, flavonoid, dan tanin. Beberapa senyawa kimia yang terdapat dalam tanaman katuk diketahui sebagai obat (Rukmana dan Harahap, 2003).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Zuhra (2008) diketahui bahwa kandungan flavonoid pada daun katuk juga terbukti memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Selain mengandung flavonoid, daun katuk juga mengandung vitamin C yang tinggi dan juga merupakan senyawa antioksidan yang mampu menghilangkan senyawa oksigen reaktif yang terbentuk pada saat proses pencernaan berlangsung dalam proses fagositosis yang dilakukan oleh sel neutrofil dan monosit. Antioksidan juga mampu mengurangi kapasitas radikal bebas yang dapat menimbulkan kerusakan sel. Sel akan dapat bertahan lebih lama dari proses kerusakan dan kematian, sehingga dapat memaksimalkan kinerja dari makrofag dan neutrofil dalam memfagositosis bakteri atau partikel asing (Mardawati, 2008). Karena antioksidan merupakan golongan senyawa yang dapat melindungi tubuh dari radikal bebas dan dapat meningkatkan kinerja dari sistem imun, maka golongan antioksidan termasuk kedalam golongan senyawa imunostimulator (Ainsyah, 2015). Selain itu, hasil penelitian Khalasha (2013) menemukan bahwa ekstrak daun katuk efektif sebagai antibakteri terhadap *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) (Joniada, 2011; Khalasha, 2013; Zuhra *et al.*, 2008).

Salah satu faktor penyebab inflamasi di dalam rongga mulut adalah bakteri. *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) merupakan bakteri anaerob fakultatif Gram positif yang berperan dalam memfermentasikan sakarida menjadi asam sehingga disebut juga sebagai bakteri kariogenik yang berperan penting dalam proses terjadinya karies

(Yendriwati, 2008; Jawetz *et al.*, 2005). *S. mutans* merupakan bakteri oral yang paling sering ditemukan di dalam darah. Dalam beberapa kasus *S. mutans* dapat menyebabkan plak aterosklerotik dan penyakit aterosklerotik oleh karena memiliki akses dan mudah berinvasi ke sistem sirkulasi darah, mampu hidup dan menetap di jaringan plak aterosklerotik (Purwanto, 2010). Masuknya mikroorganisme dalam tubuh akan mengaktifkan sistem pertahanan di dalam tubuh (Guyton dan Hall, 2007).

Tubuh manusia telah dilengkapi dengan sistem imun yang memiliki kemampuan berupa sistem pertahanan spesifik dan nonspesifik (misalnya fagositosis) yang dilakukan oleh sel-sel dan jaringan limfoid. Masuknya kuman ke dalam tubuh seseorang akan mengaktifkan sel neutrofil sebagai usaha pertahanan pertama (Admadi, 2007). Neutrofil merupakan sel pertahanan tubuh non spesifik yang pertama kali mengatasi adanya antigen melalui proses fagositosis yang terdiri dari proses penelanan dan pencernaan mikroorganisme serta toksin setelah berhasil menembus tubuh (Junquera, 2007). Proses ini akan melalui beberapa tahap yaitu migrasi, penelanan, degranulasi dan mikrobisida (*interseluler killing*) (Revilla, 2008).

Kemampuan mikrobisida neutrofil dalam sistem kekebalan tubuh sangatlah penting. Daya mikrobisida neutrofil dapat ditingkatkan dengan bahan tertentu. Bahan tersebut dapat berupa obat-obatan, bahan kimia atau bahan dari alam. Ekstrak daun katuk merupakan salah satu bahan alam yang secara empiris berguna sebagai obat (Azzahra, 2014; Khalasha, 2013).

Berdasarkan uraian di atas, penulis ingin mengetahui pengaruh ekstrak daun katuk terhadap aktivitas mikrobisida sel neutrofil yang dipapar *S. mutans* dalam berbagai konsentrasi, yaitu 25%, 50%, 75%, 100%.

1.2 Rumusan Masalah

1.2.1 Apakah ekstrak daun katuk dapat mempengaruhi aktivitas mikrobisida sel neutrofil yang dipapar *S. mutans*?

- 1.2.2 Berapakah konsentrasi ekstrak daun katuk yang efektif terhadap aktivitas mikrobisida sel neutrofil yang dipapar *S. mutans*?

1.3 Tujuan Penelitian

- 1.3.1 Membuktikan potensi ekstrak daun katuk dalam mempengaruhi aktivitas mikrobisida sel neutrofil yang dipapar *S. mutans*.
- 1.3.2 Mengetahui konsentrasi ekstrak daun katuk yang efektif terhadap aktivitas mikrobisida sel neutrofil yang dipapar *S. mutans*.

1.4 Manfaat Penelitian

- 1.4.1 Menginformasikan kepada masyarakat tentang khasiat daun katuk yang bermanfaat bagi kesehatan.
- 1.4.2 Dapat digunakan sebagai literatur bagi penelitian selanjutnya, apabila dalam penelitian ini terbukti menunjukkan ekstrak daun katuk ikut berperan dalam meningkatkan aktivitas mikrobisida sel neutrofil yang dipapar oleh *S. mutans*.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.)

2.1.1 Taksonomi Tanaman Katuk

Dalam sistematika (taksonomi) tumbuhan, kedudukan tanaman katuk dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Rukmana dan Harahap, 2003) :

<i>Kingdom</i>	: <i>Plantae</i> (tumbuh-tumbuhan)
<i>Divisi</i>	: <i>Spermatophyta</i> (tumbuhan berbiji)
<i>Subdivisi</i>	: <i>Angiospermae</i> (berbiji tertutup)
<i>Kelas</i>	: <i>Dicotyledonae</i> (biji berkeping dua)
<i>Ordo</i>	: <i>Euphorbiales</i>
<i>Famili</i>	: <i>Euphorbiaceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Sauropus</i>
<i>Spesies</i>	: <i>Sauropus androgynus</i> (L.) Merr.

2.1.2 Morfologi Tanaman Katuk

Tanaman katuk merupakan tanaman yang telah lama dikenal masyarakat di negara Asia Barat dan Asia Tenggara termasuk Indonesia. Tanaman katuk mempunyai beberapa nama daerah antara lain, simami (Minangkabau), cekop manis atau me-mata (Melayu), katuk (Sunda), kebing dan katukan (Jawa), karekur (Madura). Sedangkan di Bali tanaman katuk disebut kayu manis. Terdapat di berbagai daerah di India, Malaysia, dan Indonesia (Rukmana dan Harahap 2003; Azis, 2006).

Tanaman katuk tumbuh menahun (perennial), berbentuk semak perdu dengan ketinggian antara 2,5m – 5m, dan merumpun. Susunan morfologi tanaman katuk

terdiri atas akar, batang daun, bunga, buah, dan biji. Sistem perakaran tanaman katuk menyebar ke segala arah dan dapat mencapai kedalaman antara 30cm – 50cm. Batang tanaman tumbuh tegak dan berkayu. Batang tanaman katuk berwarna hijau pada saat stadium muda, dan berubah warna menjadi kelabu keputih-putihan setelah tua. Tanaman katuk mempunyai daun majemuk genap, berukuran kecil, berbentuk bulat seperti daun kelor, dan tersusun dalam tangkai daun. Anak daun berbentuk bulat telur dengan ujung lancip, struktur tipis dengan pangkal tumpul, dan bagian tepi rata. Permukaan atas daun berwarna hijau gelap, sedangkan permukaan bawah daun berwarna hijau muda. Tanaman katuk berbunga sepanjang tahun. Bunga tanaman berukuran kecil, berwarna merah gelap sampai kekuning-kuningan dengan bintik-bintik merah gelap, serta mempunyai kelopak bunga yang keras dan berwarna putih kemerah-merahan. Buah katuk berbentuk bulat, berukuran kecil seperti kancing, berwarna putih, dan didalamnya terdapat tiga butir biji (Rukmana dan Harahap, 2003). Morfologi tanaman katuk dapat lebih jelas dilihat pada gambar berikut (Gambar 2.1).



Gambar 2.1. Foto morfologi daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) (Elly, 2015).

Sampai saat ini, plasma nutfah tanaman katuk yang tumbuh di alam belum dikarakterisasi menurut jenis dan varietas. Namun, dilapangan dikenal dua jenis

katuk, yaitu katuk hijau dan katuk merah. Katuk hijau disebut juga katuk baster. Jenis katuk ini produktif menghasilkan daun berwarna hijau. Jenis katuk ini yang biasanya dibudidayakan oleh masyarakat. Sedangkan katuk merah kurang produktif dalam menghasilkan daun dan memiliki daun-daun yang berwarna hijau kemerah-merahan. Jenis katuk ini tumbuh secara liar di daerah hutan atau ditanam sebagai tanaman hias (Rukmana dan Harahap, 2003).

2.1.3 Manfaat Tanaman Katuk (*Sauropus anrogynus* (L.) Merr.)

Tanaman katuk memiliki banyak manfaat dalam kehidupan sehari-hari sehingga dapat dikatakan bersifat multi-manfaat. Beberapa manfaat tanaman katuk salah satunya sebagai sumber gizi. Produk utama tanaman katuk berupa daun yang masih muda (pucuk) sangat potensial sebagai sumber gizi. Daun katuk memiliki kandungan gizi yang setara dengan daun singkong, daun pepaya, dan sayuran lainnya (Rukmana dan Harahap, 2003)

Salah satu khasiat tanaman katuk yang telah diketahui masyarakat ialah untuk memperlancar Air Susu Ibu (ASI) atau lebih dikenal sebagai laktogogum, yaitu dengan cara mengkonsumsi sebagai sayuran atau lalapan. Dalam perkembangan selanjutnya, dibuat ekstrak daun katuk dalam bentuk pil bulat sebesar kelereng kecil agar penggunaannya lebih praktis sebagai obat untuk melancarkan ASI. Penelitian yang dilakukan oleh Muchsin Darise dan Sulaiman mengatakan bahwa ekstrak daun katuk mengandung zat penghambat pertumbuhan bakteri. Diantaranya yaitu, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhosa*, dan *Eschericia coli*. Salah satu dari bakteri tersebut merupakan penyebab borok, sehingga ekstrak daun katuk dapat digunakan sebagai obat borok (Rukmana dan Harahap, 2003). Selain sebagai penambah ASI, daun katuk juga bisa digunakan sebagai obat tradisional yang dapat mengobati bisul, borok, koreng, demam, air susu kurang lancar, dan darah kotor. Sedangkan akarnya berkhasiat sebagai obat frambusia, susah kencing, dan untuk menurunkan panas. Dapat juga sebagai bahan pewarna makanan yang membutuhkan warna hijau seperti

kelepon dan tape ketan (Wiradimadja *et al.*, 2006). Menurut hasil penelitian Khalasha, 2013 diketahui bahwa ekstrak daun katuk memiliki aktifitas antibakteri terhadap *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)* dan dapat menghambat serta membunuh bakteri secara *in vitro* (Khalasha *et al.*, 2013).

2.1.4 Kandungan Daun Katuk (*Sauropus androgynus (L.) Merr.*)

Daun katuk memiliki kandungan gizi yang tinggi, dan biasanya dikonsumsi sebagai sayur ataupun lalapan dalam menu sehari-hari. Serta peranannya yang diketahui untuk melancarkan ASI karena mengandung beberapa senyawa asam seskuiterpena (Rukmana dan Harahap, 2003). Dapat diketahui komposisi nutrisi dari daun katuk per 100 gram-nya, yang dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 2.1 Kandungan gizi daun katuk (dalam 100 gram bahan segar)

Kandungan	Jumlah
Kalori (kal.)	59,00
Protein (g)	4,80
Lemak (g)	1,00
Karohidrat (g)	11,00
Kalsium (mg)	204,00
Fosfor (mg)	3,00
Zat Besi (mg)	2,70
Vitamin A (SI)	10.370,00
Vitamin B-1 (mg)	0,10
Vitamin C (mg)	239,00
Air (g)	81,00
Bagian dapat dimakan (%)	40,00

Sumber: Rukmana dan Harahap (2003).

Salah satu cara mengembangkan penggunaan obat tradisional adalah dengan mengetahui terlebih dahulu komponen-komponen kimia aktif apa saja yang terdapat

di dalamnya. Hasil Penelitian Kelompok Kerja Nasional Tumbuhan Obat Indonesia menunjukkan bahwa tanaman katuk mengandung beberapa senyawa kimia antara lain alkaloid, protein, lemak, vitamin, mineral, saponin, flavonoid, dan tanin (Rukmana dan Harahap, 2003). Daun katuk juga mengandung vitamin C yang cukup tinggi, yakni 239mg/100 gram, dimana kandungan vitamin C diketahui memiliki manfaat sebagai antioksidan alami. Berikut beberapa senyawa kimia yang dimiliki daun katuk yang diduga dapat meningkatkan aktivitas mikrobisida sel neutrofil.

a. Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa basa atau interosiklik yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen. Alkaloid dapat ditemukan dalam setiap bagian tumbuhan seperti biji, daun, ranting dan kulit batang, dan sering digunakan sebagai bahan obat-obatan. Pada umumnya senyawa ini tidak berwarna, kebanyakan berbentuk kristal, dan berbentuk cair pada suhu kamar (Siregar, 2007; Anita, 2011). Alkaloid dapat digunakan sebagai bahan obat antimalaria, antihipertensi, antitumor dan antioksidan. Umumnya ditemukan dalam kadar yang kecil dan harus dipisahkan dari campuran senyawa yang rumit yang berasal dari jaringan tumbuhan (Siregar, 2007).

Alkaloid dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri dengan cara berikatan dengan protein pengikat non enzim yang mempunyai sifat mengikat suatu zat tertentu, protein ini dikenal dengan nama protein porin. Pada beberapa bakteri ikatan protein terdapat pada ruang periplasmik. Protein ini memiliki fungsi memindah substrat yang terikat dengannya kedalam membran transport protein yang sesuai. Protein porin inilah yang kemudian akan mengikat alkaloid, kemudian dibawa masuk oleh molekul pembawanya yang terikat pada membran sitoplasma bakteri. Karena berfungsi sebagai antibakteri, alkaloid akan merusak protein dan fosfolipid sel-sel membran bakteri (Anita, 2011).

Seharusnya 50% dari membran sitoplasma berada dalam keadaan cair, tetapi karena protein membran telah rusak akibat reaksi dengan alkaloid, menyebabkan terputusnya hubungan antara protein dengan fosfolipidnya dan terjadinya kebocoran

membran sitoplasma. Selain itu senyawa alkaloid dapat menginaktifkan enzim-enzim dan merusak asam amino dalam sel protein di membran sel. Padahal membran sitoplasma atau membran sel terdiri dari lipid dan enzim-enzim yang berfungsi sebagai aktivitas transport zat-zat yang dibutuhkan untuk kelangsungan hidup bakteri. Sel yang berada dalam kondisi tidak normal ini kemudian akan mengalami kerusakan pada membran selnya karena daya aktivitas alkaloid, maka selanjutnya akan berakibat pada terhambatnya pertumbuhan sel atau kematian sel (Anita, 2011; Jawetz, 1996).

b. Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam yang terbesar. Flavonoid terdapat dalam semua tumbuhan hijau, sehingga pasti ditemukan pada setiap telaah ekstrak tumbuhan. Flavonoid adalah senyawa yang ditemukan pada buah-buahan, sayuran, dan beberapa minuman yang memiliki beragam manfaat biokimia dan efek antioksidan. Flavonoid adalah golongan senyawa polifenol yang diketahui memiliki sifat sebagai penangkap radikal bebas, penghambat enzim hidrolisis dan oksidatif, serta bekerja sebagai antiinflamasi (Pourmourad, 2006). Kemampuan flavonoid sebagai antioksidan telah banyak diteliti, dimana flavonoid memiliki kemampuan untuk merubah atau mereduksi radikal bebas dan juga sebagai anti radikal bebas. Selain itu, flavonoid juga dapat meningkatkan kinerja dari sistem imun dalam meningkatkan proses fagositosis dengan bekerja terhadap limfokin yang dihasilkan oleh sel T yang akan merangsang sel-sel fagosit untuk melakukan respon fagositosis dan mampu menginduksi peningkatan IL-2 yang berperan dalam peningkatan proliferasi sel T, sehingga senyawa ini disebut juga sebagai imunostimulator (Ainsyah, 2015). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Zuhra (2008), diketahui bahwa ekstrak isolat fenolik daun katuk memiliki aktivitas antioksidan yang kuat (Zuhra *et al.*, 2008).

Diduga mekanisme kerja dari senyawa flavonoid adalah mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel mikroba sehingga tidak dapat diperbaiki lagi. Flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri,

mikrosom, dan lisosom, sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri. Jika hal ini terjadi pada membran sel maka akan mudah bagi substrat untuk masuk ke dalam membran sel dan menimbulkan plasmolisis struktur dalam membrannya dan bocornya metabolit penting seperti asam amino, asam nukleat dan lain-lain, sehingga terjadi kematian tingkat seluler (Anita, 2011).

Flavonoid juga mampu berikatan dengan ion kalsium (Ca^{2+}), sehingga kehilangan kemampuannya untuk mengangkut bahan-bahan terlarut ke dalam sitoplasma atau organel-organel sel. Tanpa kehadiran ion ini membran sel akan menjadi bocor, dimana bahan-bahan yang sudah diangkut ke dalam sitoplasma atau organel-organel akan merembes ke luar. Fungsi kalsium pada membran adalah mengikat bagian hidrofilik fosfolipid satu sama lain dengan gugusan dari molekul protein pada permukaan membran. Flavonoid juga dapat merusak sebagian membran sitoplasma yang menyebabkan bocornya metabolit penting dan menginaktifkan sejumlah sistem enzim bakteri.

Diketahui 8-10% membran sitoplasma merupakan bobot kering sel. Apabila terjadi pembengkakan membran sitoplasma akan menyebabkan terjadinya plasmolisis yang menyebabkan keluarnya cairan sitoplasma dan kebocoran nutrisi dari dalam sel bakteri. Kebocoran ini diawali dengan keluarnya berbagai komponen penting yaitu protein, asam nukleat dan lain-lain. Selain itu kerusakan pada membran sitoplasma juga dapat mencegah masuknya bahan-bahan penting ke dalam sel karena membran sitoplasma juga mengendalikan pengangkutan aktif ke dalam sel sehingga dapat menyebabkan kematian pada bakteri (Anita, 2011).

c. Saponin

Saponin merupakan salah satu senyawa glikosida dan sterol yang berfungsi sebagai senyawa aktif permukaan, selain itu kemampuannya bisa dideteksi dalam membentuk busa dan menghemolisis darah karena memiliki sifat seperti sabun (Pratiwi, 2007). Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dapat menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel. Saponin dapat menjadi antibakteri

karena zat aktif permukaannya mirip detergen, akibatnya saponin akan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran. Rusaknya membran sel ini sangat mengganggu kelangsungan hidup bakteri. Saponin berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan kemudian mengikat membran sitoplasma sehingga mengganggu dan mengurangi kestabilan membran sel. Hal ini menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel. Agen antimikroba yang mengganggu membran sitoplasma bersifat bakterisida (Rijayanti, 2014).

Di dalam makanan, fitokimia saponin memiliki spektrum yang luas terhadap aktivitasnya sebagai zat antijamur dan antibakteri, menurunkan kolesterol darah, dan lemak jenuh serta menghambat pertumbuhan sel kanker. Selain itu, saponin dapat juga bekerja dengan mengikat asam empedu dan kolesterol, sehingga diduga saponin memiliki kemampuan membersihkan lemak dari dalam tubuh dan mengurangi kadar kolesterol dalam darah. (Siregar, 2007).

d. Tanin

Tanin merupakan senyawa organik yang terdiri dari campuran senyawa polifenol kompleks, dibangun dari elemen C, H, dan O serta sering membentuk molekul besar dengan berat molekul lebih besar dari 2000 (Risnasari, 2001). Tanin biasanya ditemui di kulit kayu pada pohon, dan bertindak sebagai pertahanan yang melindungi pohon terhadap mikroorganisme seperti bakteri dan jamur (Nenden S. *et. al.*, 2007).

Polifenol yang terdiri dari tanin, flavonoid, dan asam fenolat merupakan komponen yang paling menonjol dalam kaitannya dengan aktivitas antimikroba. Tanin memiliki aktivitas antimikroba melalui mekanisme yang diperkirakan dengan merusak membran sel bakteri. Senyawa astringent tanin dapat menginduksi pembentukan kompleks senyawa ikatan terhadap enzim atau substrat mikroba dan pembentukan suatu kompleks ikatan tanin terhadap ion logam yang dapat menambah daya toksisitas tanin itu sendiri (Akiyama H, 2001). Diduga tanin memiliki efek yang sama dengan senyawa fenolik, sehingga memiliki daya antibakteri dengan cara mempresipitasi

protein. Tanin diduga dapat mengerutkan dinding sel atau membran sel, sehingga dapat mengganggu permeabilitas sel tersebut. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup yang dapat menghambat pertumbuhan atau bahkan kematian (Masduki, 1996). Selain itu, tannin juga dapat mempengaruhi aktivitas fisiologi manusia seperti sebagai antitumor, antiinfeksi dan juga dapat menstimulasi sel fagositosis untuk memaksimalkan kinerjanya sehingga dapat meningkatkan kinerja sistem imun. Hal ini yang membuat tanin termasuk dalam senyawa imunostimulator (Ainsyah, 2015).

e. Vitamin C

Vitamin C atau L-asam askorbat merupakan antioksidan yang larut dalam air (*aqueous antioxidant*). Senyawa ini merupakan salah satu senyawa imunostimulator karena merupakan bagian dari sistem pertahanan tubuh terhadap senyawa oksigen reaktif dalam plasma dan sel dan juga mampu meningkatkan kinerja sistem imun dalam tubuh. Sebagai antioksidan, vitamin C bekerja sebagai donor elektron, dengan cara memindahkan satu elektron kesenyawa logam Cu. Selain itu, vitamin C juga dapat menyumbangkan elektron kedalam reaksi biokimia intraseluler dan ekstraseluler.

Vitamin C berbentuk Kristal putih dengan berat molekul 176,13 dan rumus molekul $C_6H_8O_6$. Vitamin C juga mudah teroksidasi secara reversible membentuk asam dehidro-L-asam askorbat dan kehilangan dua atom hidrogen. Vitamin C mampu menghilangkan senyawa oksigen reaktif di dalam sel netrofil, monosit, protein lensa, dan retina. Di luar sel, vitamin C mampu menghilangkan senyawa oksigen reaktif, mencegah terjadinya LDL teroksidasi, mentransfer elektron ke dalam saluran pencernaan (Joniada, 2011).

Vitamin C dibutuhkan untuk fungsi kolagen sehingga mengurangi kekeriputan kulit dan menjaga kekebalan tubuh dari serangan infeksi dan alergi. Asam askorbat juga memiliki peran penting dalam berbagai proses fisiologis tanaman, termasuk pertumbuhan, diferensiasi, dan metabolismenya. Askorbat berperan sebagai reduktor un-

tuk berbagai radikal bebas. Selain itu juga meminimalkan terjadinya kerusakan yang disebabkan oleh stres oksidatif (Winarsi, 2007).

2.2 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa kimia yang dapat memberikan satu atau lebih elektron kepada senyawa radikal bebas, sehingga dapat menunda atau mencegah terbentuknya reaksi radikal bebas (peroksida) dalam oksidasi lipid, protein dan sel normal (Dalimartha dan Soedibyo, 1999). Radikal bebas yang terbentuk juga dapat dihasilkan oleh proses inflamasi yang disebabkan destruksi jaringan secara langsung akibat produk toksik oleh bakteri dan secara tidak langsung melalui sistem pertahanan *host*. Inflamasi merupakan respon protektif terlokasi yang distimulasi oleh cedera atau destruksi jaringan yang berfungsi untuk menghancurkan dan melarutkan atau memagari kedua agen cedera dan jaringan yang mengalami cedera. Pada saat inflamasi terjadi infiltrasi jaringan oleh leukosit polimorfonuklear (neutrofil) dan monosit. Neutrofil dan monosit akan melakukan fagositosis terhadap agen penyebab inflamasi. Saat fagositosis berlangsung akan terjadi lonjakan konsumsi O_2 hingga 10-20 kali lipat lebih besar dibandingkan konsumsi istirahat yang menyebabkan pembentukan radikal bebas dan spesies oksigen reaktif, seperti radikal anion superoksida, hidrogen peroksida, radikal hidroksil, dan asam hipoklorus yang mampu merusak membran sel. Disinilah antioksidan akan berperan, antioksidan akan mencegah terbentuknya radikal bebas yang baru dan mengurangi kapasitas radikal bebas yang dapat menimbulkan kerusakan sel. Sel akan dapat bertahan lebih lama dari proses kerusakan dan kematian, sehingga dapat memaksimalkan kinerja dari monosit dan neutrofil dalam memfagositosis agen penyebab inflamasi yang selanjutnya akan mengurangi terjadinya inflamasi (Mardawati, 2008).

Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi menjadi dua yaitu :

a. Antioksidan Endogen

Antioksidan endogen adalah jenis antioksidan yang dihasilkan oleh tubuh kita sendiri. Contoh dari antioksidan endogen antara lain Superoksida Dismutase (SOD), Katalase, dan Peroksidase. SOD bekerja dengan mengkatalisis radikal bebas superoksida (O_2^-) menjadi hydrogen peroksida (H_2O_2), sehingga SOD disebut sebagai *scavenger* atau pembersih superoksida (O_2^-). Katalase merupakan senyawa yang dapat mengkatalisis berbagai peroksida dan radikal bebas dan menghasilkan oksigen dan air. Peroksidase merupakan hemoprotein yang terdapat pada organism prokariotik dan eukariotik.

b. Antioksidan Eksogen

Antioksidan eksogen adalah jenis antioksidan yang bersumber dari luar tubuh kita. Tumbuhan memiliki banyak senyawa yang diketahui memiliki aktivitas sebagai antioksidan yang dapat bereaksi dengan radikal bebas sehingga senyawa radikal bebas menjadi lebih stabil. Senyawa polifenol diketahui memiliki aktivitas antioksidan seperti antosianin, flavonol, flavon, isoflavon, dan proantosianin. Beberapa polifenol diketahui bekerja dengan memutuskan ikatan rantai radikal bebas (Kumalningsih, 2007; Masella, 2005).

Menurut Trilaksani (2003) berdasarkan mekanismenya, antioksidan dapat dikelompokkan menjadi lima, yaitu:

1) Antioksidan Primer

Antioksidan primer adalah antioksidan yang berfungsi untuk mencegah terbentuknya radikal bebas baru, dengan mendonorkan atom hydrogen secara cepat pada suatu lipid yang radikal, produk yang dihasilkan lebih stabil dari produk inisial. Contoh antioksidan ini adalah flavonoid, tokoferol, senyawa thiol.

2) Antioksidan Sekunder

Antioksidan ini dapat menghilangkan penginisiasi oksigen maupun nitrogen radikal atau bereaksi dengan komponen atau enzim yang menginisiasi reaksi radikal antara lain dengan menghambat enzim pengoksidasi dan menginisiasi enzim pere-

duksi atau mereduksi oksigen tanpa membentuk spesies radikal yang reaktif. Contoh antioksidan sekunder adalah sulfit, vitamin C, betakaroten, asam urat, billirubin, dan albumin.

3) Antioksidan Tersier

Antioksidan tersier merupakan senyawa yang memperbaiki sel-sel jaringan yang rusak karena serangan radikal bebas. Yang termasuk kelompok antioksidan ini adalah metionin sulfoksidan reduktase yang dapat memperbaiki DNA dalam inti sel. Enzim tersebut bermanfaat untuk perbaikan DNA pada penderita kanker.

4) *Oxygen Scavenger*

Antioksidan ini bekerja dengan mengikat oksigen sehingga tidak mendukung oksidasi.

5) *Chelators/Sequesstrants*

Antioksidan ini bekerja dengan cara mengikat logam yang mampu mengkatalisis reaksi oksidasi seperti asam sitrat dan asam amino.

2.3 *Streptococcus mutans*

2.3.1 Taksonomi *S. mutans*

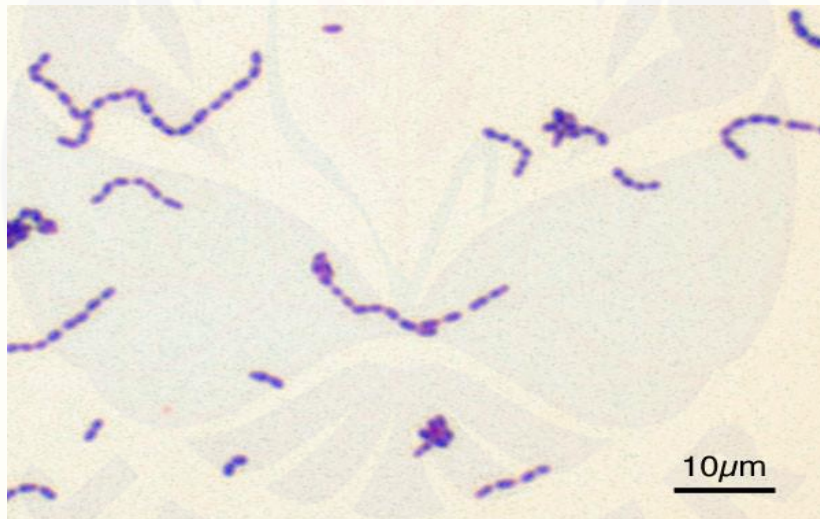
S. mutans termasuk dalam famili *Streptococcaceae* dan merupakan bakteri kariogenik dan merupakan penyebab utama karies gigi. *S. mutans* diklasifikasikan sebagai berikut (Bergey dan Cappucino dalam Pratama, 2005) :

Kingdom	: <i>Monera</i>
Divisi	: <i>Firmicutes</i>
Kelas	: <i>Bacilli</i>
Ordo	: <i>Lactobacilalles</i>
Famili	: <i>Streptococcaceae</i>
Genus	: <i>Streptococcus</i>

Spesies : *Streptococcus mutans*

2.3.2 Morfologi

Secara mikroskopis *S. mutans* merupakan bakteri Gram positif, tidak bergerak aktif, tidak membentuk spora, dan mempunyai susunan rantai dua atau lebih. Memiliki bentuk bulat, berdiameter 0.5 – 0,7mm. Terkadang bentuknya mengalami pemanjangan menjadi batang pendek, tersusun berpasangan atau membentuk rantai pendek (Gambar 2.2). *S. mutans* merupakan bakteri anaerobik fakultatif, non hemofilik asidogenik, dapat memproduksi polisakarida ekstraseluler dan intraseluler. *S. mutans* terdiri dari dinding sel dan membran protoplasma. Matriks dinding sel terdiri atas peptidoglikan rantai silang yang mempunyai komposisi gula amino N-asetil, asam N-asetilnuramik, dan beberapa peptida.



Gambar 2. 2. Morfologi *S. mutans* terlihat berbentuk kokus dan formasi rantai panjang (Forssten *et al.*, 2010)

Sedangkan struktur antigenik dinding *S. mutans* terdiri dari antigen protein, polisakarida spesifik, dan asam lipotekoat. Dimana antigen-antigen tersebut menentukan imunitas *S. mutans* (Bidarisugma *et al.*, 2012). *S. mutans* memiliki dua sistem

enzim pada dinding sel yang dapat membentuk dua polisakarida ekstraseluler dari sukrosa. Sukrosa dihidrolisis menjadi fruktosa (levan) dan glukosa (dekstran). Fruktosa dihidrolisis oleh enzim fruktosiltransferase, sedangkan glukosa dihidrolisis oleh glukosiltransferase.

2.3.3 Habitat

S. mutans tumbuh dalam suasana fakultatif anaerob. Menurut Nolte (1982) dalam Pratama (2005), bakteri ini memerlukan 5% CO₂ dan 95% nitrogen alam keadaan anaerob, serta memerlukan amonia sebagai sumber nitrogen agar dapat bertahan hidup dalam lapisan plak yang tebal. Biasanya koloni *S. mutans* dapat ditemukan dalam pit dan fisur, permukaan oklusal, area proksimal permukaan gigi, gingiva atau pada lesi karies yang telah mencapai pulpa.

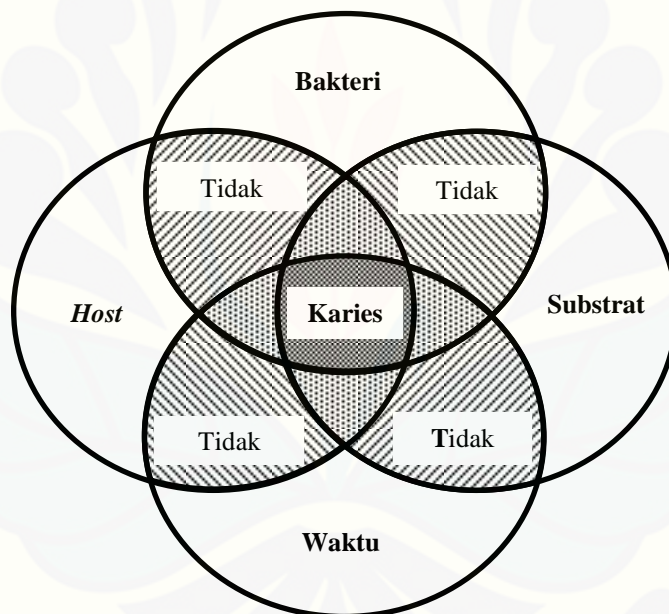
2.3.4 *S. mutans* pada Karies Gigi

Diketahui bahwa, *S. mutans* merupakan bakteri yang bersifat kariogenik karena memiliki kemampuan menghasilkan asam dari karbohidrat yang dapat difermentasi. Bakteri tersebut dapat tumbuh dengan subur pada suasana asam dan dapat melekat pada permukaan gigi karena memiliki kemampuan dalam membuat polisakarida ekstrasel yang sangat lengket dari karbohidrat makanan. Polisakarida terdiri dari polimer glukosa, sehingga menyebabkan matriks plak gigi memiliki konsistensi seperti gelatin. Akibatnya, memudahkan bakteri-bakteri untuk saling melekat satu sama lain serta melekat ke permukaan gigi (Kidd *et al.*, 1992).

Plak terdiri atas endapan-endapan gelatin dari glukosa yang mempunyai berat molekul tinggi, serta berisi bakteri penghasil asam yang melekat ke seluruh permukaan gigi. Polimer-polimer karbohidrat (glukosa) terutama dihasilkan *S. mutans* (Jawetz *et al.*, 2005).

Permulaan terjadinya karies dikarenakan terlarutnya permukaan email karena asam hasil metabolisme karbohidrat oleh bakteri, pH plak akan menurun dalam waktu

1-3 menit pada pH 4,5-5. Kemudian pH akan kembali normal pada pH sekitar 7 dalam waktu 30-60 menit. Dengan meningkatnya pH kembali, akan terjadi redeposisi ion-ion mineral dari cairan di sekitar email dan dapat terjadi proses remineralisasi pada daerah tersebut. Namun, apabila terdapat substrat yang masuk lagi, menyebabkan pH akan turun secara terus menerus sehingga proses karies dapat dianggap sebagai hasil kumulatif antara proses demineralisasi dan remineralisasi yang terjadi secara terus-menerus. Penurunan pH plak yang berulang-ulang akan menyebabkan demineralisasi pada permukaan gigi yang rentan, dan proses karies pun dimulai. Terdapat bercak putih sebagai tanda klinis yang pertama terlihat, dan kemudian baru terjadi kavitas (Soesilo *et al.*, 2005; Sundoro, 2007).



Gambar 2.3. Empat faktor etiologi karies (Kidd *et al.*, 1992).

Terdapat empat faktor utama yang merupakan etiologi terjadinya karies yaitu, mikroorganisme, *host*, substrat, dan waktu. Paduan dari keempat faktor tersebut biasanya digambarkan dalam bentuk empat lingkaran yang bersitumpang (Gambar 2.3) (Kidd *et al.*, 1992; Jawetz *et al.*, 2005).

2.4 Neutrofil

2.4.1 Morfologi Neutrofil

Neutrofil merupakan leukosit granular yang paling banyak dalam darah. Dalam jumlah absolut, terdapat 3000-6000 permilimeter kubik darah, atau 20-30 milyar dalam peredaran darah setiap saat. Neutrofil tinggal dalam darah sekitar 8 jam sebelum bermigrasi keluar pembuluh dan masuk jaringan, tempat neutrofil melakukan misinya dan mati. Diameter neutrofil 7 μm dalam darah, dan 10-12 μm dalam sediaan apusan darah kering. Neutrofil mudah dikenali dari neukleusnya yang khas, terdiri atas dua lobi atau lebih yang saling berhubungan melalui benang tipis (Gambar 2.4). Jumlah lobus nukleus ini tergantung (antara lain) dari usianya. Pertama kali dilepas dari sumsum tulang kedalam darah, nukleusnya berbentuk lonjong atau memanjang. Sel muda demikian disebut sebagai “bentuk batang”. Kemudian timbul konstiksi lokal, sehingga terbentuk nukleus bilobus. Proses pemanjangan nukleus serta konstiksinya berlanjut sampai pada neutrofil lebih tua, terdapat lima atau lebih segmen atau lobi (Bloom dan Fawcett, 2002).

Jumlah bentuk batang pada hitung jenis merupakan indeks bermanfaat tentang kecepatan masuknya neutrofil baru dalam darah. Bentuk neukleus yang bervariasi adalah dasar nama lain bagi jenis sel ini “leukosit polimorfonukleus”. Kromatin nukleus merupakan gumpalan padat ditepian, dan umumnya tidak tampak anak nukleus. Pada neutrofil wanita, kromatin yang mewakili kromosom-X padat dapat membentuk lobus tambahan kecil, seringkali disebut sebagai “pemukul drum” karena bentuknya yang khas (Gambar 2.4). Jadi dapat ditetapkan seks genetik seseorang dengan mengamati sejumlah besar neutrofil tentang adanya tambahan pada nukleus itu (Bloom dan Fawcett, 2002).



Gambar 2.4. Gambaran mikroskopis neutrofil, memiliki bentuk multilobul dan dikategorikan sebagai sel PMN (Slomianka, 2009).

Pada sediaan darah yang telah dipulas, sitoplasma neutrofil terlihat bertitik-titik oleh granul spesifik sangat halus yang berafinitas rendah terhadap pewarna dan granul azurofil lebih besar yang terulas lebih gelap. Granul ini lebih besar dalam neutrofil marmot dan kelinci daripada dalam manusia. Karena granulnya yang lebih besar dan afinitasnya terhadap eosin, maka sel-sel ini kadang-kadang disebut *pseudo-eosinofil* dalam kepustakaan hematologi (Bloom dan Fawcett, 2002).

2.4.2 Fungsi Neutrofil

Fungsi neutrofil adalah fagositosis, yang berarti pencernaan seluler terhadap agen yang mengganggu. Sel fagosit harus memilih bahan-bahan yang akan difagositosis, kalau tidak demikian, sel normal dan struktur tubuh akan dicerna pula (Guyton dan Hall, 2008). Terjadinya fagositosis terutama bergantung pada tiga prosedur selektif berikut :

- a. Pertama, sebagian besar struktur alami dalam jaringan memiliki permukaan halus, yang dapat menahan fagositosis. Tetapi jika permukaannya kasar, maka kecenderungan fagositosis akan meningkat.
- b. Kedua, sebagian besar bahan alami tubuh mempunyai selubung protein yang menolak fagositosis. Sebaliknya, sebagian besar jaringan mati dan partikel asing

tidak mempunyai selubung pelindung, sehingga jaringan atau partikel tersebut menjadi target fagositosis.

- c. Ketiga, sistem imun tubuh membentuk antibodi untuk melawan agen infeksius seperti bakteri. Antibodi kemudian melekat pada membrane bakteri dan dengan demikian membuat bakteri menjadi rentan khususnya terhadap fagositosis (Guyton dan Hall, 2008).

2.4.3 Aktivitas Mikrobisida Sel Neutrofil dalam Imunitas Tubuh

Aktivitas mikrobisida sel neutrofil merupakan suatu aktivitas atau proses penangkapan dan pembunuhan mikroorganisme atau partikel asing oleh sel neutrofil yang masuk kedalam tubuh. Neutrofil adalah garis pertama pertahanan tubuh terhadap invasi oleh bakteri. Aktivitas mikrobisida diawali dengan sebuah mediator kimia yang dilepas pada tempat infeksi terbawa oleh darah ke sumsum tulang, tempat mediator ini menginduksi peningkatan produksi dan pembebasan neutrofil ke dalam darah. Banyak diantaranya kemudian melekat pada dinding venul pasca-kapiler pada tempat infeksi dan bermigrasi diantara sel-sel endotel kedalam jaringan ikat sekitar. Terpapar dengan konsentrasi rendah produk bakteri, sitoskeletonnya mengalami reorganisasi dan terpolarisasi untuk bermigrasi menentang gradien konsentrasi dari kemoatraktan, inilah yang disebut kemotaksis. Bila neutrofil mencapai daerah dengan konsentrasi maksimum dari kemoatraktan dekat bakteri, neutrofil berhenti dan menjadi sangat fagositik. Pseudopodia terjulur sekitar bakteri dan dimasukkan kedalam sitoplasmanya dalam vakuol besar. Granul azurofil dan granul spesifik kemudian menyatu dengan vakuol, melepaskan enzim hidrolotiknya untuk membunuh bakteri (Bloom dan Fawcett, 2002).

Pelahaman dan pemusnahan bakteri oleh neutrofil akan lebih efisien jika orang yang bersangkutan sebelumnya pernah kemasukkan oleh bakteri sejenis dan telah memiliki antibodi spesifik terhadap antigen permukaannya. Pada apa yang disebut fagositosis imun, sebuah antibodi yang diangkut darah (IgG) melekat pada permukaan bakteri dan sebuah komponen komplemen dari plasma darah (C_3b) bergabung de-

ngan kompleks antigen-antibodi. Terdapat reseptor untuk IgG dan C₃b pada membran neutrofil dan reseptor ini berfungsi sebagai ligan untuk memudahkan adhesi bakteri pada permukaannya, sehingga memudahkan fagositosis. Komponen plasma, seperti IgG dan C₃b yang membungkus bakteri dan meningkatkan efisiensi fagositosis, bersama-sama disebut sebagai opsonin. Bila neutrofil memfagositosis dan mencerna debris sel dan zat renik tanpa bantuan opsonin, maka disebut *fagositosis non-spesifik* (Bloom dan Fawcett, 2002).

Proses fagositosis diawali dengan migrasi neutrofil. Neutrofil akan melewati celah antara sel endotel pembuluh darah dengan cara diapedesis. Selanjutnya dengan gerakan ameboid, neutrofil bergerak menuju daerah yang mengalami peradangan atau infeksi. Sejumlah zat kimia dalam jaringan dapat menyebabkan leukosit bergerak untuk mendekati atau menjauhi sumber zat kimia tersebut, hal ini dikenal dengan kemotaksis. Hasil-hasil degenerasi jaringan yang meradang, khususnya jaringan polisakarida dan komplemen menyebabkan neutrofil bergerak menuju daerah yang mengalami peradangan. Selain itu toksin yang dikeluarkan oleh bakteri juga menyebabkan neutrofil bergerak menuju daerah yang mengalami infeksi (Guyton dan Hall, 2008).

Setelah berada ditempat peradangan atau infeksi, neutrofil akan melekatkan diri ke bakteri atau disebut dengan adhesi. Perlekatan ini dipermudah dengan proses opsonisasi, sehingga opsonin yang mengikat bakteri mudah melekat pada reseptornya yang berada di membrane neutrofil. Adhesi dapat terjadi pada dinding membran bakteri, endotel maupun jaringan yang terinfeksi. Faktor yang berperan dalam proses adhesi adalah reseptor dari permukaan sel dan adhesin dari bakteri.

Setelah proses adhesi, maka tahap selanjutnya adalah proses penelanan dari bakteri. Proses ini diawali dengan tonjolan pseudopodia yang membentuk kantong fagosom yang kemudian mengelilingi seluruh permukaan dinding sel bakteri, sehingga membentuk suatu ruangan tertutup dan bakteri terperangkap didalamnya. Selanjutnya ruangan tersebut berinvaginasi kedalam rongga sitoplasma dan melepaskan diri dari membran luar untuk membentuk fagosom dalam sitoplasma. Kemudian partikel granular didalam fagosom akan mengeluarkan berbagai enzim dan protein proteolitik

yang dapat merusak dan menghancurkan dinding sel bakteri, sehingga dapat mematikan sel bakteri yang menginfeksi tersebut. Sebuah sel neutrofil biasanya dapat memfagositosis 3 sampai 20 bakteri sebelum sel neutrofil itu sendiri menjadi inaktif dan mati (Guyton dan Hall, 2008).

2.5 Hipotesis

Berdasarkan tinjauan pustaka dapat ditarik hipotesis bahwa dengan memberikan ekstrak daun katuk (*Sauropus androgynus (L). Merr.*) dapat meningkatkan aktivitas mikrobisida sel neutrofil yang dipapar oleh *S. mutans*.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini adalah jenis penelitian eksperimental laboratoris *in vitro*, yaitu penelitian dengan pemberian perlakuan terhadap variabel yang diteliti dan dilakukan di laboratorium.

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang dilakukan adalah penelitian dengan kelompok kontrol (*The post test only control group design*), yaitu dilakukan pengukuran terhadap variabel yang diteliti setelah diberikan perlakuan, kemudian dibandingkan dengan kelompok kontrol (Notoatmodjo, 2005).

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

3.3.1 Waktu Penelitian

Pelaksanaan penelitian dilakukan pada bulan November 2014.

3.3.2 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Biomedik Bagian Mikrobiologi dan Laboratorium *Bioscience* Rumah Sakit Gigi dan Mulut Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

3.4 Identifikasi Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak daun katuk (*Sauropus androgynus (L). Merr.*) dengan konsentrasi 100%, 75%, 50%, dan 25%.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah aktivitas mikrobisida sel neutrofil, yang diukur dari jumlah koloni bakteri *S. mutans*.

3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah kriteria sampel penelitian, media pembiakan *S. mutans*, dan teknik penghitungan aktivitas mikrobisida sel neutrofil terhadap *S. mutans*.

3.5 Definisi Operasional

3.5.1 Ekstrak Daun Katuk

Dalam penelitian ini daun katuk (*Sauropus androgynus (L). Merr*) yang digunakan adalah daun katuk yang berwarna hijau tua yang didapatkan dari Balai Materia Medica Batu, yang berusia 4-6 bulan. Ekstrak daun katuk dengan pelarut etanol 96% didapatkan dengan menggunakan metode maserasi, kemudian dilakukan penyaringan dan penguapan dengan menggunakan *rotary evaporator*. Pembuatan ekstrak dilakukan di Balai Materia Medica, Batu. Konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 25%, 50%, 75%, dan 100%.

3.5.2 *S. mutans*

Pada penelitian ini *S. mutans* yang digunakan didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas MIPA Universitas Jember. *S. mutans* berada dalam media

BHI-B kemudian dijadikan bentuk suspensi terlebih dahulu agar memudahkan saat penggunaan. *S. mutans* mempunyai bentuk kokus dengan formasi rantai panjang, tumbuh dalam suasana asam, fakultatif anaerob dan dapat tumbuh optimal pada suhu sekitar 18-40 °C. *S. mutans* pada penelitian ini mempunyai densitas 0,5 Mc. Farland.

3.5.3 Neutrofil

Neutrofil diisolasi dari darah vena perifer orang subyek yang memenuhi kriteria. Isolasi neutrofil dilakukan dengan menggunakan teknik gradient density menggunakan bahan *histopaque-1119* dan menggunakan *Ficoll Hypaque Centrifugation*. Neutrofil merupakan leukosit granular yang memiliki garis tengah sekitar 12-15 µm, mempunyai karakteristik inti sel yang berbentuk multilobus.

3.5.4 Aktivitas Mikrobisida

Aktivitas mikrobisida neutrofil adalah kemampuan neutrofil untuk menghancurkan atau membunuh mikroba (*S. mutans*). Aktivitas mikrobisida dalam penelitian ini diukur dari jumlah sisa bakteri *S. mutans* yang dihitung dengan menggunakan *colony counter*.

3.6 Sampel Penelitian

3.6.1 Kriteria Sampel

Penelitian ini menggunakan sampel yaitu isolat neutrofil yang berasal dari darah vena perifer orang dewasa yang sehat dan memenuhi kriteria inklusi.

a. Kriteria Inklusi

- 1) Sampel diambil dari orang dewasa berdasarkan kategori umur menurut Depkes RI (2009), yaitu: 21-45 tahun.
- 2) Sampel diambil dari orang yang berjenis kelamin laki-laki dan dalam keadaan sehat atau tidak menjalani suatu terapi atau pengobatan.
- 3) Menyatakan bersedia diambil darahnya.

b. Kriteria Eksklusi

- 1) Memiliki penyakit sistemik atau riwayat kelainan darah.
- 2) Orang tersebut tidak menjalani hidup sehat (merokok, meminum alkohol, menggunakan obat-obat terlarang).

3.6.2 Jumlah Sampel

Jumlah sampel pada penelitian ini sebanyak empat sampel untuk setiap kelompok, yang didasarkan pada penghitungan dengan rumus sebagai berikut :

$$(t - 1) (r - 1) > 15$$

Keterangan :

t : banyaknya kelompok perlakuan

r : jumlah replikasi

Pada penelitian ini diketahui jumlah perlakuan (t) = 7, maka dapat dilakukan perhitungan jumlah sampel sebagai berikut :

$$(7 - 1) (r - 1) \geq 15$$

$$(r - 1) \geq 15/6$$

$$r \geq 2,5 + 1$$

$$r \geq 3,5$$

Berdasarkan hasil perhitungan tersebut, jumlah sampel yang digunakan pada penelitian ini sebanyak $\geq 3,5$. Peneliti menggunakan 4 (empat) sampel untuk setiap perlakuan (Supranto, 2000).

3.6.3 Kriteria Penggolongan Sampel

Sampel dibagi menjadi 7 kelompok perlakuan, yaitu :

1. Kelompok 1 : Sel neutrofil dipapar dengan *S. mutans* dan diinkubasi dengan penisilin 100% (kontrol positif).
2. Kelompok 2 : Sel neutrofil dipapar dengan *S. mutans* (kontrol negatif).
3. Kelompok 3 : Sel neutrofil dipapar dengan *S. mutans* dan diinkubasi dengan

- ekstrak daun katuk 100%.
4. Kelompok 4 : Sel neutrofil dipapar dengan *S. mutans* dan diinkubasi dengan ekstrak daun katuk 75%.
 5. Kelompok 5 : Sel neutrofil dipapar dengan *S. mutans* dan diinkubasi dengan ekstrak daun katuk 50%.
 6. Kelompok 6 : Sel neutrofil dipapar dengan *S. mutans* dan diinkubasi dengan ekstrak daun katuk 25%.
 7. Kelompok 7 : Ekstak daun katuk 100% dipapar dengan *S. mutans*

3.7 Alat dan Bahan Penelitian

3.7.1 Alat Penelitian

Microplate 12 well (COSTAR), tabung falcon 15 ml (THERMO Scientific), *disposable syringe* 10 ml (ONE MED), rak tabung, mikro pipet, *autoclave*, vortex, *centrifuge* (EPPENDORF Centrifuge 5810 R), *incubator shaker* (LAB TECH), *blue tip* (LABTIP THERMO), *yellow tip* (LABTIP THERMO), *anaerobic system* (OXOID), sterilisator UV, tabung erlenmeyer, bunsen, filter, *petridish*, desikator, timbangan gram (BOECO, Germany), mikroskop *inverted* (OLYMPUS), *handscoon* dan masker, *laminar flow cabinet*, *colony counter*, *cover slip*.

3.7.2 Bahan Penelitian

Bakteri *S. mutans*, aquades steril, darah vena perifer, *ficoll hypaque gradient*, ekstrak daun katuk (*Sauropus androgynus* (L). Merr.), BHI-A (*Brain Heart Infusion Agar*), BHI-B (*Brain Heart Infusion Broth*), alkohol 70%, heparin, HBSS (GIBCO) RPMI (GIBCO), *medium complete* M199 (GIBCO), Penisilin-Streptomycin (SIGMA), *fungizone* (GIBCO), HCl 37%, *histopaque-1119* (SIGMA), etanol 96%.

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Tahap Persiapan

a. Sterilisasi Alat

Penelitian diawali dengan sterilisasi alat-alat yang akan digunakan. Peralatan yang masih dalam bentuk kemasan seperti *blue tip*, *yellow tip*, tabung *falcon*, filter, dan yang lainnya disemprotkan dengan alkohol 70% kemudian diletakkan di dalam *laminar flow cabinet* yang sebelumnya sudah dibersihkan terlebih dahulu dengan alkohol 70% dan di sterilkan dengan sinar UV minimal 2 jam. Sedangkan untuk sterilisasi ruangan dilakukan dengan menyalakan sinar UV kurang lebih 2 jam. Pipet mikro dan timbangan disterilkan dengan cara membersihkan dan menyemprot menggunakan alkohol 70% dan dikeringkan dengan tisu. *Cover glass* yang sudah dipotong disterilkan dengan cara diendapkan dalam larutan HCl dengan konsentrasi 1,5% dan dibiarkan selama kurang lebih 24 jam. Kemudian ditiriskan hingga kering. Tabung erlenmeyer dicuci bersih kemudian disterilkan di dalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama kurang lebih 24 jam agar terbebas dari invasi bakteri. *Handscoon* dan masker disterilkan dengan cara menaruhnya di dalam *laminar flow cabinet* kurang lebih selama 24 jam.

b. Uji Identifikasi Tanaman

Sebelum dilakukan pembuatan ekstrak, terlebih dahulu dilakukan uji identifikasi tanaman yang akan digunakan dalam penelitian. Uji tersebut dilakukan dengan mengidentifikasi ciri fisik tanaman katuk berupa, bunga, daun, dan batangnya. Uji identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui bahwa spesimen yang akan diekstrak dalam penelitian ini merupakan daun dari tanaman katuk. Identifikasi dilakukan di Balai Materia Medica, Batu.

c. Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Daun Katuk

Pembuatan ekstrak daun katuk dilakukan di Balai Materia Medica, Batu. Proses pembuatan ekstrak dapat dilihat pada lampiran D. Untuk mendapatkan berbagai konsentrasi yang akan digunakan, maka pengenceran dilakukan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

Keterangan :

M1 : kadar konsentrasi awal

M2 : kadar konsentrasi akhir

V1 : volume awal

V2 : volume akhir

Adapun cara pengencerannya yaitu :

1) Untuk mendapatkan ekstrak daun katuk 75% sebanyak 4 ml :

$$100\% \times V1 = 75\% \times 4$$

$$V1 = \frac{75 \times 4}{100}$$

$$V1 = 3 \text{ ml}$$

Jadi ekstrak daun katuk 100% harus diencerkan dengan menambahkan 1ml akuades steril ke dalam 3 ml ekstrak daun katuk 100%.

2) Untuk mendapatkan ekstrak daun katuk 50% sebanyak 4 ml :

$$100\% \times V1 = 50\% \times 4$$

$$V1 = \frac{50 \times 4}{100}$$

$$V1 = 2 \text{ ml}$$

Jadi ekstrak daun katuk 100% harus diencerkan dengan menambahkan 2 ml akuades steril ke dalam 2 ml ekstrak daun katuk 100%.

3) Untuk mendapatkan ekstrak daun katuk 25% sebanyak 4 ml :

$$100\% \times V1 = 25\% \times 4$$

$$V1 = \frac{25 \times 4}{100}$$

$$V1 = 1 \text{ ml}$$

Jadi ekstrak daun katuk 100% harus diencerkan dengan menambahkan 3 ml akuades steril ke dalam 1 ml ekstrak daun katuk 100%.

d. Uji Identifikasi

Identifikasi *S. mutans* dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Bagian Biomedik Fakultas Keokteran Gigi Universitas Jember secara mikroskopis dengan pewarnaan Gram. Identifikasi bertujuan untuk mengetahui keadaan bakteri masih murni atau terkontaminasi.

Tahapan dalam pewarnaan Gram adalah dengan meletakkan 1 ose PZ di tengah *object glass* bersih kemudian meletakkan sediaan sampel berupa suspensi *S. mutans* di atas *object glass*. Kedua sediaan tersebut dicampur lalu dikeringkan kemudian difiksasi dengan dilewatkan api bunsen beberapa kali lalu didinginkan. Setelah itu dilakukan pemberian zat pewarna Gram A yaitu zat warna kristal violet pada sediaan lalu didiamkan selama 30-60 detik kemudian dicuci dengan aquades. Selanjutnya ditambahkan zat pewarna Gram B yaitu zat lugol pada sediaan lalu didiamkan lagi selama 60 detik kemudian dicuci dengan aquades. Selanjutnya dilakukan pewarnaan Gram C yaitu alkohol 96% selama 10-30 detik lalu dicuci dengan aquades. Zat pewarna terakhir yang diberikan adalah Gram D yaitu safranin selama 30-60 detik, kelebihan zat warna dibuang lalu dicuci dengan aquades. Setelah semua zat warna diberikan, preparat dikeringkan lalu kemudian diberi minyak emersi dan dapat dilakukan pengamatan menggunakan mikroskop.

e. Pembuatan Suspensi Bakteri

Sebelum dilakukan pembuatan suspensi, disiapkan media BHI-B dengan cara 3,7 gram BHI-B dan 100 ml aquades steril dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer kemudian diaduk dengan spatula kaca dan dipanaskan di atas kompor sampai homogen dan mendidih. Setelah itu tabung erlenmeyer ditutup menggunakan kapas dan disterilkan dalam *autoclave* 121 °C selama 15 menit. Dilakukan uji sterilisasi media BHI-B dengan cara dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu 37 °C selama 24 jam. Setelah steril, dibuat suspensi *S. mutans* dengan cara memasukkan 2 ml suspensi BHI-B ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 ose *S. mutans* lalu dicampur. Saat menambahkan *S. mutans* tabung reaksi tersebut dilewatkan di atas api bunsen yang menyala. Campuran kedua bahan tersebut dimasukkan ke dalam desikator lalu diinkubasi dengan inkubator dengan suhu 37 °C selama 24 jam. Pertumbuhan *S. mutans* ditandai dengan adanya kekeruhan pada media. Setelah 24 jam suspensi *S. mutans* dalam tabung reaksi tersebut dikocok menggunakan *thermolyne*. Suspensi lalu diukur dengan *densicheck* hingga didapatkan densitas 0,5 *Mc. Farland*.

f. Mempersiapkan Media BHI-A

Pembuatan media BHI-A untuk 28 *petridish* besar dilakukan dengan mencampur 36,4 gr BHI-A kedalam 700 cc aquades steril dalam tabung erlenmeyer. Selanjutnya, dipanaskan di atas kompor hingga homogen, ditutup dengan kapas dan disterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121 °C selama 15 menit. Setelah media tidak terlalu panas, media dituang kedalam *petridish*. Untuk memastikan bahwa media dalam keadaan steril maka dilakukan uji sterilisasi, media tersebut dimasukkan ke *incubator* dengan suhu 37 °C selama 24 jam.

g. Isolasi Neutrofil

Tahapan selanjutnya adalah isolasi neutrofil. Isolat neutrofil diambil dari darah vena perifer orang yang sehat (tidak memiliki riwayat penyakit sistemik dan kelainan darah). Tahapan isolasi neutrofil adalah sebagai berikut :

- 1) Isolasi neutrofil diawali dengan pengambilan darah sebanyak 6 cc, pengambilan darah vena menggunakan *disposable syringe* secara intravena. Kemudian dibagi dalam 2 (dua) tabung heparin.
- 2) Masukkan kedalam tabung heparin dan digoyang-goyang agar tidak menggumpal.
- 3) Siapkan 2 (dua) tabung *falcon* lainnya yang masing-masing telah diisi 3 cc *histopaque-1119* dan 3 cc *ficoll* dimasukkan diatas *histopaque-1119*. Selanjutnya lapisan darah dilapiskan di atas *histopaque-1119* dan *ficoll* dengan cara dialirkan melalui dinding tabung agar lapisan *histopaque-1119* dan *ficoll* tidak pecah.
- 4) Sentrifugasi dengan kecepatan 1900 rpm selama 30 menit pada suhu 18-26 °C.
- 5) Akan terbentuk 6 (enam) lapisan berturut-turut dari atas ke bawah adalah plasma, monosit, *ficoll*, granulosit (neutrofil), *histopaque-1119*, dan eritrosit.
- 6) Isolat neutrofil dipindahkan ke dalam tabung falcon lainnya. Selanjutnya isolat neutrofil ditambahkan dengan 1000 µl HBSS (*Hank's Balanced Salt Solution*), disentrifugasi dengan kecepatan 1700 rpm selama 10 menit pada suhu 18-26 °C.
- 7) Supernatan diaspirasi. Tambahkan 1000 µl HBSS, kemudian di *pipetting*.
- 8) Amati populasi sel di bawah mikroskop *inverted* dengan perbesaran 400x.
- 9) Tambahkan 5 µl *fungizone* dan 20 µl *penstrep* untuk mencegah terjadinya kontaminasi, kemudian di *pippeting*.

3.8.2 Prosedur Uji Mikrobisida Sel Neutrofil

Uji mikrobisida sel neutrofil pada penelitian ini dilakukan dengan melihat koloni bakteri. Koloni bakteri ini dapat dilihat dari media agar yang sebelumnya neu-

trofil telah dipapar dengan *S. mutans* dan diinkubasi dengan ekstrak daun katuk. Prosedur uji mikrobisida sel neutrofil adalah sebagai berikut:

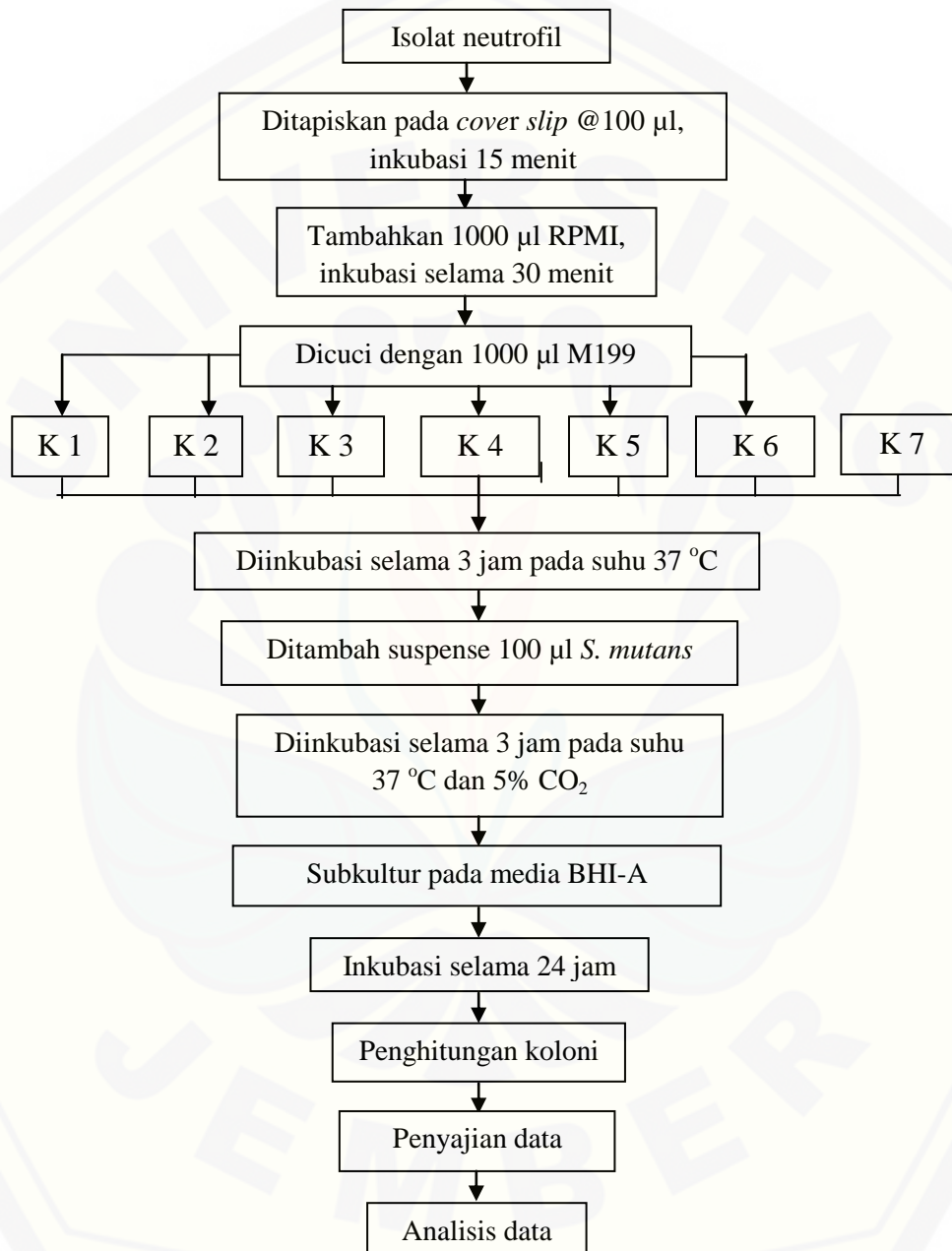
- a. Siapkan 3 (tiga) buah *microplate 12 well* yang telah diberi *cover slip*.
- b. Isi setiap *microplate* dengan 100 μ l suspensi neutrofil dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37 °C agar neutrofil tersebut menempel pada *cover slip*.
- c. Tambahkan 1000 μ l RPMI, kemudian diinkubasi selama 30 menit, suhu 37 °C.
- d. Resuspensi dengan 1000 μ l *Medium complete* M199 lalu dipipeting perlahan.
- e. Tambahkan perlakuan sesuai kelompok. Kelompok 1 ditambahkan penisilin 100% (kontrol positif), kelompok 2 tidak diberi ekstrak (kontrol negatif), kelompok 3 ditambahkan 200 μ l ekstrak daun katuk 100%, kelompok 4 ditambahkan 200 μ l ekstrak daun katuk 75% , kelompok 5 ditambahkan 200 μ l ekstrak daun katuk 50%, kelompok 6 ditambahkan 200 μ l ekstrak daun katuk 25%, dan kelompok 7 ditambahkan 200 μ l ekstrak daun katuk 100% untuk uji antibakteri. Selanjutnya diinkubasi dengan *incubator shaker* pada suhu 37 °C selama 3 jam, setiap jam dilakukan pengecekan apakah ekstrak sudah melapisi neutrofil.
- f. Tambahkan 200 μ l suspensi *S. mutans* pada masing-masing *microplate*. Inkubasi pada *incubator shaker* selama 3 jam pada suhu 37 °C dan 5% CO₂.
- g. Menyiapkan media BHI – A pada *petridish* besar sebanyak 28 buah.
- h. Uji aktivitas mikrobisida dengan mengambil resuspensi neutrofil baik kontrol maupun yang sudah diberi perlakuan untuk ditanamkan pada media BHI – A, pengambilan larutan 100 μ l dilakukan dengan menggunakan mikro pipet lalu dituang ke permukaan media BHI – A dan diratakan dengan *spreader*.
- i. Diinkubasi selama 24 jam pada inkubator dengan suhu 37 °C dan *petridish* telah disusun dalam desikator .
- j. Pengamatan dan penghitungan hasil dilakukan dengan mengamati pertumbuhan koloni bakteri *S. mutans* pada media BHI – A padat dan koloni bakteri dihitung menggunakan *colony counter*.

Setelah dilakukan perhitungan jumlah koloni *S. mutans* baik pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan dengan menggunakan *colony counter*, data yang didapat kemudian dianalisis menggunakan program SPSS.

3.9 Analisis Data

Dalam penelitian ini, data yang didapatkan dianalisis menggunakan uji statistik parametrik. Untuk mengetahui normalitas data, dilakukan uji *Kolmogorov Smirnov* dan uji *Levene* untuk homogenitas. Apabila pada kedua uji tersebut menunjukkan data yang terdistribusi normal dan homogen, maka data dianalisis menggunakan uji statistik parametrik, yaitu *Oneway Anova* dan dilanjutkan dengan uji LSD. Jika data tidak terdistribusi normal dan atau tidak homogen, maka dilanjutkan dengan uji nonparametrik menggunakan uji *Kruskal–Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Mann–Whitney*. Kemudian dilakukan uji *Regresi* untuk melihat seberapa besar pengaruh pemberian berbagai konsentrasi esktak daun katuk. Semua uji data menggunakan tingkat kemaknaan 95% ($\alpha = 0,05$).

3.10 Alur penelitian

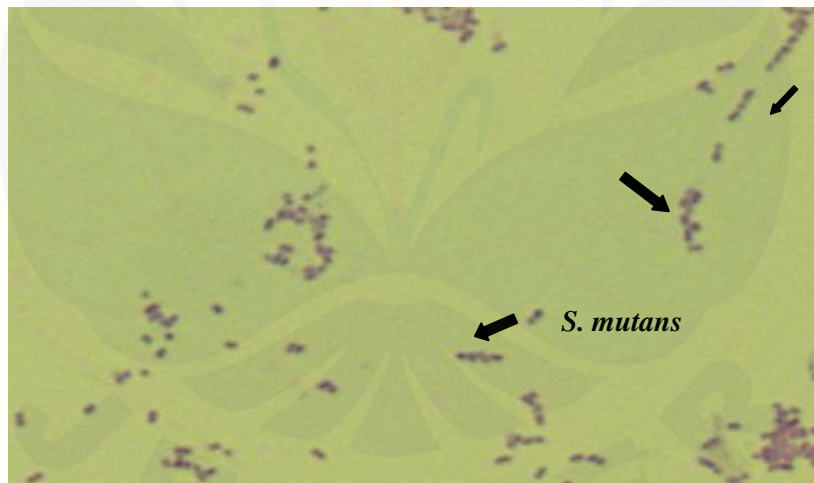


Gambar 3.1 Alur penelitian

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Subkultur *S. mutans*

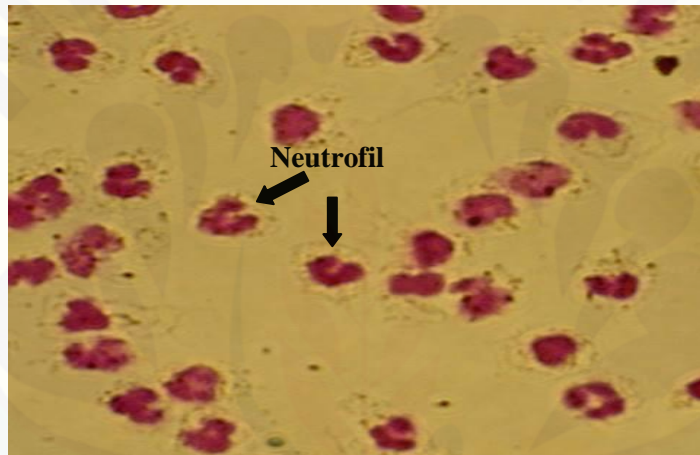
Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Subkultur bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah *S. mutans*. Kemudian *S. mutans* yang telah berbentuk suspensi di cek menggunakan *densicheck* hingga menunjukkan standar 0,5 Mc. Farland. Setelah dilakukan uji identifikasi menggunakan pengecatan Gram, lalu dilakukan pengamatan pada mikroskop *inverted* terlihat gambaran *S. mutans* berbentuk kokus, berwarna ungu, dan dengan formasi rantai panjang seperti terlihat pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Sediaan *S. mutans*, terlihat berbentuk kokus berformasi rantai panjang dan berwarna ungu pada pemeriksaan mikroskopik sesuai dengan ciri khas bakteri Gram positif (pengecatan Gram, pembesaran 1000 kali).

4.2 Hasil Isolasi Neutrofil

Penelitian dilakukan di Laboratorium *Bioscience* Rumah Sakit Gigi dan Mulut Universitas Jember. Pada penelitian ini menggunakan sampel isolat neutrofil yang diambil dari darah vena perifer yang sesuai dengan kriteria sampel. Setelah dilakukan isolasi neutrofil, maka didapatkan hasil sel neutrofil yang tidak tercampur dengan sel darah yang lain. Kemudian dilakukan pewarnaan *Giemsa* dan diamati di bawah mikroskop *inverted* dengan perbesaran 1000 kali. (Gambar 4.2)



Gambar 4.2 Gambar mikroskopis neutrofil pengecatan *Giemsa* dengan menggunakan mikroskop *inverted* (perbesaran 1000 kali).

4.3 Hasil Uji Aktivitas Mikrobisida

Data hasil penelitian aktivitas mikrobisida sel neutrofil yang diinkubasi dengan ekstrak daun katuk dan dipapar *S. mutans* (dalam hal ini yang dilihat adalah jumlah koloni bakteri) dapat dilihat pada tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil penghitungan koloni bakteri (CFU/ml) sebagai acuan adanya aktivitas mikrobisida sel neutrofil dan ekstrak daun katuk

Nomor	K1	K2	K3	K4	K5	K6	K7
1	72	294	102	137	157	187	115
2	81	277	92	148	158	205	122
3	78	300	95	140	169	202	121
4	82	295	101	136	176	189	118
Mean	78,25	291,5	97,5	140,25	165	195,75	119
SD	4,5	10,02	4,8	5,44	9,13	9,07	3,16

Keterangan :

K1 : Kelompok neutrofil + Penstrep + *S.mutans* (kontrol positif)

K2 : Kelompok neutrofil + *S.mutans* (kontrol negatif)

K3 : Kelompok neutrofil + ekstrak daun katuk 100% + *S.mutans*

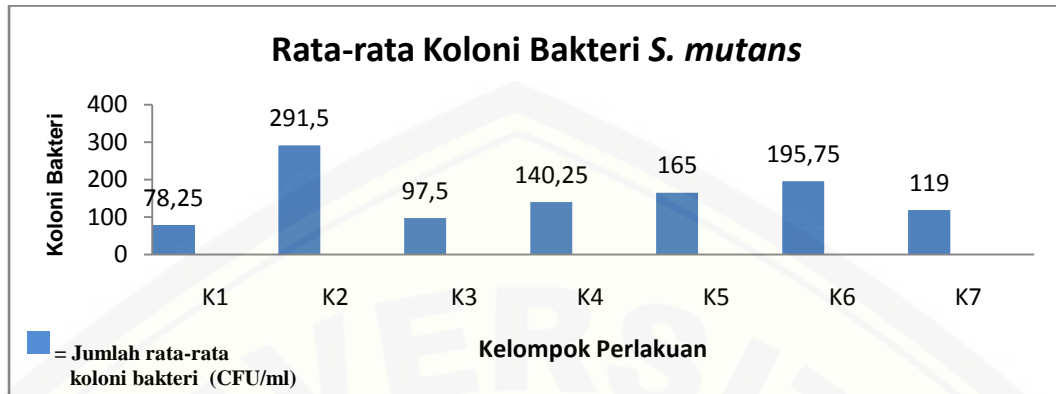
K4 : Kelompok neutrofi + ekstrak daun katuk 75% + *S.mutans*

K5 : Kelompok neutrofil + ekstrak daun katuk 50% + *S. mutans*

K6 : Kelompok neutrofil + ekstrak daun katuk 25% + *S. mutans*

K7 : Ekstrak daun katuk 100% + *S. mutans*

Dari hasil penelitian dapat dilihat bahwa urutan jumlah koloni bakteri yang paling rendah adalah K1 yang diinkubasi dengan penstrep dan sebagai kontrol positif, kemudian K3 yang diinkubasi dengan ekstrak daun katuk 100%, kemudian K7 yaitu kelompok *S. mutans* diinkubasi dengan ekstrak daun katuk 100% tanpa neutrofil, lalu K4 yaitu kelompok yang diinkubasi dengan ekstrak 75%, lalu K5 yaitu yang diinkubasi dengan ekstrak daun katuk 50%, kemudian K6 yaitu yang diinkubasi dengan ekstrak daun katuk 25%, dan yang memiliki jumlah koloni terbesar adalah kelompok K2 sebagai kontrol negatif yaitu neutrofil yang dipapar dengan *S. mutans* tanpa inkubasi ekstrak daun katuk. Sehingga apabila dibandingkan dari tiap-tiap kelompok perlakuan, maka rata-rata jumlah koloni terlihat semakin menurun dengan bertambah tingginya konsentrasi ekstrak daun katuk. Selain itu, kelompok yang berisi neutrofil nampak semakin sedikit jumlah koloninya dibanding dengan yang kelompok yang tidak berisi neutrofil yang sama-sama diinkubasi dengan ekstrak daun katuk 100%. Gambar histogram rata-rata koloni bakteri dapat dilihat pada gambar 4.3



Gambar 4.3 Histogram rata-rata jumlah koloni *S. mutans* setelah diberikan perlakuan

4.4 Analisis Data

Data hasil penelitian diuji dengan uji normalitas dan uji homogenitas. Pada penelitian ini, uji normalitas data dilakukan dengan menggunakan uji *Kolmogorov Smirnov* yang bertujuan untuk melihat apakah data hasil penelitian berdistribusi normal atau tidak. Data tersebut dikatakan normal dengan asumsi bahwa suatu data dikatakan normal apabila signifikansi (p) lebih besar dari 0,05. Berdasarkan hasil uji normalitas yang tertera pada lampiran A.1, dapat dilihat bahwa (p) dari data pada setiap kelompok perlakuan adalah sebesar 0,756, dari hasil tersebut dapat dikatakan bahwa data terdistribusi normal ($p > 0,05$).

Selanjutnya dilakukan uji homogenitas data dengan menggunakan uji *Levene* dengan signifikansi ($p > 0,05$). Uji ini bertujuan untuk mengetahui apakah variasi data tergolong homogen atau heterogen. Berdasarkan uji *Levene* yaitu sebesar 0,067, sehingga dinyatakan data tersebut homogen karena nilai ($p > 0,05$). Tabel hasil analisis dapat dilihat pada lampira A.2.

Setelah data dinyatakan berdistribusi normal dan homogen, selanjutnya dilakukan uji parametrik *Oneway Anova*. Dengan tujuan untuk mengetahui adanya perbedaan yang signifikan pada semua kelompok, dengan signifikansi ($p < 0,05$). Berdasarkan hasil uji menggunakan *Oneway Anova* didapatkan nilai signifikansi sebesar

0,000 sehingga dinyatakan ada beda yang bermakna pada semua kelompok perlakuan. Tabel hasil analisa dapat dilihat pada lampiran A.3.

Kemudian dilanjutkan dengan uji LSD dengan signifikansi ($p < 0,05$), untuk membandingkan hasil perhitungan jumlah koloni pada satu kelompok dengan kelompok lainnya. Berdasarkan hasil uji LSD menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna pada setiap kelompok dalam penelitian ini. Tabel hasil analisa dapat dilihat pada lampiran A.4.

Selanjutnya dilakukan uji korelasi *Pearson* untuk mengetahui seberapa besar hubungan antara dua variabel, didapatkan hasil nilai korelasi (r) sebesar $-0,955$ dimana apabila nilai (r) sebesar $0,800-1,00$ maka data tersebut dapat dinyatakan memiliki hubungan yang sangat erat. Selanjutnya hasil dari uji Regresi untuk mengetahui bentuk hubungan antara dua variabel dapat dilihat pada lampiran A6. Nilai negatif menunjukkan terdapat hubungan terbalik yaitu, apabila konsentrasi ekstrak daun katuk meningkat (X) maka akan terjadi penurunan pada jumlah koloni bakteri (Y), dimana X merupakan variabel bebas dan Y merupakan variabel terikat.

4.5 Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan pada kelompok K2 yang tidak diinkubasi dengan ekstrak daun katuk (kontrol negatif) mempunyai jumlah rata-rata koloni paling tinggi yaitu 291, hal ini dikarenakan sel neutrofil tidak mendapatkan perlindungan dari zat aktif yang terdapat dalam ekstrak daun katuk. Sedangkan pada kelompok K1 yang diberi penicillin-streptomycin (penstrep) dan merupakan kontrol positif memiliki jumlah koloni yang paling sedikit yaitu 78, hal ini dikarenakan penstrep merupakan antibiotik yang telah terbukti efektif untuk melawan bakteri Gram negatif dan Gram positif, termasuk *S. mutans*. Sedangkan pada kelompok perlakuan yang diinkubasi dengan ekstrak daun katuk dengan berbagai konsentrasi memiliki jumlah koloni dengan perbedaan yang signifikan, yaitu kelompok K3 (ekstrak daun katuk 100%) dengan rata-rata 97, kelompok K4 (ekstrak daun katuk 75%) sebanyak 140,

selanjutnya kelompok K5 (ekstrak daun katuk 50%) sebanyak 165, kemudian kelompok K6 (ekstrak daun katuk 25%) sebanyak 197. Sehingga dapat dikatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi daun katuk yang digunakan maka semakin efektif dalam menurunkan jumlah koloni bakteri *S. mutans*.

Kemampuan ekstrak daun katuk dalam meningkatkan aktivitas mikrobisida sel neutrofil dapat dilihat pada perbandingan antara kelompok K3 dengan K7. Pada kelompok K7 dimana koloni bakteri *S. mutans* yang diberikan ekstrak daun katuk 100% tanpa neutrofil terjadi penurunan jumlah koloni bakteri *S. mutans*, hal ini membuktikan bahwa ekstrak daun katuk mengandung daya antibakteri yang dapat membunuh dan mengurangi jumlah koloni bakteri *S. mutans*. Sedangkan pada kelompok K3 dimana neutrofil yang telah diinkubasi dengan ekstrak daun katuk 100% kemudian dipaparkan bakteri *S. mutans* juga menunjukkan penurunan jumlah koloni bakteri yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok K7. Hal ini membuktikan bahwa selain memiliki daya antibakteri, ekstrak daun katuk juga mengandung daya antioksidan yang diduga dapat meningkatkan aktivitas mikrobisida dari neutrofil untuk membunuh bakteri sehingga jumlah koloni bakterinya jauh lebih rendah dibandingkan dengan kelompok K7.

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Zuhra (2008), kandungan senyawa flavonoid yang terdapat pada daun katuk memiliki kemampuan sebagai antioksidan yang kuat. Menurut mekanisme kerjanya, flavonoid merupakan jenis antioksidan primer yang bekerja dengan pemutusan rantai reaksi radikal dengan mendonorkan atom hidrogen secara cepat pada suatu lipid yang radikal, produk yang dihasilkan lebih stabil dari produk inisial. Flavonoid akan memutus rantai reaksi propagasi dengan menyumbang elektron pada peroksi radikal dalam asam lemak (Trilaksani, 2003).

Selain itu, daun katuk juga memiliki kandungan vitamin C yang sangat tinggi yaitu 244mg/100 gram, jumlah ini sangat tinggi dibandingkan dengan jumlah kandungan vitamin C pada jeruk, papaya, jambu biji dan bayam yang sering disebut sebagai sumber vitamin C (Joniada, 2011). Vitamin C memiliki aktivitas sebagai antioksidan primer dengan pemutusan reaksi berantai dan memberikan atom hidrogen pada radi-

kal oksigen (*oxygen scavenger*) (Joniada, 2011). Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Mamdoudh dan Tarek (2000), vitamin C merupakan jenis antioksidan sekunder berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu dengan menghilangkan pengisian oksigen maupun nitrogen radikal yang akan membentuk suatu radikal bebas dengan cara mereduksi oksigen tanpa membentuk spesies radikal yang reaktif (Trilaksani, 2003).

Radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan sel sehingga mempengaruhi viabilitas atau keutuhan dari sel dan radikal bebas tersebut dapat bersumber dari luar dan dalam. Molekul stabil yang berada dekat dengan radikal bebas akan diambil elektronnya, sehingga zat tersebut akan menjadi tidak stabil dan membentuk radikal bebas untuk memulai proses pembentukan radikal bebas yang baru kembali dan proses ini akan berlanjut terus. Peningkatan jumlah radikal bebas ini menyebabkan suatu kondisi yang toksik melebihi pertahanan endogen yang disebut stress oksidatif, dimana stress oksidatif ini akan menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid yang merusak membran sel, lipoprotein dan struktur sel lainnya yang mengandung lipid. Hal ini dapat merusak membran sel dan mengakibatkan aktivitas biokimia dalam sel terganggu hingga dapat menyebabkan kematian sel (Winarsi, 2007; Baskin dan Salem, 1997).

Antioksidan mampu mengurangi kapasitas radikal bebas yang dapat menimbulkan kerusakan sel, sehingga sel akan dapat bertahan lebih lama dari proses kerusakan dan kematian (Mardawati, 2008). Hal tersebut menjelaskan pentingnya peranan antioksidan seperti flavanoid dan vitamin C dalam ekstrak daun katuk untuk memberikan proteksi pertahanan sel tubuh dari gangguan radikal bebas termasuk membantu fungsi dari neutrofil hingga dapat mencapai fungsi mikrobisidanya secara optimal.

Selain kandungan antioksidan yang bermanfaat dalam aktivitas mikrobisida sel neutrofil, daun katuk juga mengandung berbagai senyawa yang memiliki daya antibakteri. Diantaranya adalah, tanin, saponin dan alkaloid (Rukmana dan Harahap, 2003). Dalam penelitian ini, senyawa-senyawa tersebut juga diduga menyebabkan jumlah koloni *S. mutans* pada kelompok perlakuan lebih rendah bila dibandingkan dengan kelompok kontrol yang tidak diinkubasi dengan ekstrak daun katuk. Kandu-

ngan tanin pada daun katuk diduga dapat mengerutkan dinding sel atau membran sel bakteri, sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melanjutkan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati. Efek antibakteri tanin antara lain melalui reaksi dengan membran sel bakteri, inaktivasi enzim, dan destruksi atau inaktivasi fungsi materi genetik (Azizah, 2004). Kandungan saponin dapat meningkatkan permeabilitas membran sehingga dapat menyebabkan hemolisis sel. Ketika saponin berinteraksi dengan sel bakteri, maka sel bakteri akan lisis. Alkaloid dapat mengganggu terbentuknya komponen penyusun peptidoglikan pada bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian bakteri (Poelongan, 2010). Sedangkan kandungan flavonoid selain sebagai antioksidan, juga memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme kerja senyawa flavonoid diduga dapat mendenaturasikan protein sel bakteri dan merusak membran sel mikroba tanpa dapat diperbaiki lagi (Khalasha *et al.*, 2013)

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya potensi ekstrak daun katuk dalam meningkatkan aktivitas mikrobisida neutrofil dibandingkan dengan kelompok tanpa inkubasi ekstrak daun katuk. Konsentrasi ekstrak daun katuk yang paling efektif adalah 100% dan juga dari hasil penelitian dapat menunjukkan jika semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun katuk, maka semakin rendah jumlah koloni bakteri *S. mutans*. Hal tersebut didukung oleh pernyataan Pelczar dan Chan (1988) bahwa salah satu faktor yang mempengaruhi aktivitas bahan antimikroba adalah konsentrasi bahan tersebut, bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu zat antimikroba maka akan semakin cepat pula sel mikroba mati atau terhambat pertumbuhannya. Dengan konsentrasi ekstrak yang semakin tinggi maka kandungan senyawa ataupun zat antibakterinya juga akan semakin banyak. Selain itu, dalam penelitian ini juga membuktikan bahwa ekstrak daun katuk dapat meningkatkan aktivitas mikrobisida sel neutrofil. Hal ini disebabkan oleh senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun katuk memiliki daya antioksidan yang bekerja dengan mengurangi kapasitas radikal bebas yang dapat menimbulkan kerusakan sel dan membuat sel neutrofil akan dapat

bertahan lebih lama dari proses kerusakan dan kematian, sehingga dapat memaksimalkan kinerja dari sel neutrofil dalam memfagosit bakteri atau partikel asing.



BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa ekstrak daun katuk dapat meningkatkan aktivitas mikrobisida sel neutrofil yang dipapar *S. mutans*, dan yang paling efektif adalah konsentrasi ekstrak daun katuk 100% apabila dibandingkan dengan konsentrasi lainnya.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini, maka ada beberapa saran yang dapat diajukan yaitu :

- a. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai biokompabilitas ekstrak daun katuk terhadap jaringan di rongga mulut.
- b. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut secara *in vivo*, mengenai aplikasi klinis ekstrak daun katuk sebagai obat yang mampu meningkatkan aktivitas mikrobisida sel neutrofil.

DAFTAR PUSTAKA

- Admadi, Soeroso. 2007. Sitokin. *Jurnal Oftalmologi Indonesia* Vol. 5(3)
- Ainsyah. 2015. “Uji Efek Immunostimulan Ekstrak Metanol Daun Flamboyan (*Delonix regia (Boj. ex Hook) Raf.*) terhadap Peningkatan Sel-sel Imun pada Mencit *Strain Swiss-Webstes*”. Tidak Diterbitkan. Skripsi. Banda Aceh: FMIPA-Biologi Universitas Syiah Kuala
- Ajizah, A. 2004. Sensitivitas *Salmonella typhium* terhadap Ekstrak Daun *Psidium Guajava L.* *Bioscience*. Vol. 48
- Akiyama, H., Fujii, K., Yamasaki, O., Oono, T., Iwatsuki, T. 2001. Antibacterial Action of Several Tannins Against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. Vol. 48
- Anita, Nur Yuni. 2011. “Uji Efektifitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun *Vitex pinnatifida* terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Escherichia*, *Proteus vulgaris* dan *Shigella sonnei*”. Tidak Diterbitkan. Skripsi. Samarinda: Fakultas Kedokteran Universitas Mulawarman.
- Azis, Sriana., Muktiningsih, S. R. 2006. Studi Manfaat Daun Katuk (*Sauropus androgynus (L.) Merr.*). *Cermin Dunia Kedokteran* No. 151. Jakarta: Kalbe Farma
- Azzahra, H. 2014. “Potensi Rebusan Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*) Buatan Pabrik Terhadap Peningkatan Aktivitas Mikrobisidal Sel Neutrofil yang dipapar *Streptococcus mutans*”. Tidak Diterbitkan. Skripsi. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
- Baskin, S. I. & Salem, H. 1997. *Oxidants, Antioxidants and Free Radicals*. Washington: Taylor and Francis.
- Bidarisugma, Berlian., Timur, Sekar Putri., Purnamasari, Rizki. 2012. Antibodi Monoklonal *Streptococcus mutans* 1 (c) 67 kDa sebagai Imunisasi Pasif dalam Alternatif Pencegahan Karies Gigi secara Topikal. *BIMKGI*. Vol. 1(1).
- Bloom, William., Fawcett, Don W. 2002. *Buku Ajar Histologi Bloom & Fawcett*. Edisi 12. Terjemahan oleh Jan Tambayong. Jakarta: EGC
- Dalimartha, S. dan Soedibyo M. 1999. *Awet Muda dengan Tumbuhan Obat dan Diet Suplemen*. Jakarta: Trubus Agriwidya

- Departemen Kesehatan RI. 2010. *Buku Pedoman pelayanan Gizi Rumah Sakit (PGRS)*. Jakarta: Direktorat Jendral Pelayanan Medik
- Forssten, S.D., Björklund, M., dan Ouwehand A.C. 2010. *Streptococcus mutans, Caries and Simulation Models. Journal of Nutrients*. Vol. 2 (1)
- Grossman, L. I., Oliet, S., & Rio, C.E. D. 1995. *Ilmu Endodotik dalam Praktek*. Edisi 11. Terjemahan oleh Rafiah Abyono. Jakarta: EGC
- Guyton A.C. & Hall J.E., 2008. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Guyton & Hall*. Terjemahan oleh Irawati *et al.* Edisi 11. Jakarta: EGC
- Jawetz, Melnick., Adelberg's. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 20. Terjemahan oleh Edi Nugroho & RF Maulany. Jakarta: EGC
- Jawetz, Melnick., Adelberg's. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 23. Terjemahan oleh Huriwati Hartanto. Jakarta: EGC
- Joniada, I Made Wisnu. 2011. "Pengaruh Pemberian Ekstrak (*Sauropus androgynus* L.) Sebagai Hepatoprotektor Pada Mencit Yang Diinduksi Paracetamol". Tidak Diterbitkan. Skripsi. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember
- Junqueira, Luiz Carlos & Carneiro, Jose. 2007. *Histologi Dasar, Teks & Atlas*. Edisi 10. Terjemahan oleh Jan Tambayong: Jakarta.
- Khalasha, Takhta. 2013. "Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L). Merr.) sebagai Antibakteri terhadap *Methicillin Resistant Staphilococcus aureus* (MRSA) secara *In Vitro*". Tidak Diterbitkan. Skripsi. Malang : Fakultas Keokteran Universitas Brawijaya
- Kidd, Edwina A. M., Joyston, Sally., & Bechal. 1992. *Dasar-dasar Karies Penyakit dan Penanggulangannya*. Alih bahasa oleh Nurlan Suwamitra., Safrida faruk. Jakarta: EGC
- Kumalaningsih, S. 2007. *Antioksidan Alami*. Surabaya: Trubus Buana
- Mamdoudh, TR. 2000. Action of Vitamin C Againts Acetaminophen-Induced Hepatorenal Toxicity in Rats. *Journal of Toxicology*. Vol. 19
- Mangoenprasodjo, S.A. 2004. *Gigi Sehat Mulut Terjaga*. Yogyakarta: Think Fresh
- Mardawati, E. S. T. P., Achyar, C. S., & Marta, H. 2008. "Kajian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dalam Rangka

- Pemanfaatan Limbah Kulit Manggis di Kecamatan Puspahiang Kabupaten Tasikmalaya". Tidak Diterbitkan. Laporan Penelitian. Bandung: Fakultas Teknologi Industri Pertanian Universitas Padjajaran
- Masduki, I. 1996. Efek Antibakteri Ekstrak Biji Pinang (*Arecha catechu*) terhadap *S. aureus* dan *E. Coli*. *Cermin Dunia Kedokteran*. No. 109
- Masella, R., Benedetto, R.D., Vari, R., Filesi, C., Giovannini, C. 2005. Novel Mechanism of Natural Antioxidant Compound in Biological Systems: Involvement of Glutathione and Glutathione-Related Enzymes. *Journal of National Biochemistry*. Vol. 16
- Nenden, S., Anny, N. T., Astuti, S., Pujiastuti, F., Nila. 2007. Penentuan Indeks Kepedasan, Indeks Pengembangan, dan Kadar Tanin dalam Simplisia. (online) (<http://hub.indonesiادل.net/download.php?id=167>, diakses tanggal 1 September 2014)
- Notoatmodjo dan soekidjo. 2005. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: PT. Rineka Cipta
- Pelczar, M. J dan E. C. S Chan. 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Universitas Indonesia Press
- Poeloengan, M., Pratiwi. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* Linn). *Media Penelitian Kesehatan*. Vol. 20 (2)
- Pourmourad, F., Husseinimehr, S. J., Shahabimaj, N. 2006. Antioxidant Activity, Phenol and Flavonoid Contents of Some Selected Iranian Medical Plants. *African journal of biotechnology*. Vol. 5(11)
- Pratama, M. 2005. Pengaruh Ekstrak Serbuk Kayu Siwak (*Salvadora Persica*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus* dengan Metode Dilusi Agar. Tidak diterbitkan. Skripsi. Surabaya: Program Studi Biologi FMIPA ITS
- Pratiwi, E.R., 2007. Aktivitas Anti Jamur dari Ekstrak Batang Secang (*Caesalpinia sappan* L.). Tidak Diterbitkan. Skripsi. Samarinda: Fakultas Kedokteran Universitas Mulawarman
- Purnamasari, Devi A., Munadziroh, Elly., Yogiartono, R.M. 2010. Konsentrasi Ekstrak Biji Kakao Sebagai Material Alam dalam Menghambat *Streptococcus mutans*. *Jurnal PDGI* Vol. 59(1). Surabaya : FKG UNAIR

- Purwanto. 2010. *Hubungan Streptococcus mutans dengan Penyakit Arterotrombotik*. Jember: Jember University Press
- Revilla, G., Yanwirasti., Indrama E. 2008. Efek Immunomodulasi Senyawa Flavonoid Kencur (*Kaempferia galangal L.*) terhadap Kemampuan Mikrobisidal Sel Neutrofil secara *In vitro*. *Majalah Kedokteran Andalas*. Vol. 32(1)
- Rijayanti, Rika Pratiwi., Luliana, Sri., Trianto, Heru F. 2014. “Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida L.*) terhadap *Staphylococcus aureus* secara *In vitro*”. Tidak Diterbitkan. Naskah Publikasi. Pontianak: Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura
- Risnasari, I. 2001. Pemanfaatan Tanin Sebagai Bahan Pengawet Kayu. Tidak Diterbitkan. Skripsi. Medan : Universitas Sumatera Utara
- Rukmana, H. Rahmat., Harahap, Indra Mukti. 2003. *Katuk Potensi dan Manfaatnya*. Yogyakarta: Kanisius
- Siregar, Jon U.P. 2007.”Efek Anti Bakteri Ekstrak Etanol Batang Sopang (*Caesalpinia sapan L.*) terhadap *Shigellasonnei*”. Tidak Diterbitkan. Skripsi. Samarinda: Fakultas Kedokteran Universitas Mulawarman.
- Slomianka, Lutz. 2009. Blue Histology-Blood. School of Anatomy and Human Biology – The University of Western Australia. (online) (<http://www.lab.anhb.uwa.edu.au/mb140/corepages/blood/blood.html> diakses tanggal 11 April 2015)
- Soesilo, D., Santoso, Rinna E., dan Diyatri, I. 2005. Peranan Sorbitol dalam Mempertahankan Kestabilan pH Saliva pada Proses Pencegahan Karies. *Maj.Ked. Gigi (Dent. J.)*, Vol.38(1). Surabaya : UNAIR
- SP, Elly. 2015. Khasiat Daun Katuk Yang Harus Diketahui. (online) (<http://www.deherba.com/khasiat-daun-katuk-yang-harus-diketahui.html> diakses tanggal 11 April 2015)
- Sundoro, Edi Hartini. 2005. *Serba-serbi Ilmu Konservasi Gigi*. Jakarta: UI-Press Vol. 13(2). Surabaya: UNAIR
- Supranto, J. 2000. *Teknik Sampling untuk Survei dan Eksperimen*. Jakarta: PT. Rieneka Cipta.

- Takashi, Miyako & Takayuni, Shibimoto. 1997. Antioxidant Activites of Natural Compound Found in Plant. *J. Agric Food Chem.* Vol. 45
- Trilaksani, W. 2003. *Antioksidan: Jenis, Sumber, Mekanisme Kerja, dan Peran terhadap Kesehatan.* Bogor: Institut Pertanian Bogor
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas.* Yogyakarta: Kanisius
- Wiradimadja, Rachmat., Burhanuddin, Handi., & Saeful, Deny Hadjar. 2006. Peningkatan Kadar Vit. A pada Telur Ayam melalui Penggunaan Daun Katuk (*Sauropus androgynus (L). Merr.*) dalam Ransum. *Jurnal Ilmu Ternak* Vol. 6(1). Bandung: Fakultas Peternakan UNPAD
- Yendriwati, H. 2008. Efek Antibakteri Sediaan Daun Sirih (*Piper betel L.*), Obat Kumur Minyak Essensial dan Povidone Iodine 1% terhadap *Streptococcus mutans.* *Maj. Ked. Gigi (Dent. J).* Vol. 13(2)
- Zuhra, Cut F., Tarigan, Juliati Br., Sihotang, Herlince. 2008. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Katuk (*Sauropus androgynus (L). Merr.*). *Jurnal Biologi Sumatera.* Vol. 3 (1)

Lampiran

Lampiran A. Hasil Analisis Data

A.1 Uji Normalitas Kolmogorov Smirnov

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		koloni
N		28
Normal Parameters(a,b)	Mean	155,3214
	Std. Deviation	68,16541
Most Extreme Differences	Absolute	,127
	Positive	,127
	Negative	-,111
Kolmogorov-Smirnov Z		,673
Asymp. Sig. (2-tailed)		,756

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

A.2 Uji Homogenitas Levene Test

Test of Homogeneity of Variances

koloni

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,362	6	21	,067

A.3 Uji Oneway Anova

ANOVA

koloni

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	124409,857	6	20734,976	416,186	,000
Within Groups	1046,250	21	49,821		
Total	125456,107	27			

A.4 Uji LSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound
k 1	k 2	-213,25000(*)	4,99106	,000	-223,6295	-202,8705
	k 3	-19,25000(*)	4,99106	,001	-29,6295	-8,8705
	k 4	-62,00000(*)	4,99106	,000	-72,3795	-51,6205
	k 5	-86,75000(*)	4,99106	,000	-97,1295	-76,3705
	k 6	-117,50000(*)	4,99106	,000	-127,8795	-107,1205
	k 7	-40,75000(*)	4,99106	,000	-51,1295	-30,3705
k 2	k 1	213,25000(*)	4,99106	,000	202,8705	223,6295
	k 3	194,00000(*)	4,99106	,000	183,6205	204,3795
	k 4	151,25000(*)	4,99106	,000	140,8705	161,6295
	k 5	126,50000(*)	4,99106	,000	116,1205	136,8795
	k 6	95,75000(*)	4,99106	,000	85,3705	106,1295
	k 7	172,50000(*)	4,99106	,000	162,1205	182,8795
k 3	k 1	19,25000(*)	4,99106	,001	8,8705	29,6295
	k 2	-194,00000(*)	4,99106	,000	-204,3795	-183,6205
	k 4	-42,75000(*)	4,99106	,000	-53,1295	-32,3705
	k 5	-67,50000(*)	4,99106	,000	-77,8795	-57,1205
	k 6	-98,25000(*)	4,99106	,000	-108,6295	-87,8705
	k 7	-21,50000(*)	4,99106	,000	-31,8795	-11,1205
k 4	k 1	62,00000(*)	4,99106	,000	51,6205	72,3795
	k 2	-151,25000(*)	4,99106	,000	-161,6295	-140,8705
	k 3	42,75000(*)	4,99106	,000	32,3705	53,1295
	k 5	-24,75000(*)	4,99106	,000	-35,1295	-14,3705
	k 6	-55,50000(*)	4,99106	,000	-65,8795	-45,1205
	k 7	21,25000(*)	4,99106	,000	10,8705	31,6295
k 5	k 1	86,75000(*)	4,99106	,000	76,3705	97,1295
	k 2	-126,50000(*)	4,99106	,000	-136,8795	-116,1205
	k 3	67,50000(*)	4,99106	,000	57,1205	77,8795
	k 4	24,75000(*)	4,99106	,000	14,3705	35,1295
	k 6	-30,75000(*)	4,99106	,000	-41,1295	-20,3705
	k 7	46,00000(*)	4,99106	,000	35,6205	56,3795
k 6	k 1	117,50000(*)	4,99106	,000	107,1205	127,8795
	k 2	-95,75000(*)	4,99106	,000	-106,1295	-85,3705
	k 3	98,25000(*)	4,99106	,000	87,8705	108,6295
	k 4	55,50000(*)	4,99106	,000	45,1205	65,8795
	k 5	30,75000(*)	4,99106	,000	20,3705	41,1295
	k 7	76,75000(*)	4,99106	,000	66,3705	87,1295
k 7	k 1	40,75000(*)	4,99106	,000	30,3705	51,1295
	k 2	-172,50000(*)	4,99106	,000	-182,8795	-162,1205
	k 3	21,50000(*)	4,99106	,000	11,1205	31,8795

	k 4	-21,25000(*)	4,99106	,000	-31,6295	-10,8705
	k 5	-46,00000(*)	4,99106	,000	-56,3795	-35,6205
	k 6	-76,75000(*)	4,99106	,000	-87,1295	-66,3705

Multiple Comparisons

* The mean difference is significant at the .05 level.

A.5 Uji Korelasi Pearson

Correlations

		Konsentrasi ekstrak daun katuk	Koloni Bakteri
Konsentrasi ekstrak daun katuk	Pearson Correlation	1,000	-,955*
	Sig. (2-tailed)	,	,000
	N	20	20
Koloni Bakteri	Pearson Correlation	-,955**	1,000
	Sig. (2-tailed)	,000	,
	N	20	20

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

A.6 Analisis Regresi Linier Sederhana

Descriptive Statistics

	Mean	Std. Deviation	N
Koloni Bakteri	178,25	67,75	20
Konsentrasi ekstrak daun katuk	50,00	36,27	20

Correlations

		Koloni Bakteri	Konsentrasi ekstrak daun katuk
Pearson Correlation	Koloni Bakteri	1,000	-,955
	Konsentrasi ekstrak daun katuk	-,955	1,000
Sig. (1-tailed)	Koloni Bakteri	,	,000
	Konsentrasi ekstrak daun katuk	,000	,
N	Koloni Bakteri	20	20
	Konsentrasi ekstrak daun katuk	20	20

Variables Entered/Removed^a

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	Konsentrasi ekstrak daun katuk ^a	,	Enter

- a. All requested variables entered.
- b. Dependent Variable: Koloni Bakteri

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	,955 ^a	,912	,907	20,62

- a. Predictors: (Constant), Konsentrasi ekstrak daun katuk

ANOVA^b

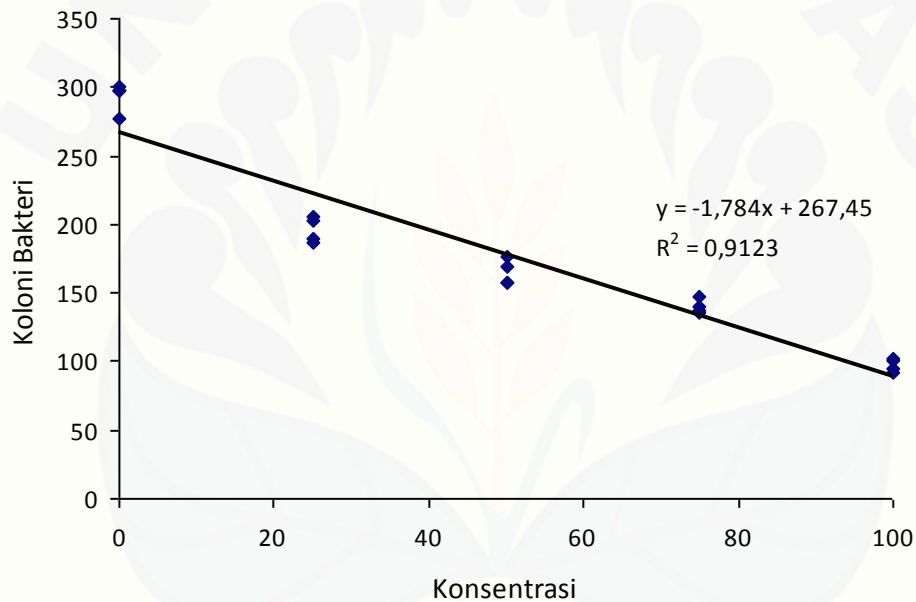
Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	79566,400	1	79566,400	187,182	,000 ^a
	Residual	7651,350	18	425,075		
	Total	87217,750	19			

- a. Predictors: (Constant), Konsentrasi ekstrak daun katuk
- b. Dependent Variable: Koloni Bakteri

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	267,450	7,985		33,494	,000
	Konsentrasi ekstrak daun katuk	-1,784	,130	-,955	-13,681	,000

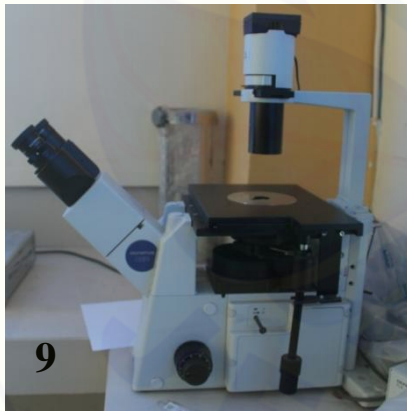
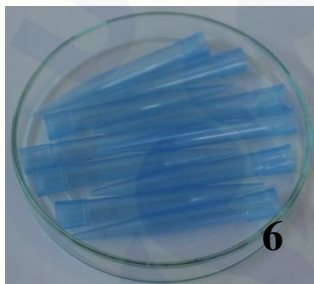
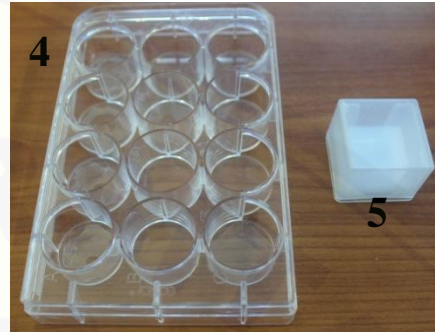
a. Dependent Variable: Koloni Bakteri



Keterangan: Grafik menunjukkan hubungan antara penambahan konsentrasi (sumbu x) akan berpengaruh pada penurunan jumlah koloni bakteri (sumbu y). Setiap kenaikan ekstrak daun katuk 1% maka terjadi penurunan jumlah koloni sebesar 1,784 cfu/ml.

Lampiran B. Foto Alat dan Bahan Penelitian

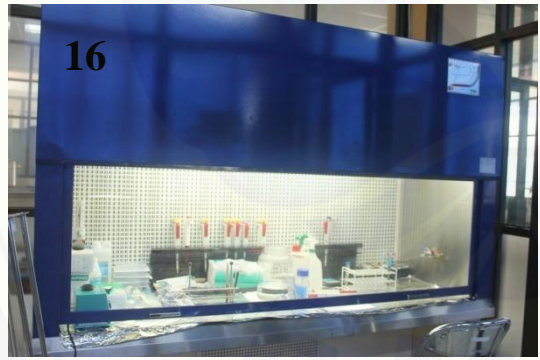
B.1 Foto Alat Penelitian



Keterangan:

1. Jas Lab
2. Handscoon
3. Masker
4. Microplate
5. Cover slip

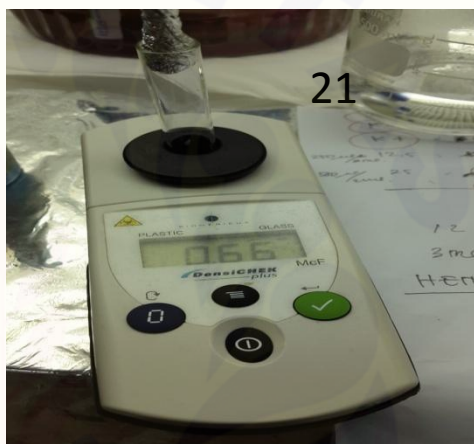
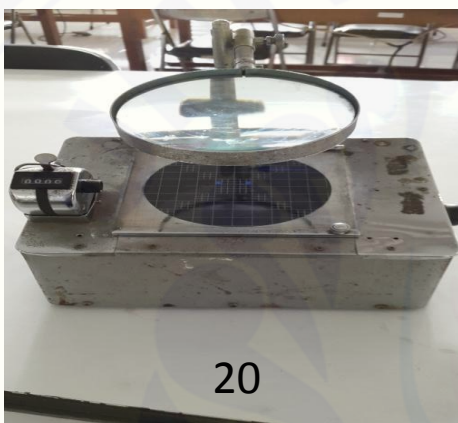
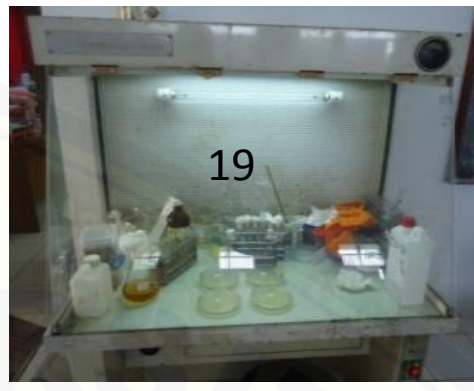
6. Blue Tip
7. Yellow Tip
8. Incubator Shaker
9. Mikroskop Inverted
10. Vortex



Keterangan:

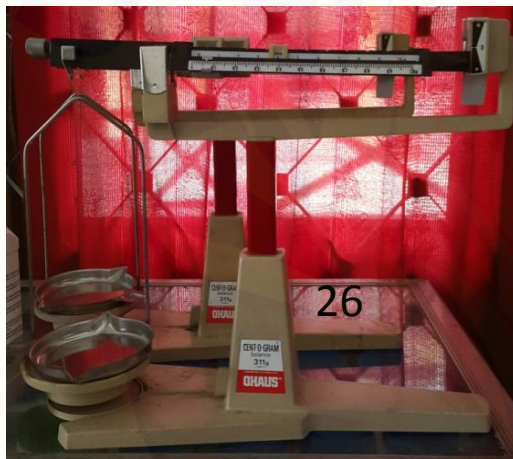
- 11. Disposable Syringe
- 12. Centrifuge
- 13. Syringe Filter
- 14. UV Sterilization

- 15. Tabung Falcon
- 16. Laminar Flow Cabinet
- 17. Micro Pipette



Keterangan :

- | | | |
|------------------|--------------------|-----------------------|
| 18. Autoclave | 20. Colony counter | 22. Desikator |
| 19. Laminar Flow | 21. Densichек | 23. Rotary Evaporator |



Keterangan :

24. *Shaker bath*

25. Tabung Heparin

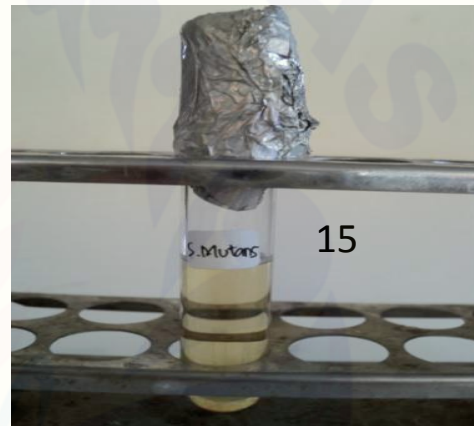
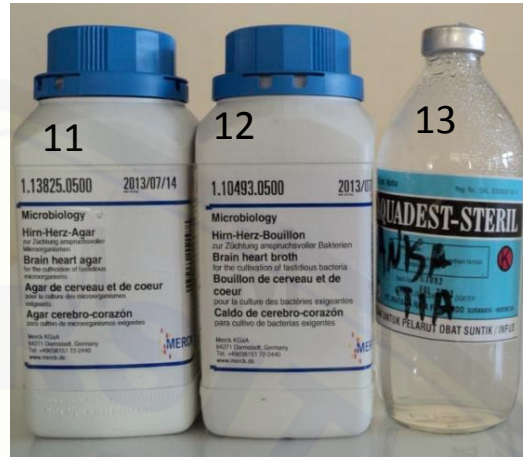
26. Timbangan

B.2. Foto Bahan Penelitian



Keterangan:

- | | |
|-----------------------------------|--|
| 1. Daun Katuk Kering | 6. <i>Penicillin Streptomycin</i> |
| 2. Alkohol 70% | 7. <i>Fungizone Amphotericin B</i> |
| 3. <i>Medium Complete RPMI</i> | 8. <i>Hank Balanced Salt Solution (HBSS)</i> |
| 4. <i>Medium Complete M199</i> | 9. <i>Histopaque 1119</i> |
| 5. <i>Ficoll Hypaque Gradient</i> | |



Keterangan :

10. Ekstrak Daun Katuk 100%

11. BHI-A

12. BHI-B

13. Aquades steril

14. Pewarna Gram

15. Suspensi *S. mutans*

Lampiran C. Surat Keterangan Determinasi Tanaman Katuk



DINAS KESEHATAN PROVINSI JAWA TIMUR
UPT MATERIA MEDICA
 Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396 Batu (65313)
KOTA BATU

Nomor : 074 / 332/ 101.8 / 2014
 Sifat : Biasa
 Perihal : **Surat Keterangan Determinasi Tanaman Katuk**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : MAULIDA NUSANTARI
 NRP : 111610101035
 Fakultas : KEDOKTERAN GIGI
 UNIVERSITAS JEMBER

1. Perihal determinasi tanaman katuk

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
 Subkingdom: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
 Super Divisi: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
 Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
 Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
 Sub Kelas : Rosida
 Ordo : Euphorbiales
 Famili : Euphorbiaceae
 Genus : Euphorbia
 Species : *Sauropus androgynus* (L.) Merr.
 Sinonim : *Sauropus albicus* BL. *Sauropus sumatranus* Miq *Sauropus indicus* Wight.

Katuk, memata (Melayu), simani (Minang)

Kunci determinasi : 1b - 2b - 3b- 4b - 6b -7 b- 9 b- 10b -11b - 12b -13b - 14b - 15 a - 109b - 119b - 120a - 121 b - 124 b - 125 b - 239 a - 240 b - 241a

2. **Morfologi** : Tanaman perdu, tinggi 2-5 meter. Batang berkayu, bulat, bekas daun tampak jelas, tegak, daun muda berwarna hijau dan setelah tua berwarna cokelat kehijauan. Daun majemuk, bulat telur, ujung runcing, pangkal tumpul, tepi rata, panjang 1-6 cm, lebar 1-4 cm, pertulangan menyirip, warna hijau. Bunga majemuk bentuk payung di ketiak daun, mahkota bulat telur, warna ungu. Buah buni, bulat, beruang tiga, diameter lebih kurang 1,5 mm, warna hijau keputih-putihan.

3. **Nama Simplisia** : Sauropi Folium/ Daun Katuk.

4. **Kandungan** : Senyawa steroid dan senyawa polifenol. Daun Katuk mengandung protein, serat kasar, vitamin K, provitamin A (betakaroten) , Vit B dan C. Mineral : kalsium , kalium, besi, magnesium, fosfor dan juga alkaloid papaverine.

5. **Penggunaan** : Penelitian

6. **Daftar Pustaka** :

- Anonim , <http://www/ipteknet.net.id/katuk>, diakses tanggal 21 Oktober 2010
- Anonim , <http://www/plantamor.co.id/katuk>, diakses tanggal 15 desember 2010
- Anonim, <http://www/warintek.ristek.go.id/katuk>, diakses tanggal 1 Desember 2010
- Anonim, <http://www/wikipediaindonesia.cco.id//katuk>, diakses tanggal 19 Maret 2010
- Steenis,CGGJ Van Dr , *FLORA*, 2008, Pradnya Paramita , Jakarta
- Syamsuhidayat, Sri sugati, Hutapea, Johny Ria.1991, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia I* , Departemen Kesehatan Republik Indonesia : Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan.

Demikian surat keterangan ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.



Lampiran D. Surat Keterangan Prosedur Ekstraksi Tanaman Katuk



DINAS KESEHATAN PROVINSI JAWA TIMUR
UPT MATERIA MEDICA
 Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396 Batu (65313)
KOTA BATU

Nomor : 074 / 333/ 101.8 / 2014
 Sifat : Biasa
 Perihal : Surat Keterangan Ekstraksi Tanaman Katuk

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : MAULIDA NUSANTARI
 NRP : 111610101035
 Fakultas : KEDOKTERAN GIGI
 UNIVERSITAS JEMBER

Kami menerangkan bahwa yang bersangkutan telah melakukan ekstraksi untuk bahan penelitian dari tanaman **KATU** (*Sauropus androgynus* L). Adapun proses pembuatan di lakukan di Laboratorium Fitokimia UPT Materia Medica Batu dengan perincian sebagai berikut :

Bahan	: Serbuk Daun katuk Etanol 96 % Kertas saring	
Alat	: Toples bertutup Corong gelas Timbangan analitik Gelas ukur Botol Waterbath	Erlenmeyer Rotary evaporator Beaker glass Alkoholmeter Shaker digital

Cara Kerja :

1. Timbang serbuk daun katuk sebanyak 450g
2. Lakukan pembasahan serbuk dengan pelarut Etanol 96 % sebanyak 500 ml.
3. Masukkan serbuk daun katuk yang telah dibasahi dengan pelarut ke dalam toples, diratakan dan sambil ditambahkan pelarut Etanol 96% sampai serbuk terendam (pelarut yang digunakan minimal 2 kali berat serbuk atau lebih , jadi total yang digunakan sebanyak 1500 ml . Tutup toples dengan rapat dan 24 jam. Sambil di shaker dengan putarn 50 Rpm.
4. Saring ekstrak cair dan tampung ekstrak dalam Erlenmeyer./ botol Ampas, dimasukkan lagi dalam toples dan tambahkan pelarut sampai terendam(minimal pelarut 5cm diatas permukaan serbuk), dalam hal ini digunakan 1500 ml.
5. Biarkan semalam 24 jam dan dishaker .
6. Saring lagi ekstrak cair dan tampung dengan ekstrak cair yang pertama.
7. Remaserasi dilakukkann sampai filtrak/ ekstrak lebih jernih (dalam hal ini diulang hingga 5 kali)
8. Hasil ekstrak cair pertama sampai dengan terakhir, di jadikan satu dan di uapkan dengan menggunakan rotary evaporator sampai mengental. Penguapan dengan rotary evapotaror memerlukan waktu 4,5 jam .
9. Dalam hal ini proses pengentalan dihentikan sampai ekstrak cair kadar Etanol sudah 0% (dilihat dengan alat alcoholmeter)
10. Kemudian ekstrak cair kental di uapkan lagi diatas waterbath suhu 80°C selama 2 hari sampai ekstrak menjadi kental /pasta

Hasil :

1. Dari serbuk daun katuk 450g dan diekstraksi menggunakan pelarut Etanol 96 % sebanyak 6300 ml liter dihasilkan ekstrak cair sebanyak 6 liter
2. Ekstrak cair yang didapat dikentalkan sampai Etanol 0 %, didapatkan ekstrak kental daun katuk sebanyak ± 106 g

Demikian surat keterangan ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 14 Oktober 2014
 Kepala UPT Materia Medica Batu

 Dra. Husni RM Apt. MKes.
 NIP.196111021991031003

Lampiran E. Surat Keterangan Data Hasil Ekstraksi



DINAS KESEHATAN PROVINSI JAWA TIMUR
UPT MATERIA MEDICA
Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396 Batu (65313)
KOTA BATU

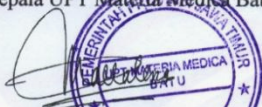
DATA HASIL EKSTRAKSI

Nomor : 074 / 333-B/ 101.8 / 2014

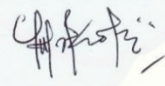
Nama : MAULIDA NUSANTARI
NRP : 111610101035
Fakultas : KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS JEMBER
Tanggal proses : 27 Oktober 2014
Bahan : Daun katu (*Sauropus androgynus* L).
Pelarut : Etanol 96 %
Metode Ekstraksi : Maserasi berulang
Hasil : 106 g

Batu, 7 Nopember 2014

Mengetahui
Kepala UPT Materia Medica Batu


Drs. Husin R.M. Apt., MKes
NIP.19611102 1983031 001

Petugas Laboratorium


Chusnul Kotimah, Amd.
NIP.19611102 199103 1 003

Lampiran F. Surat Keterangan Identifikasi Bakteri

LABORATORIUM MIKROBIOLOGI
BAGIAN BIOMEDIK KEDOKTERAN GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER

SURAT KETERANGAN
No. 056 / SKET /MIKRO /2014

Sehubungan dengan keperluan identifikasi mikroorganisme, maka kami menerangkan bahwa mahasiswa berikut :

Nama : Maulida Nusantari
NIM : 111610101035
Fakultas : Kedokteran Gigi
Keperluan : Skripsi

Telah melakukan uji identifikasi terhadap isolat *Streptococcus mutans*, hasil uji identifikasi secara mikroskopis dengan pewarnaan Gram menunjukkan bakteri *Streptococcus* gram positif

Jember, 10 Desember 2014

Mengetahui,

Ketua Bagian Biomedik Kedokteran Gigi

Penanggung Jawab Laboratorium Mikrobiologi

Prof. Dr. drg. I. Dewa Ayu Ratna D, M.Si.
NIP. 1967050219907022001

drg. Pujiana Endah Lestari, M. Kes.
NIP. 197608092005012002

Lampiran G. Surat Keterangan Sertifikat Bakteri



KEMENTERIAN KESEHATAN RI
DIREKTORAT JENDERAL BINA UPAYA KESEHATAN
BALAI BESAR LABORATORIUM KESEHATAN SURABAYA

Jalan Karangmenjangan No. 18 Surabaya - 60286
 Telepon Pelayanan : (031) 5020306, TU : (031) 5021451 Faksimili : (031) 5020388
 Website : bbksurabaya.com : Surat elektronik : bblksub@yahoo.co.id

Untuk Anda
 Kami memberikan yang terbaik.

Nomor Lab : L14007988 / 285 N	Dokter : drg. Tutik
Jenis Bahan : Biakan	Alamat : FKG UNAIR
Diperiksa : Kultur secara automatic (Vitek 2)	Penderita : -
Diterima tgl. : 01-07-2014	Kelamin : - Umur : -
Selesai tgl. : 03-07-2014	Alamat : -

Kultur :
Hasil Terlampir

Pemeriksa :	Catatan	Manajer Teknis. dr. Nanang Abdul Ghafur NIP 198109232010121601
-------------	---------	--

Name: _____ Patient ID: _____
 In: _____ Physician: _____
 of Strep. mutans Isolate Number: 1
 Selected Organism : Streptococcus mutans
 Source: _____ Collected: _____

Comments: _____

Identification Information	Analysis Time: 6.00 hours	Status: Final
Selected Organism	96% Probability	Streptococcus mutans
Organism Quantity:	Bionumber:	140001164653531
ID Analysis Messages		

Biochemical Details																	
2	AMY	+	4	PIPLC	-	5	dXYL	-	8	ADH1	-	9	BGAL	-	11	AGLU	+
13	APPA	-	14	CDEX	-	15	AspA	-	16	BGAR	-	17	AMAN	-	19	PHOS	-
20	LeuA	(-)	23	ProA	-	24	BGURr	-	25	AGAL	+	26	PyrA	-	27	BGUR	-
28	AlaA	+	29	TyrA	-	30	dSOR	-	31	URE	-	32	POLYB	+	37	dGAL	+
38	dRIB	-	39	ILATK	-	42	LAC	+	44	NAG	-	45	dMAL	+	46	BACI	+
47	NOVO	+	50	NC6.5	-	52	dMAN	+	53	dMNE	+	54	MBdG	+	56	PUL	-
57	dRAF	+	58	O129R	-	59	SAL	+	60	SAC	+	62	dTRE	+	63	ADH2s	-
64	OPTO	+															



Lampiran H. Surat Pernyataan (*Informed Consent*)**SURAT PERNYATAAN**
INFORMED CONSENT

SAYA YANG BERTANDA TANGAN DIBAWAH:

NAMA : Mohamma d Harish

NIM : 111610101053

UMUR : 23

JENIS KELAMIN : laki-laki

ALAMAT : Jl. Batu Reden II /No .007

MENYATAKAN BERSEDIA MENJADI SAMPEL DARI:

NAMA : MAULIDA NUSANTARI

NIM : 111610101035

FAKULTAS : KEDOKTERAN GIGI

ALAMAT : JL. MASTRIP 2 NO.36 JEMBER

DALAM RANGKAIAN PROSES PEMBUATAN KARYA TULIS ILMIAH DENGAN JUDUL “**POTENSI EKSTRAK DAUN KATUK (*Sauropus androgynus (L. Merr.)* TERHADAP AKTIVITAS MIKROBISIDA SEL NEUTROFIL YANG DIPAPAR *Streptococcus mutans*” DENGAN SEBENAR - BENARNYA TANPA SUATU PAKSAAN DARI PIHAK MANAPUN.**


JEMBER, 29 November 2015

PENELITI



(MAULIDA HUSANTARI)

YANG MENYATAKAN



(MOHAMMA D HARISH)

Lampiran I. Dokumentasi Saat Penelitian



Foto 1. Pengambilan darah

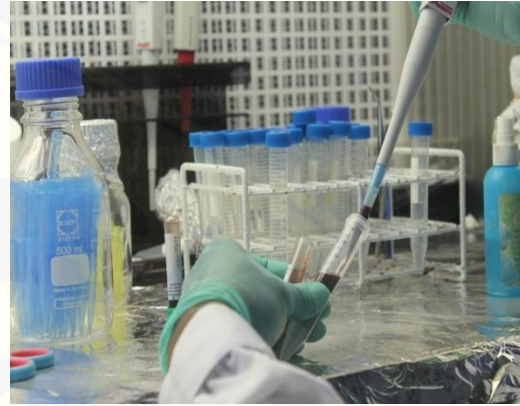


Foto 2. Memasukkan darah pada falcon

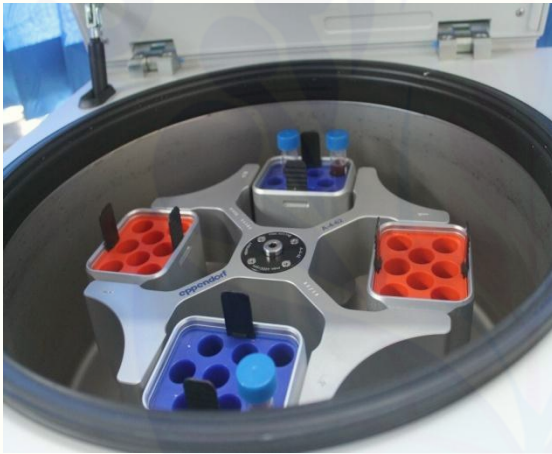


Foto 3. Sentrifugasi selama 30 menit

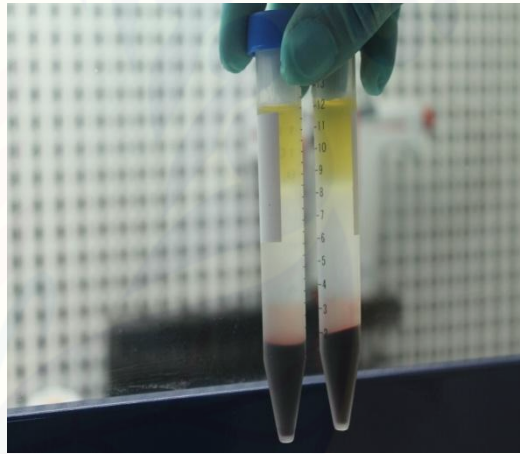


Foto 4. Terbentuk 6 lapisan darah

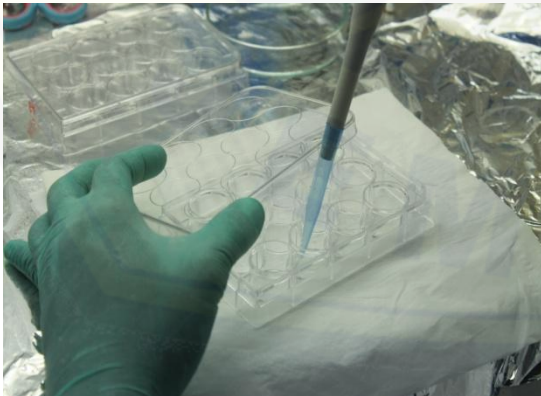


Foto 5. Pemandahan neutrofil pada microplate



Foto 6. Pemberian media RPMI

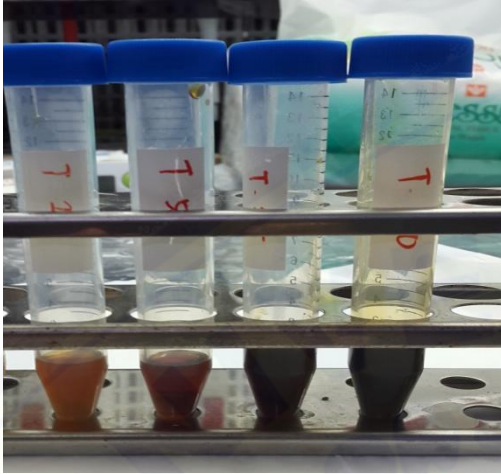


Foto 7. Pengenceran ekstrak daun katuk

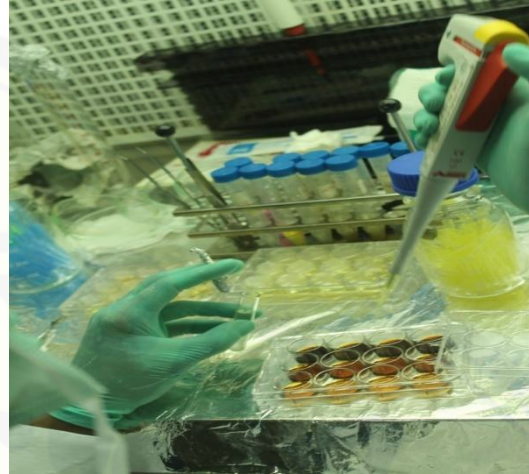


Foto 8. Penambahan *S.mutans*



Foto 9. Inkubasi pada *incubator shaker*



Foto 10. Penanaman pada media BHI-A



Foto 11. *Petridish* di dalam desikator

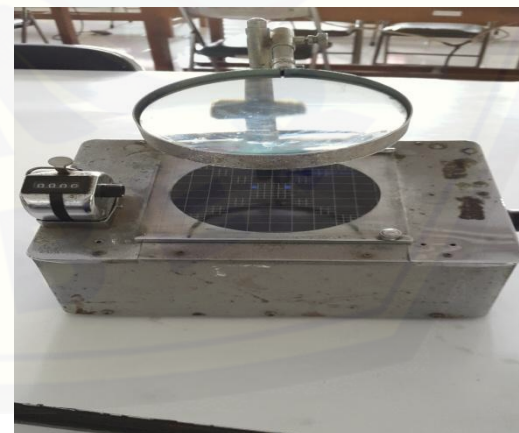
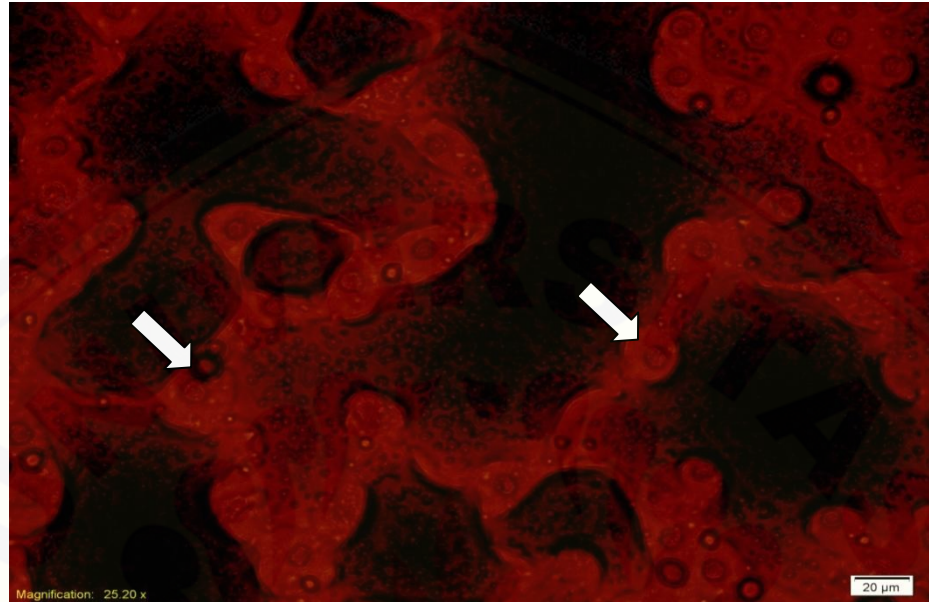
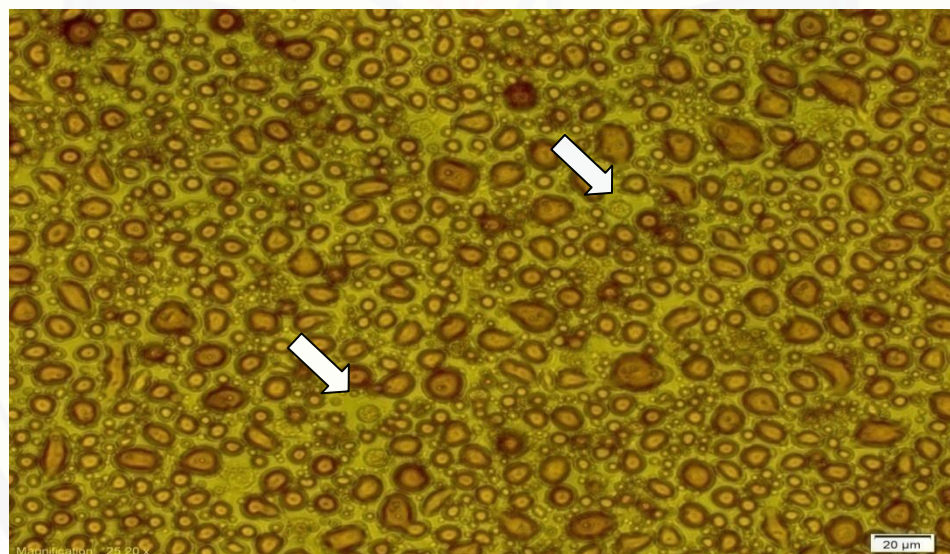


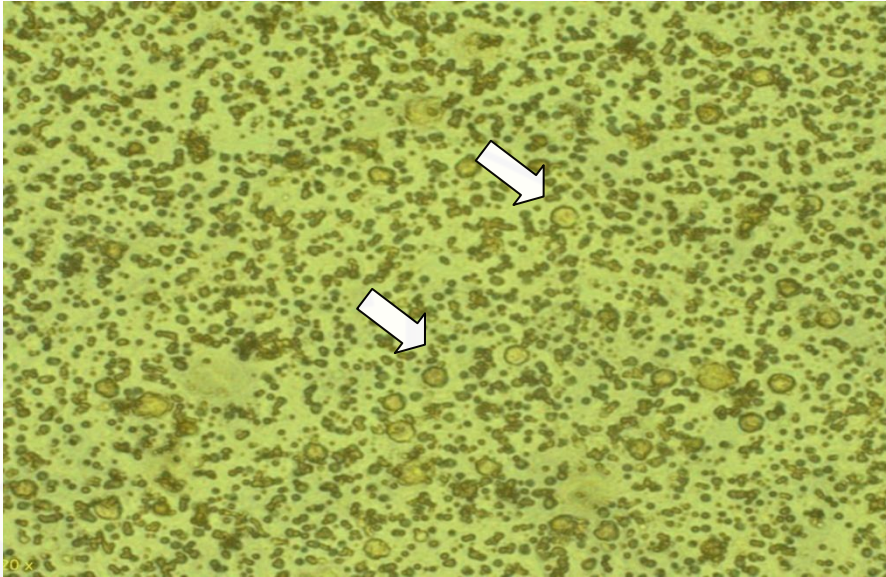
Foto 12. Penghitungan koloni bakteri

Lampiran H. Foto Hasil Penelitian

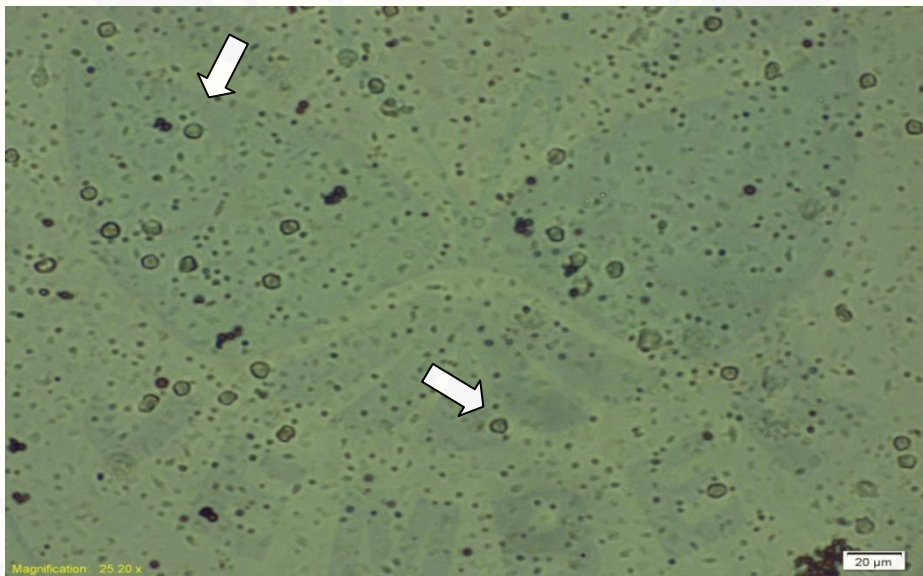
Gambar 1. Kelompok K3, tanda panah menunjukkan sel neutrofil yang telah di inkubasi ekstrak daun katuk 100% dan dipapar *S. mutans* (pengamatan dengan mikroskop *inverted* perbesaran 400x).



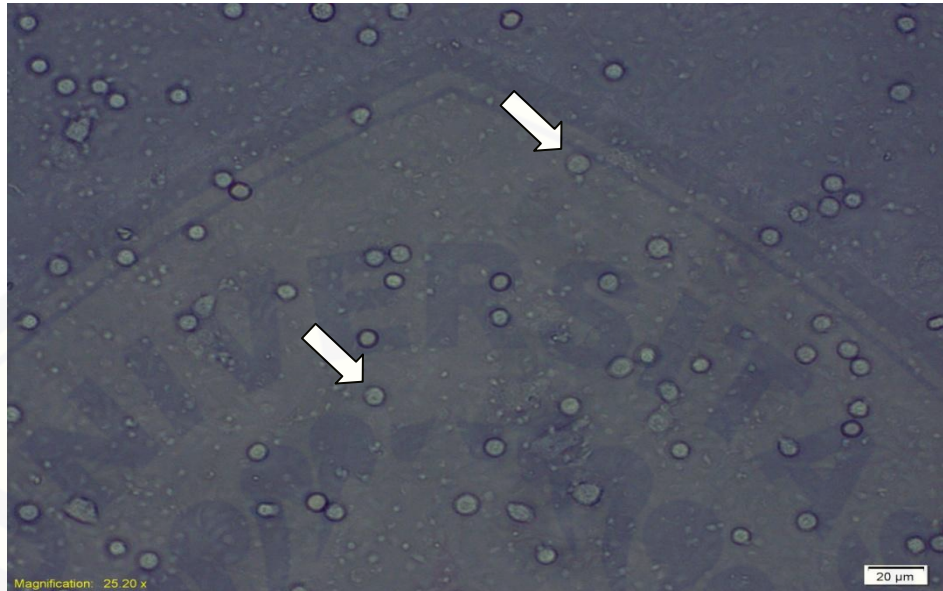
Gambar 2. Kelompok K3, tanda panah menunjukkan sel neutrofil yang telah di inkubasi ekstrak daun katuk 75% dan dipapar *S. mutans* (pengamatan dengan mikroskop *inverted* perbesaran 400x).



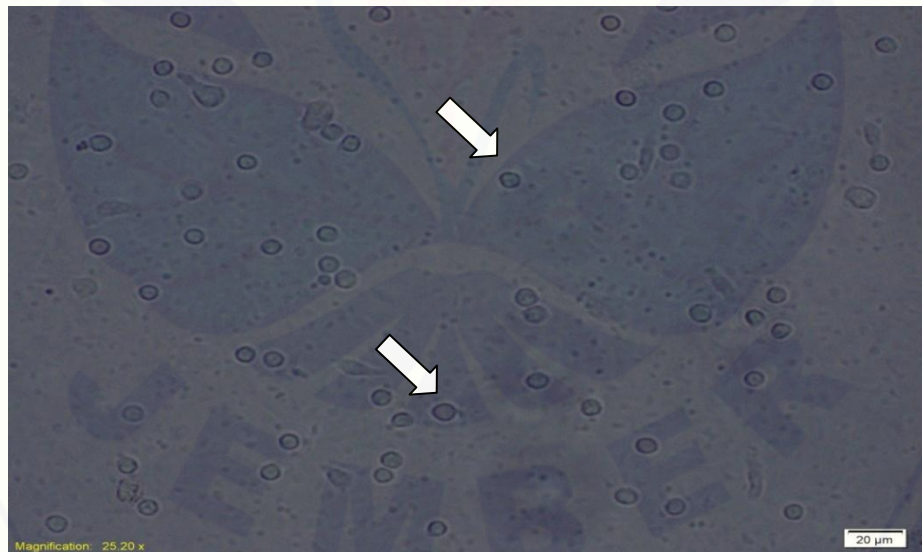
Gambar 3. Kelompok K3, tanda panah menunjukkan sel neutrofil yang telah di inkubasi ekstrak daun katuk 50% dan dipapar *S. mutans* (pengamatan dengan mikroskop *inverted* perbesaran 400x).



Gambar 4. Kelompok K3, tanda panah menunjukkan sel neutrofil yang telah di inkubasi ekstrak daun katuk 25% dan dipapar *S. mutans* (pengamatan dengan mikroskop *inverted* perbesaran 400x).



Gambar 5. Kelompok K1 (kontrol positif), tanda panah menunjukkan sel neutrofil yang telah di inkubasi dengan *Penstrep* dan dipapar *S .mutans* (pengamatan dengan mikroskop *inverted* perbesaran 400x).



Gambar 5. Kelompok K2 (kontrol negatif), tanda panah menunjukkan sel neutrofil yang tidak di inkubasi ekstrak daun katuk dan dipapar *S .mutans* (pengamatan dengan mikroskop *inverted* perbesaran 400x).