BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Determinasi Tumbuhan Sambiloto (Andrographis paniculata Nees)

1. Pengertian

Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) adalah tumbuhan herbal yang dikenal memiliki berbagai manfaat kesehatan, termasuk sebagai antibakteri, antiinflamasi, dan imunostimulan. Tumbuhan ini banyak ditemukan di Asia, terutama di Indonesia, India, dan Tiongkok. Kandungan utama dalam daun sambiloto adalah andrographolide, suatu senyawa diterpenoid yang memiliki efek farmakologis kuat dalam menghambat pertumbuhan berbagai mikroorganisme patogen. (Roy, 2018).



Gambar 1. Daun Sambiloto (Andrographis paniculata Nees)

Sumber: https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=9027154

2. Klasifikasi

Klasifikasi Ilmiah Sambiloto:

a. Kingdom : Plantae

b. Divisi : Magnoliophyta

c. Kelas : Magnoliopsida

d. Ordo : Lamiales

e. Famili : Acanthaceaef. Genus : Andrographis

g. Spesies : Andrographis paniculata Nees

3. Morfologi

Morfologi Tumbuhan Sambiloto:

- a. Batang : Berbentuk segi empat, berwarna hijau kecokelatan, dan bercabang banyak.
- b. **Daun**: Tunggal, berbentuk lanset, bertangkai pendek, dengan tepi daun rata dan ujung meruncing.
- c. **Bunga**: Berwarna ungu keputihan dengan corolla berbentuk tabung dan tersusun dalam rangkaian bunga majemuk.
- d. **Buah** : Berbentuk kapsul kecil yang berisi biji berwarna cokelat kehitaman.
- e. **Akar** : Akar tunggang dengan akar lateral yang berkembang baik di tanah yang cukup lembab.

Habitat dan Persebaran: Sambiloto adalah tumbuhan yang hidup di daerah beriklim panas dan lembap, biasanya pada ketinggian antara 1 hingga 700 meter di atas permukaan laut. Tanaman ini bisa ditemukan di hutan, kebun, dan sawah. Sambiloto sering dipakai dalam pengobatan tradisional, terutama di negara-negara Asia seperti Indonesia, India, dan Tiongkok. (Kumar, 2019)

4. Kandungan Aktif Dalam Daun

Ekstrak daun sambiloto mengandung beberapa senyawa aktif yang berkontribusi terhadap aktivitas antibakterinya, di antaranya:

- a. **Andrographolide**: Senyawa utama yang memiliki efek antibakteri dan antiinflamasi.
- b. Flavonoid: Berperan sebagai antioksidan dan antibakteri.
- c. **Saponin**: Memiliki aktivitas sebagai antiseptik alami.
- d. **Tanin**: Berfungsi untuk menghentikan pertumbuhan kuman dengan cara menggumpalkan protein di dinding sel bakteri. (Roy, 2018)

Sifat kimia senyawa aktif tersebut umumnya bersifat polar hingga semipolar, sehingga cocok diekstraksi menggunakan etanol 70% sebagai pelarut. Etanol 70% bersifat polar dan banyak digunakan dalam proses ekstraksi tanaman obat karena mampu melarutkan senyawa polar (flavonoid, tanin, saponin) maupun semi-polar (andrographolide), sehingga hasil ekstraksi yang diperoleh bersifat kompleks dan lebih efektif dalam menunjukkan aktivitas antibakteri. (Harborne, 1998); (Mulyani, 2013); (Dra. Meinarwati, 2008)

5. Mekanisme Kerja

Mekanisme kerja antibakteri daun sambiloto terhadap *Aggregatibacter* actinomycetemcomitans diduga dengan berbagai metode, antara lain:

- a. **Menghambat sintesis dinding sel bakteri**, menyebabkan bakteri tidak dapat bereproduksi.
- b. **Mengganggu permeabilitas membran sel bakteri**, menyebabkan kebocoran ion dan nutrisi esensial.
- c. **Menghambat aktivitas enzim bakteri**, khususnya enzim yang membantu dalam replikasi DNA dan metabolisme energi. (Herrera, 2020)

Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa ekstrak daun sambiloto ampuh membunuh atau menghambat berbagai macam bakteri penyebab penyakit termasuk *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa hasil ekstraksi daun sambiloto menggunakan etanol memiliki daya hambat yang cukup besar pada bakteri gram-negatif, yang menunjukkan potensi sebagai agen antibakteri alami (Kuswanto, 2024).

B. Bakteri Aggregatibacter actinomycetemcomitans

1. Pengertian

Aggregatibacter actinomycetemcomitans adalah bakteri gram-negatif dengan bentuk batang pendek (cocco-bacilli) yang tergolong dalam famili Pasteurellaceae. Bakteri Aggregatibacter actinomycetemcomitans merupakan salah satu patogen utama dalam penyakit periodontal, terutama periodontitis agresif, karena memiliki faktor virulensi yang kuat dalam merusak jaringan pendukung tumbuha (Fine, 2019). Bakteri Aggregatibacter actinomycetemcomitans bersifat anaerob fakultatif, yang berarti dapat bertahan dalam lingkungan dengan kadar oksigen rendah, tetapi juga mampu tumbuh dalam kondisi aerob (Herrera. 2020). Aggregatibacter actinomycetemcomitans ditemukan dalam plak subgingiva manusia dan dapat membentuk biofilm pada permukaan gigi, yang membuatnya sulit untuk dihilangkan dengan pembersihan biasa (Kumar, 2019).

2. Klasifikasi

Menurut sistem taksonomi biologi, bakteri *Aggregatibacter* actinomycetemcomitans diklasifikasikan sebagai berikut:

a. **Domain** : Bacteriab. **Kingdom** : Bacteria

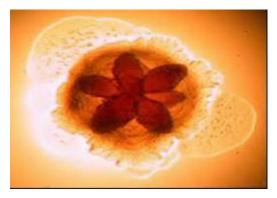
c. **Phylum** : Proteobacteria

d. Class : Gammaproteobacteria

e. Order : Pasteurellalesf. Family : Pasteurellaceaeg. Genus : Aggregatibacter

h. **Species** : Aggregatibacter actinomycetemcomitans

Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* pertama kali diklasifikasikan dalam genus *Actinobacillus*, tetapi kemudian dipindahkan ke genus *Aggregatibacter* berdasarkan analisis genetik dan filogenetik (Fine, 2019).



Gambar 2. Koloni Bakteri Aggregatibacter actinomycetemcomitans

Sumber: (Afrina et al, 2016)

Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemscomitans* memiliki beberapa karakteristik biokimia yang membedakannya dari bakteri lain. Salah satu cirinya adalah kemampuannya untuk menghasilkan katalase, tetapi oksidasenya bersifat variabel tergantung pada strain yang diuji.

Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemscomitans* dapat memfermentasi glukosa, manosa, dan galaktosa, tetapi tidak dapat memfermentasi sukrosa

atau laktosa. Selain itu, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* tidak mampu menghasilkan indole dan tidak memiliki aktivitas urease. (Fine, 2019).

3. Faktor Pemicu Infeksi

Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemscomitans* dikenal mempunyai beberapa faktor pemicu infeksi utama, seperti:

- a. Leukotoksin (LtxA) → Membunuh sel imun, khususnya neutrofil dan monosit, sehingga melemahkan pertahanan tubuh terhadap infeksi (Fine, 2019).
- b. Lipopolisakarida (LPS) → Memicu peradangan dan destruksi jaringan periodontal (Herrera, 2020).
- c. Fimbria dan adhesin → Memungkinkan bakteri menempel pada jaringan epitel dan membentuk biofilm di permukaan gigi. (Roy, 2018)

Selain berperan dalam penyakit periodontal, *Aggregatibacter actinomycetemscomitans* juga dikaitkan dengan infeksi sistemik seperti endokarditis, osteomielitis, dan abses otak (Herrera et al., 2020). Oleh karena itu, bakteri *Aggregatibacter actinomycetemscomitans* menjadi fokus utama dalam penelitian terkait kesehatan gigi dan pengembangan terapi antibakteri (Kuswanto et al., 2024).

Habitat utama Aggregatibacter actinomycetemcomitans adalah rongga mulut manusia, terutama di plak subgingiva pasien dengan infeksi periodontitis agresif. Bakteri Aggregatibacter actinomycetemcomitans dapat menyebar melalui air liur dan kontak langsung dengan individu yang terinfeksi. Selain pada manusia. bakteri Aggregatibacter actinomycetemcomitans juga ditemukan sebagai flora normal pada rongga beberapa hewan. Dengan sifat patogeniknya yang kuat, Aggregatibacter actinomycetemcomitans menjadi salah satu target utama dalam penelitian terkait pengobatan dan pencegahan penyakit periodontal (Herrera, 2020).

C. Antibiotik Amoksisilin

1. Pengertian

Amoksisilin adalah antibiotik golongan β-laktam, yang termasuk dalam kelompok penisilin semi-sintetik dengan spektrum luas. Antibiotik ini berfungsi dengan cara mencegah pembentukan dinding sel bakteri, sehingga membuat sel bakteri pecah dan mati (Herrera, 2020).

Amoksisilin sering digunakan dalam pengobatan berbagai infeksi yang disebabkan oleh bakteri, seperti infeksi pada saluran napas, infeksi pada saluran kencing, infeksi telinga tengah, dan infeksi gusi. Infeksi ini bisa terjadi karena bakteri gram-positif maupun gram-negatif (Kuswanto, 2024).

2. Mekanisme Kerja

Amoksisilin bekerja dengan cara mengikat dan menginaktivasi enzim transpeptidase membantu membuat peptidoglikan, yaitu bagian utama yang membentuk dinding sel bakteri. Jika peptidoglikan ini tidak kuat, dinding sel bakteri jadi lemah dan gampang pecah., terutama saat bakteri mengalami pertumbuhan dan pembelahan sel (Brook, 2019).

3. Spektrum Aktivitas

Amoksisilin memiliki aktivitas antibakteri terhadap berbagai bakteri, di antaranya:

a. Bakteri Gram-Positif

- Streptococcus pneumoniae
- *Staphylococcus aureus* (non-MRSA)
- Enterococcus faecalis

b. Bakteri Gram-Negatif

- Escherichia coli
- Haemophilus influenzae
- Aggregatibacter actinomycetemcomitans

Amoksisilin sangat efektif terhadap *Aggregatibacter* actinomycetemcomitans, yang merupakan salah satu penyebab utama periodontitis agresif. Karena sifatnya yang dapat menembus biofilm bakteri, antibiotik ini sering digunakan dalam terapi periodontal untuk mengurangi populasi bakteri patogen (Herrera, 2020).

4. Resistensi Bakteri

Penggunaan amoksisilin yang berlebihan atau tidak sesuai dosis dapat menyebabkan resistensi bakteri, terutama melalui produksi enzim β -laktamase yang mampu menghancurkan struktur β -laktam dalam antibiotik (Kumar, 2019).

Oleh karena itu, dalam beberapa kasus, amoksisilin dikombinasikan dengan asam klavulanat, yang berfungsi sebagai penghambat β-laktamase untuk memperpanjang efektivitasnya terhadap bakteri resisten (Brook, 2019).

5. Efek Samping dan Kontraindikasi

Meskipun amoksisilin biasanya aman dipakai, tapi kadang bisa menyebabkan efek samping seperti reaksi alergi. (ruam, anafilaksis), gangguan pencernaan (mual, diare), dan superinfeksi akibat pertumbuhan bakteri resisten (Katzung, 2018). Antibiotik ini juga tidak dianjurkan untuk pasien dengan alergi terhadap penisilin atau memiliki riwayat hipersensitivitas terhadap β-laktam.

D. Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan komponen aktif dari bahan alam, seperti tumbuhan obat, memakai pelarut yang sesuai. Tujuan utama ekstraksi ialah mendapatkan senyawa bioaktif dalam bentuk yang lebih terkonsentrasi untuk digunakan dalam formulasi obat atau penelitian fitokimia (Harborne, 1998).

1. Metode Ekstraksi

a. Maserasi

Maserasi adalah teknik ekstraksi yang dilakukan dengan merendam bahan alami ke dalam pelarut pada suhu ruangan dalam waktu tertentu. Metode ini sederhana dan tidak memerlukan peralatan khusus, tetapi membutuhkan waktu lama dan kurang efisien dibanding metode lainnya. Pelarut yang umum digunakan adalah etanol, metanol, atau air (Azwanida, 2015).

b. Perkolasi

Metode ini melibatkan pergerakan pelarut secara kontinu melalui bahan simplisia dalam kolom perkolator. Teknik ini lebih efisien dibanding maserasi karena memungkinkan penyerapan maksimal senyawa aktif.

Namun, metode ini memerlukan peralatan khusus dan lebih banyak pelarut (Tiwari et al., 2011).

c. Refluks

Refluks adalah metode ekstraksi dengan pemanasan di mana pelarut yang menguap dikondensasikan kembali agar bisa digunakan kembali. Metode ini lebih cepat dibanding maserasi dan perkolasi serta cocok untuk senyawa yang stabil terhadap panas. Namun, metode ini tidak cocok untuk senyawa termolabil karena suhu tinggi dapat menyebabkan degradasi senyawa aktif (Wagner & Bladt, 1996).

d. Soxhletasi (Soxhlet Extraction)

Soxhletasi adalah metode ekstraksi kontinu menggunakan pelarut panas yang menguap dan kemudian dikondensasikan kembali. Teknik ini cocok untuk senyawa non-polar dan lebih efisien dibanding metode perendaman biasa. Namun, metode ini tidak dianjurkan untuk senyawa yang mudah menguap atau yang sensitif terhadap panas (Harborne, 1998).

E. Uji Aktivitas Antibakteri

1. Metode Difusi

Pada metode ini, penentuan aktivitas didasarkan pada kemampuan difusi dari zat antimikroba dalam lempeng agar yang telah dinokulasikan melalui uji mikroba. Hasil yang diamati berupa muncul atau tidaknya area bening (zona hambat) di sekitar zat antimikroba setelah masa inkubasi tertentu. Pengujian ini bisa dilakukan dengan beberapa cara yang berbeda sebagai berikut:

a. Cara Cakram (Disc)

Metode ini adalah yang paling umum digunakan untuk mengetahui seberapa efektif suatu obat dalam menghambat pertumbuhan kuman. Dalam

Diameter zona terang	Respon hambatan pertumbuhan
>20 mm	Kuat
16-20 mm	Sedang
10-15 mm	Lemah
<10 mm	Tidak ada

prosesnya, digunakan cakram kecil dari kertas saring yang sudah mengandung zat antimikroba. Cakram ini diletakkan di atas permukaan media agar yang telah ditanami bakteri uji, lalu diinkubasi pada suhu dan waktu tertentu sesuai kebutuhan bakteri tersebut. Umumnya, hasil bisa mulai terlihat setelah 18–24 jam inkubasi pada suhu 37°C. Tanda keberhasilan uji ini adalah munculnya area bening di sekitar cakram kertas, yang menunjukkan adanya zona hambat atau gangguan pertumbuhan bakteri. Berdasarkan Greenwood (1995), tingkat efektivitas antibakteri ini bisa dikelompokkan seperti yang ditampilkan pada tabel dibawah ini.

Gambar 3. Kadar Daya Hambat Biakan Bakteri Menurut Greenwood (1995)

Sumber: https://repository.ub.ac.id/id/eprint/186032/7/Nanda

Metode cakram disk atau cakram kertas ini memiliki kelebihan dan kekurangan. Kelebihan nya adalah mudah dilakukan, tidak memerlukan perlatan khusus dan relative murah. Sedangkan kelemahannya adalah ukuran zona bening yang terbentuk tergantung oleh kondisi inkubasi, inokulum, predifusi dan preinkubasi serta ketebalan medium.

Apabila keempat faktor terdebut tidak sesuai maka hasil dari metode cakram disk biasanya sulit untuk diinterprestasikan. Selain itu, metode cakram disk ini tidak dapat diaplikasikan pada mikriorganisme yang pertumbuhan nya lambat dan mikroorganisme yang bersifat anaerob obligat.

b. Cara Parit (ditch)

Pada media agar yang telah ditanami bakteri uji, dibuat sebuah parit kecil yang kemudian diisi dengan zat antimikroba. Setelah diinkubasi pada suhu dan waktu optimal sesuai dengan bakteri uji, diamati apakah terbentuk zona hambat di sekitar parit tersebut.

c. Cara Sumuran (hole/cup)

Pada media agar yang sudah ditanami bakteri uji, dibuat lubang-lubang kecil lalu diisi dengan zat antimikroba. Setelah itu, media diinkubasi sesuai suhu dan waktu yang cocok untuk bakteri. Hasilnya diamati dengan melihat apakah ada zona bening di sekitar lubang yang menandakan

adanya hambatan pertumbuhan bakteri.

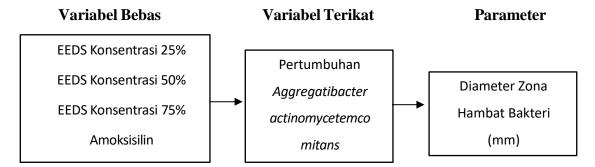
2. Metode Dilusi

Metode dilusi adalah cara untuk mengurangi kekuatan suatu larutan agar bisa mengetahui berapa banyak zat yang terkandung di dalamnya. zat dalam larutan dengan cara mengencerkan larutan induk secara bertahap. Prinsip dasar metode ini adalah bahwa jumlah zat terlarut tetap konstan selama proses pengenceran, tetapi volumenya bertambah sehingga konsentrasinya menurun secara proporsional (Fleming et al., 2018). Dalam bidang mikrobiologi, metode dilusi sering diterapkan untuk menentukan nilai Minimum Inhibitory Concentration (MIC) suatu zat antimikroba terhadap bakteri atau jamur patogen (Andrews, 2001).

Metode dilusi ada dua jenis utama, yaitu dilusi menggunakan cairan dan dilusi menggunakan media padat. Pada metode dilusi cair, larutan uji diencerkan dalam medium cair secara berurutan hingga mencapai konsentrasi yang sangat rendah, kemudian diuji efeknya terhadap pertumbuhan mikroorganisme (Balouiri M, 2016).

Sementara itu, metode dilusi padat dilakukan dengan mencampurkan zat uji langsung ke dalam medium padat sebelum proses inokulasi mikroorganisme. Kedua metode ini memiliki keunggulan masing-masing, tergantung pada kebutuhan penelitian dan jenis mikroorganisme yang diuji (Wiegand I, 2008).

F. Kerangka Konsep



Keterangan:

EEDS = Ekstrak Etanol Daun Sambiloto

G. Defenisi Operasional

- 1. Ekstrak Etanol Daun Sambiloto sebagai kontrol uji yang diperoleh dari daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) menggunakan metode maserasi dan dikentalkan menggunakan alat rotary evaporator dengan konsentrasi 25%,50%, dan 75%.
- 2. Aggregatibacter actinomycetemcomitans sebagai bakteri uji.
- **3.** Amoksisilin sebagai kontrol positif merupakan antibiotik beta-laktam yang digunakan sebagai pembanding dalam penelitian ini.
- 4. Aquadest steril sebagai kontrol negatif.
- **5.** Diameter daerah bening di sekitar cakram adalah zona hambat yang menunjukkan efektivitas antibakteri ekstrak sambiloto dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

H. Hipotesis

Ekstrak daun sambiloto mempunyai potensi menjadi antibakteri yang efektif pada *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.