

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Permasalahan kesehatan gigi dan mulut merupakan hal penting yang masih sering terabaikan dalam aktivitas sehari-hari, padahal gangguan pada gigi dan mulut dapat berdampak pada kondisi kesehatan tubuh secara keseluruhan. Salah satu upaya pencegahan yang paling umum dilakukan adalah dengan cara menyikat gigi secara teratur menggunakan pasta gigi. Meskipun kebiasaan ini sudah menjadi bagian dari rutinitas masyarakat, angka kejadian gigi berlubang masih tergolong tinggi. Kondisi ini mengindikasikan bahwa kandungan dalam pasta gigi, terutama yang berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri penyebab karies seperti *Streptococcus mutans*, masih perlu diperhatikan. Oleh karena itu, pengembangan pasta gigi dengan bahan aktif alami yang lebih aman sangat diperlukan untuk mendukung pencegahan karies gigi secara optimal.

Berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar, angka prevalensi karies gigi di Indonesia mencapai 57,6%, yang menunjukkan bahwa sebagian besar penduduk mengalami kerusakan gigi yang aktif dan memerlukan perawatan (Adam dkk. 2022). Angka tersebut menunjukkan bahwa karies gigi masih menjadi masalah utama yang membutuhkan pendekatan preventif dan kuratif yang efektif, salah satunya dengan menyikat gigi secara rutin menggunakan pasta gigi yang mengandung bahan antibakteri.

Streptococcus mutans merupakan salah satu bakteri penyebab karies gigi yang memiliki kemampuan untuk memfermentasi karbohidrat menjadi asam.

Bakteri ini berkembang dengan baik dalam kondisi asam dan mampu menempel pada permukaan gigi. Kemampuan ini disebabkan karena *Streptococcus mutans* mampu mensintesis polisakarida ekstraseluler yang bersifat lengket dan tersusun dari polimer glukosa. Polisakarida ini juga memungkinkan bakteri lain untuk menempel, sehingga dapat membentuk plak (Asrina 2019).

Plak gigi merupakan terbentuknya campuran sisa makanan dan bakteri yang diperantarai oleh saliva yang menempel pada permukaan gigi, penumpukan plak ini jika tidak dibersihkan akan membentuk karies gigi (Harmely dkk. 2015). Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk mencegah terjadinya karies gigi adalah menggosok gigi dengan pasta gigi. Pasta gigi merupakan sediaan semi padat yang mengandung bahan penggosok, pembersih, serta berbagai bahan tambahan lainnya, yang berfungsi untuk membantu zat aktif bekerja pada permukaan gigi guna mencegah kerusakan yang disebabkan oleh bakteri di dalam rongga mulut tanpa menimbulkan efek buruk pada gigi ataupun mukosa mulut (Zulfa 2013).

Saat ini sebagian besar pasta gigi yang beredar dipasaran banyak mengandung fluoride, yang berfungsi untuk memperkuat struktur gigi dan menjadikan gigi tampak lebih putih. Namun fluoride tidak dapat membunuh bakteri gigi secara efektif. Selain itu, penggunaan yang berlebihan dapat menyebabkan timbulnya flek putih pada email dan membuat gigi menjadi rapuh. Oleh karena itu, diperlukan formulasi pasta gigi alternatif berbahan dasar alami (Asrina 2019).

Dalam konteks tersebut, salah satu tanaman herbal yang memiliki potensi untuk digunakan sebagai bahan aktif dalam formulasi pasta gigi adalah daun pegagan (*Centella asiatica (L). Urb*). Pegagan (*Centella asiatica (L). Urb*) merupakan tanaman yang tersebar luas secara global, terutama di daerah tropis atau

subtropis. Tanaman ini dikenal memiliki berbagai manfaat bagi kesehatan, seperti menurunkan demam, bersifat antibakteri, antialergi, dan mampu menstimulasi sistem saraf pusat. Senyawa aktif yang terkandung dalam daun pegagan antara lain saponin, tanin, flavonoid, steroid, dan triterpenoid (Azzahra & Hayati 2018).

Pengujian ekstrak daun pegagan terhadap berbagai jenis bakteri telah dilakukan sebelumnya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun pegagan dengan pelarut etanol efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Didukung oleh penelitian (Syafliida dkk. 2023) bahwa ekstrak daun pegagan membentuk zona daya hambat terhadap *Streptococcus mutans* pada konsentrasi 5%, 10%, 20%, dan 40%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak daun pegagan berpotensi tinggi untuk digunakan sebagai bahan aktif dalam formulasi pasta gigi alami.

Penelitian oleh Sabrina Belqis Putri Salami (2025) berjudul “Uji Antibakteri Pasta Gigi Kombinasi Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) dan Fluor terhadap *Streptococcus mutans*” menunjukkan bahwa sediaan pasta gigi yang mengandung bahan herbal memiliki aktivitas antibakteri yang efektif terhadap *Streptococcus mutans*. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak bunga telang dan fluor dengan berbagai konsentrasi mampu membentuk zona hambat, dengan konsentrasi 50% menghasilkan daya hambat paling tinggi. Hal ini mendukung bahwa bahan alam yang mengandung senyawa aktif seperti flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin berpotensi besar digunakan dalam formulasi pasta gigi herbal yang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri penyebab karies.

Berdasarkan uraian diatas, peneliti tertarik untuk meneliti daya antibakteri ekstrak daun pegagan dalam sediaan pasta gigi terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*, yang merupakan bakteri utama penyebab karies pada rongga mulut.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, peneliliti merumuskan masalah sebagai berikut :

Apakah ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica (L). Urb*) dalam sediaan pasta gigi efektif dalam bahan antibakteri *Streptococcus Mutans*.

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah diatas, tujuan penelitian ini yaitu sebagai berikut:

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui potensi ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica (L). Urb*) sebagai bahan aktif dalam formulasi pasta gigi dan mengevaluasi aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* sebagai penyebab utama pembentukan plak gigi.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui efektivitas ekstrak daun pegagan dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*
2. Mengetahui efektivitas ekstrak daun pegagan sebagai antibakteri dalam sediaan pasta gigi.

1.4 Manfaat Penelitian

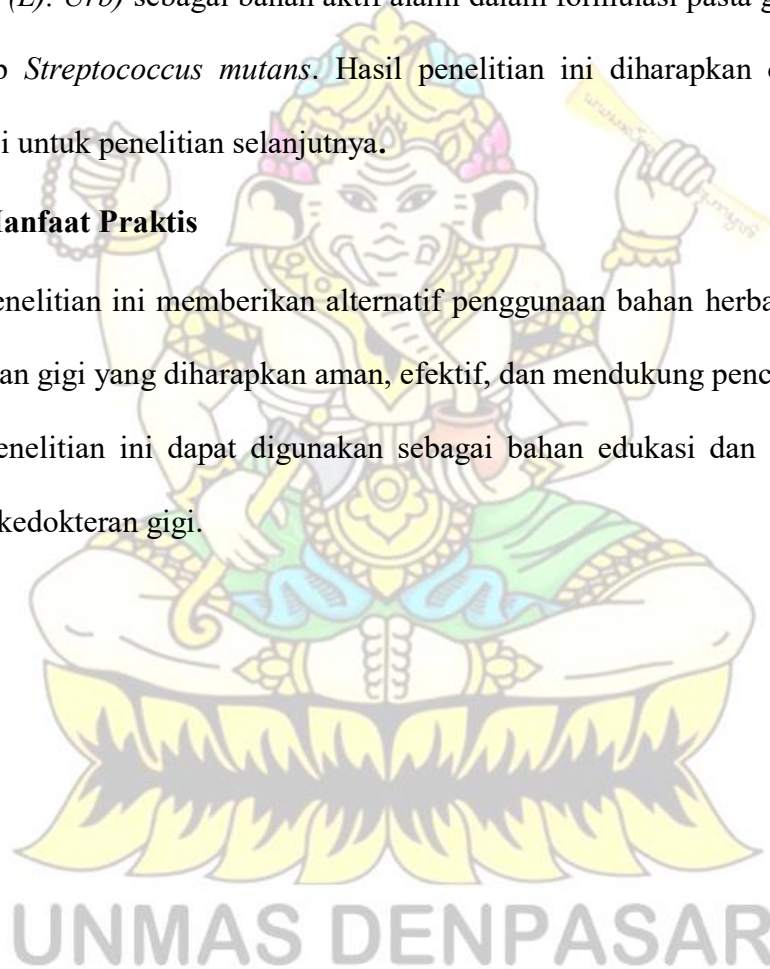
Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat berupa :

1.4.1 Manfaat Akademis

Penelitian ini bermanfaat dalam menambah wawasan keilmuan dibidang kedokteran gigi, khususnya terkait pemanfaatan ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica (L). Urb*) sebagai bahan aktif alami dalam formulasi pasta gigi antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi untuk penelitian selanjutnya.

1.4.2 Manfaat Praktis

Penelitian ini memberikan alternatif penggunaan bahan herbal pada produk perawatan gigi yang diharapkan aman, efektif, dan mendukung pencegahan karies. Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai bahan edukasi dan inovasi dalam praktik kedokteran gigi.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Daun Pegagan

Tanaman pegagan (*Centella asiatica* (L). Urb) merupakan salah satu jenis tanaman yang mudah ditemukan di Indonesia dan sering digunakan oleh masyarakat sebagai obat tradisional untuk mengobati berbagai jenis penyakit. Kandungan fitokimia dalam tanaman pegagan meliputi senyawa-senyawa seperti saponin, tanin, flavonoid, triterpenoid, dan steroid.

Indonesia merupakan negara tropis yang kaya akan berbagai jenis tanaman herbal yang berkhasiat untuk menyembuhkan penyakit. Salah satunya adalah tanaman pegagan (*Centella asiatica* (L). Urb) yang tergolong tanaman liar dan mudah ditemukan diberbagai tempat seperti ladang, kebun, pinggir jalan, sawah, dan daerah lembab lainnya. Tanaman ini dikenal memiliki manfaat yang baik sebagai obat (Kerta besung 2009).

2.1.1 Taksonomi Pegagan

Daun pegagan (*Centella asiatica* (L). Urb), yang juga dikenal dengan nama lain *Hydrocotyle asiatica* L. Pes. Berdasarkan klasifikasi taksonomi daun pegagan termasuk ke dalam:

<i>Kingdom</i>	: <i>Plantae</i>
<i>Division</i>	: <i>Spermatophyta</i>
<i>Subdivision</i>	: <i>Angiospermae</i>
<i>Class</i>	: <i>Dicotyledonae</i>
<i>Order</i>	: <i>Umbillales</i>

Family : Umbelliferae (Apiaceae)

Genus : Centella

Species : (*Centella asiatica* (L). Urb) atau *Hidrocotyle asiatica* linn



Gambar 2.1 Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L). Urb)

(Sumber : Depari 2021)

2.1.2 Morfologi Pegagan

Daun pegagan (*Centella asiatica* (L). Urb) umumnya tumbuh secara alami di lingkungan yang agak lembab. Tanaman ini berkembang optimal pada kondisi dengan intensitas cahaya yang rendah. Daun Pegagan memiliki daerah penyebaran yang luas, dapat ditemukan mulai dari dataran rendah hingga ketinggian 2.500 m diatas permukaan laut (Sulistio 2021).

Daun pegagan (*Centella asiatica* (L). Urb) merupakan tanaman herbal tahunan yang memiliki aroma khas. Batangnya sangat pendek, dari batang pegagan tumbuh stolon atau geragih yang menjalar di tanah dengan panjang antara 10-50 cm. Daunnya tunggal dan tersusun membentuk roset, terdiri dari 2-10 helai daun, kadang-kadang berambut halus. Tangkai daunnya dapat mencapai panjang hingga 40 cm. Daunnya berbentuk ginjal, lebar dan bulat dengan diameter hingga 10 cm,

tepi daun berlekuk dan bergeligi. Bagian pangkal tangkai daun melengkung kedalam dan melebar menyerupai pelepah, tulang daunnya menjari. Akar tanaman ini bercabang. Bunganya berbentuk seperti payung tunggal dan biasanya tersusun dari 3 bunga. Tangkai bunganya berukuran 5-50 mm, lebih pendek dari tangkai daunnya. Daun pelindung berjumlah 2, berbentuk telur, dengan panjang sekitar 3-4 mm (Mora & Fernando 2012).

Daun pegagan dikenal dengan berbagai nama lokal yang berbeda tergantung pada daerahnya. Di Jakarta dan Aceh, tanaman ini disebut pegagan, di Jawa Barat dikenal sebagai antanan, masyarakat Sumatera menyebutnya kaki kuda, di Madura dikenal dengan nama tikusan, sedangkan di Bali disebut taiduh. Selain itu, masih banyak sebutan lain untuk pegagan, seperti kori-kori di Halmahera, gagan-gagan atau panigowang di (Jawa), pegago di (Minangkabau), dogauke atau sandanan atau gogauke di (Papua), kalotidi manora di (Maluku), dan bebile di (Lombok) (Sutardi 2017).

2.1.3 Kriteria Inklusi Daun Pegagan

Daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) merupakan tanaman herbal yang memiliki potensi sebagai bahan aktif dalam bidang kedokteran gigi karena mengandung berbagai senyawa bioaktif, antara lain flavonoid, saponin, triterpenoid, dan tanin, yang diketahui memiliki aktivitas antibakteri terhadap mikroorganisme di rongga mulut. Oleh karena itu, dalam penelitian ini diperlukan penetapan kriteria inklusi daun pegagan untuk menjamin kualitas bahan baku serta konsistensi aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* sebagai bakteri utama penyebab karies gigi (Marlina dkk. 2022).

Kriteria inklusi daun pegagan yaitu dengan kondisi daun yang digunakan harus segar, sehat, dan bebas dari kerusakan fisik maupun kontaminasi mikroba. Pemilihan bahan baku dengan kualitas yang baik penting karena berpengaruh langsung terhadap kandungan metabolit sekunder yang berperan dalam aktivitas antibakteri. Daun pegagan yang digunakan berasal dari daun dengan tingkat kematangan sedang, yaitu tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua (Fatimah dkk. 2021).

Dengan ditetapkan kriteria inklusi daun pegagan yang jelas, diharapkan bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini memiliki kualitas yang konsisten dan mampu memberikan aktivitas antibakteri yang optimal terhadap *Streptococcus mutans*, sehingga relevan dengan aplikasi di bidang kedokteran gigi.

2.1.4 Kandungan dan Manfaat Daun Pegagan

Daun pegagan dipercaya memiliki kemampuan menyembuhkan berbagai macam penyakit karena mengandung komponen bioaktif yang bermanfaat bagi tubuh. Salah satu manfaat komponen bioaktif tersebut adalah sebagai antibakteri. Senyawa bioaktif dalam pegagan yang berperan sebagai antibakteri antara lain flavonoid, tanin, dan saponin (Agvadila dkk. 2017).

Daun pegagan mengandung berbagai zat penting seperti minyak atsiri (1%), pektin (17,25%), asam amino, dan mineral seperti kalsium, magnesium, fosfor, seng, dan tembaga. Selain itu, daun pegagan juga kaya akan betakaroten dan vitamin B1, B2, B3, dan vitamin C. Senyawa kimia lain yang terkandung di dalamnya antara lain tankunisida, isotankunisida, madekasosida, asam brahmik, asam madasiatik, meso-inositol, sentelosa, karotenoid, serta garam mineral seperti kalium, natrium, magnesium, kalsium, dan zat besi. Daun pegagan juga

mengandung zat vellarine dan zat samak yang berperan dalam menjaga kesehatan tubuh. Salah satu senyawa aktif utamanya adalah asiatikosida, sejenis glikosida yang sering digunakan dalam pengobatan tradisional atau jamu (Sutardi 2017).

2.1.5 Senyawa Aktif Daun Pegagan dan Perannya Sebagai Antibakteri

Daun pegagan merupakan salah satu tanaman herbal yang secara luas digunakan dalam pengobatan tradisional. Berdasarkan hasil skrining fitokimia, diketahui bahwa daun pegagan mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder yang berperan dalam aktivitas biologis, terutama sebagai antibakteri. Senyawa-senyawa tersebut antara lain, saponin, flavonoid, dan tanin yang bekerja dengan cara menghambat pembentukan sel bakteri dan mengganggu proses pertumbuhannya (Siregar dkk. 2022).

a. Saponin

Saponin merupakan metabolit sekunder yang termasuk golongan glikosida, terdiri dari struktur triterpenoid atau steroid yang terikat pada satu atau lebih gugus gula. Senyawa ini memiliki bentuk kristal berwarna kuning dan amorf serta memiliki aroma yang khas dan menyengat. Saponin dikenal karena kemampuannya berinteraksi dengan membran sel, serta peranannya dalam berbagai aktivitas biologis, antibakteri dan antijamur (Masniah & Faisal 2024).

Saponin merupakan senyawa polar yang bersifat seperti surfaktan dan dapat merusak lapisan lemak pada membran sel bakteri. Hal ini menyebabkan terganggunya permeabilitas membran, yang menghambat difusi zat-zat penting, yang menyebabkan sel membengkak dan kemudian pecah. Saponin menembus dinding sel, berikatan dengan membran sitoplasma, dan

mengganggu kestabilannya hingga menyebabkan kebocoran isi sel, yang berujung pada kematian bakteri. Karena mekanisme ini, saponin tergolong antimikroba bakterisida.

b. Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu kelompok metabolit yang banyak ditemukan dalam berbagai tanaman, termasuk daun pegagan. Senyawa ini memiliki struktur polifenol dan tersebar luas dalam buah dan sayuran. Flavonoid dikenal memiliki berbagai aktivitas biologis, diantaranya sebagai antioksidan, antiinflamasi, antimutagenik, dan antikarsinogenik, sehingga berkontribusi besar dalam berbagai aplikasi pengobatan, farmasi, nutraceutical dan kosmetik. Efek tersebut berkaitan dengan kemampuan dalam memodulasi enzim-enzim penting dalam tubuh, seperti *xantin oksidase* (XO), *siklooksigenase* (COX), dan *lipoksigenase*. Selain itu, flavonoid juga diketahui memiliki peran dalam sistem pertahanan tanaman terhadap mikroorganisme, termasuk bakteri dan plak (Siregar dkk. 2022).

Flavonoid memiliki mekanisme kerja antibakteri yang meliputi penghambatan sintesis asam nukleat, gangguan terhadap fungsi membrane sel, serta penghambatan metabolisme energi bakteri. Penghambatan sintesis DNA dan RNA terjadi melalui interaksi cincin B flavonoid dengan basa nitrogen, yang menghambat proses replikasi genetik. Selain itu, flavonoid dapat membentuk ikatan kompleks dengan protein membrane sel bakteri, sehingga merusak integritas membran dan mengganggu fungsi permeabilitasnya. Dalam hal metabolisme energi, flavonoid bekerja dengan menghambat proses respirasi bakteri, yang berdampak pada penurunan

penyerapan metabolit serta terganggunya biosintesis makromolekul penting bagi kelangsungan hidup sel bakteri (Rahman dkk. 2017).

c. Tanin

Tanin merupakan senyawa metabolit sekunder yang memiliki beragam manfaat, antara lain sebagai astrigen, antidiare, dan antioksidan. Senyawa ini merupakan komponen organik kompleks yang terdiri dari senyawa fenolik yang sukar dikristalkan dan dipisahkan. Tanin bekerja dengan cara mengendapkan protein dari larutan dan membentuk ikatan dengannya. Berdasarkan strukturnya, tanin terbagi menjadi dua kelompok yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Sementara secara biologis tanin berperan sebagai khelat logam (Malangngi dkk. 2012).

Sebagai senyawa metabolit sekunder, tanin dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan mekanisme. Tanin bekerja dengan merusak dinding sel, mengganggu permeabilitas membrane, menginhibisi kerja enzim, serta mengganggu proses sintesis protein pada bakteri (Sujana dkk. 2024). Tanin memiliki potensi besar sebagai antibakteri alami dan dapat dimanfaatkan dalam produk kesehatan mulut, seperti pasta gigi.

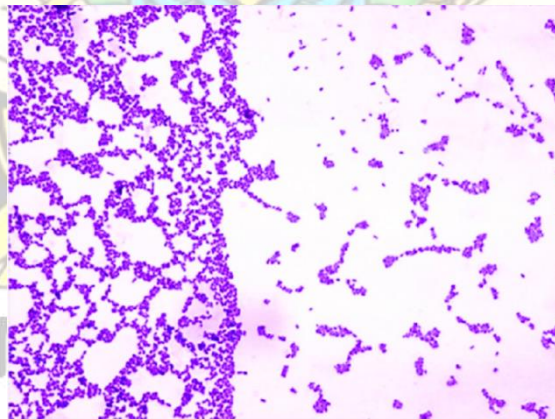
Daun pegagan mengandung metabolit sekunder lainnya berupa asiatic acid yang berperan dalam memberikan aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Nurhapsari dkk. (2023) melaporkan bahwa asiatic acid memiliki aktivitas antibakteri yang signifikan terhadap bakteri kariogenik, termasuk *Streptococcus mutans*. Penelitian lain oleh Chonsut dkk. (2024) menunjukkan bahwa ekstrak daun pegagan mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen rongga mulut

melalui mekanisme penghambat biofilm serta efek antiinflamasi. Hal tersebut memperkuat potensi daun pegagan sebagai agen antibakteri alami dalam pengembangan formula perawatan gigi dan mulut.

2.2 Streptococcus Mutans

2.2.1 Klasifikasi *Streptococcus mutans*

Kingdom	: Bacteria
Subkingdom	: Posibacteria
Divisi	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Lactobacillales
Famili	: Streptococcaceae
Genus	: Streptococcus
Spesies	: Streptococcus mutans



Gambar 2.2 *Streptococcus mutans*

(Sumber : Microscopic depiction of Streptococcus Mutans. Researchgate)

2.2.2 Morfologi *Streptococcus mutans*

Streptococcus mutans merupakan bakteri gram positif yang tidak memiliki kemampuan untuk bergerak (nonmotile) dan tergolong anaerob fakultatif. Bakteri

ini berbentuk kokus, yaitu berbentuk bulat atau oval, serta tersusun membentuk rantai. Pertumbuhan optimal terjadi pada suhu antara 18°C hingga 40°C, dan lingkungan dengan pH saliva sekitar 4,5-5,5 sangat mendukung perkembangan bakteri ini. Koloni *S. mutans* memiliki morfologi berwarna opak, berdiameter sekitar 0,5-1,0 mm, dengan permukaan yang umumnya kasar, hanya sekitar 7% koloni yang memiliki permukaan halus dan bersifat mukoid. Selain itu, *S. mutans* memproduksi dua jenis enzim, yaitu glukosiltransferase (GTF) dan fruktosiltransferase (FTF), yang berperan mengubah sukrosa menjadi polisakarida yang kemudian digunakan untuk membentuk glukkan (dekstran) dan fruktan (Siregar 2022)

2.3 Aktivitas Antibakteri

2.3.1 Zona Hambat

Zona hambat merupakan area bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram atau sumuran pada media Mueller Hinton Agar (MHA) yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Area ini terbentuk akibat aktivitas senyawa antimikroba yang diaplikasikan, kemudian diukur diameternya menggunakan jangka sorong sebagai parameter penilaian aktivitas antibakteri. Terbentuknya zona hambat disebabkan oleh kemampuan senyawa antimikroba untuk berdifusi ke dalam media agar dan menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang berada dalam jangkauan difusinya. Ukuran atau diameter zona hambat dapat menjadi indikator sensitivitas mikroorganisme terhadap senyawa antimikroba. Semakin besar diameter zona hambat, semakin kuat efek antimikroba senyawa tersebut terhadap mikroorganisme yang diuji yang menunjukkan bahwa mikroorganisme tersebut sensitif terhadap senyawa tersebut.

Sebaliknya, zona hambat yang kecil atau bahkan tidak ada menunjukkan bahwa mikroorganisme tersebut mungkin resisten terhadap senyawa antimikroba yang diuji. Pengukuran diameter zona hambat memiliki peranan penting dalam mengevaluasi potensi antimikroba suatu senyawa. Selain digunakan untuk menentukan konsentrasi yang efektif, data zona hambat juga dapat memberikan gambaran mengenai spektrum aktivitas antimikroba suatu senyawa terhadap berbagai jenis mikroorganisme (Wulandari dkk. 2024).

2.3.2 Metode Pengujian Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri dapat dianalisis melalui beberapa metode, yaitu metode difusi, dilusi dan broth mikrodilusi. Metode difusi meliputi difusi cakram dan difusi sumuran, sedangkan metode dilusi terbagi menjadi dilusi agar solid dan dilusi cair. Secara umum, tujuan metode difusi adalah untuk mengevaluasi tingkat sensitivitas bakteri terhadap suatu antibiotik. Sementara itu, metode dilusi bertujuan untuk menentukan Konsistensi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) (Nurul dkk. 2023).

a. Metode Difusi

1. Difusi Cakram

Metode difusi cakram merupakan prosedur terstandar dan akurat yang dapat disesuaikan dengan kebutuhan laboratorium diagnostik. Menurut EUCAST dan CLSI, waktu inkubasi yang direkomendasikan untuk sebagian besar bakteri adalah 16-18 jam. Uji difusi cakram *Kirby-Bauer* telah menjadi metode baku dan menjadi alternatif yang layak dari metode *broth* (Hombach dkk. 2018).

Prinsip ini dilakukan dengan mengoleskan suspensi bakteri (sekitar $1-2 \times 10^8$ CFU/mL) ke permukaan agar Mueller-Hinton, lalu meletakkan 12 cakram antibiotik

dengan konsentrasi tetap di atas media. Setelah diinkubasi 16-24 jam pada suhu 35-37°C, zona hambat disekitar cakram diukur. Besar zona ini mencerminkan tingkat sensitivitas bakteri terhadap antibiotik dan diinterpretasikan berdasarkan standar CLSI dan NCCLS. Hasil dari metode ini bersifat kualitatif, yaitu menentukan apakah bakteri termasuk kategori (rentan, menengah, resisten) berasal dari uji KHM. Beberapa sistem pembaca zona yang tersedia secara komersial mengklaim dapat memperkirakan KHM berdasarkan ukuran zona dan algoritma standar (Nurul dkk. 2023).

Keunggulan metode ini adalah biaya rendah, fleksibel, memungkinkan visualisasi pertumbuhan bakteri, serta bisa digunakan untuk uji langsung sensitivitas (DST). Namun, kelemahannya terletak pada kebutuhan tenaga kerja untuk mengukur dan pencatatan manual, serta kemungkinan adanya variasi hasil (Hombach dkk. 2013).

2. Difusi Sumuran

Metode difusi sumuran merupakan salah satu metode yang sering digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antimikroba, terutama dari senyawa alami seperti ekstrak tanaman. Prinsipnya adalah menginokulasikan mikroba ke permukaan agar, kemudian membuat lubang (sumuran) berdiameter 6-8 mm secara aseptis. Larutan uji, kontrol positif, dan kontrol negatif masing-masing dimasukkan ke dalam lubang tersebut (20-100 μ L), lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, zona hambat yang terbentuk diukur sebagai indikator aktivitas antibakteri. Semakin besar diameter zona, semakin tinggi aktivitas penghambatnya (Balouiri dkk. 2016).

Metode ini bersifat kualitatif karena tidak mengukur jumlah senyawa yang terdifusi secara tepat. Keunggulan metode difusi sumuran adalah sederhana dalam pelaksanaannya, ekonomis, lebih sensitif dan cocok untuk senyawa kationik. Dibandingkan difusi cakram, metode ini dianggap lebih efektif karena larutan uji mengalami osmosis yang meningkatkan daya hambat. Namun, kelemahannya adalah hasil yang kurang reproduktif, bersifat kualitatif, serta kemungkinan adanya sisa agar yang mengganggu hasil pengamatan (Bubonja-Šonje dkk. 2020).

b. Metode Dilusi

1. Dilusi Cair/Serial Dilusi

Metode serial dilusi umum digunakan diberbagai bidang seperti rumah sakit, laboratorium mikrobiologi, virologi, imunologi, industri farmasi, dan keamanan pangan untuk mendeteksi mikroorganisme yang mampu tumbuh dan membentuk koloni pada media bakteriologi. Tujuan utama metode ini adalah untuk memperkirakan konsentrasi mikroorganisme dalam sampel dengan menghitung jumlah koloni hasil inkubasi serta saat mengurangi jumlah bakteri dalam suspensi. Prinsip kerja metode ini adalah melakukan pengenceran bertingkat terhadap sampel uji untuk menghasilkan berbagai konsentrasi. Setiap konsentrasi kemudian dicampurkan dengan suspensi bakteri pada media pertumbuhan. Umumnya digunakan perbandingan 1:9 untuk pengenceran pertama serta selanjutnya mengandung sebanyak 1/10 sel.

Keunggulan metode ini antara lain memungkinkan kontak optimal antara sampel dan bakteri karena luasnya permukaan media, hemat biaya, dan mudah dilakukan. Namun, kelemahannya terletak pada keterbatasan konsentrasi hasil pengenceran, yang bias mengurangi efektivitas uji pada kadar rendah, serta

beresiko terjadi kesalahan saat distribusi sampel, yang dapat memengaruhi akurasi hasil (Sari dkk. 2022).

2. Dilusi Agar Solid

Metode dilusi padat merupakan prosedur pengujian aktivitas antimikroba yang digunakan pada media agar yang telah berisi inokulasi bakteri serta antimikroba. Metode ini sering digunakan untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM), terutama dalam pengujian kombinasi antara bakteri atau antimikroba uji. Uji kerentanan antibakteri dan antijamur lebih sesuai menggunakan teknik dilusi agar. Metode dilusi agar didasarkan pada prinsip pengenceran tabung untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM), yang diukur dari pertumbuhan koloni bakteri (Wiegand dkk. 2008).

Keunggulan dari metode ini meliputi efisiensi penggunaan media, ketersediaan alat inokulasi otomatis (*replicator*) yang memungkinkan pengujian hingga 60 sampel per lempeng agar, serta kemampuannya dalam memperluas rentang konsentrasi antimikroba dan meningkatkan akurasi penentuan titik akhir (KHM). Namun, metode ini juga memiliki keterbatasan yaitu kesulitan menjaga suhu optimal agar (45-50°C) agar tidak memengaruhi efektivitas antimikroba, kesulitan pembacaan titik akhir, dan kemurnian inokulum juga tidak mudah diverifikasi. Selain itu, jika tidak menggunakan sistem otomatis metode ini cukup melelahkan dan memerlukan sumber daya teknik dan ekonomis yang besar (Wiegand dkk. 2008).

2.4 Pasta Gigi

Pasta gigi merupakan sediaan berbentuk semi padat yang terdiri dari kombinasi bahan abrasif, pembersih dan berbagai bahan tambahan lainnya.

Formulasi ini dibuat agar zat aktif di dalamnya dapat berfungsi secara efektif pada permukaan gigi, sekaligus memberikan perlindungan terhadap kerusakan gigi. Penggunaannya ditujukan untuk membantu menghilangkan endapan yang terbentuk secara alami pada gigi, dan idealnya digunakan bersamaan dengan sikat gigi (Kresnawati & Mutmainah 2023).

Pasta gigi memiliki berbagai fungsi penting, antara lain membantu mengeliminasi bakteri, mengontrol pembentukan plak secara kimiawi, memoles permukaan gigi, memperkuat struktur gigi, mengurangi atau menghilangkan bau mulut, memberikan sensasi kesegaran pada rongga mulut, serta menjaga kesehatan jaringan gusi. Sediaan ini berbentuk massa kental yang dihasilkan dari kombinasi komponen serbuk dan cairan.

2.4.1 Komponen Pasta Gigi

Dalam formulasi pasta gigi, terdapat dua jenis komponen utama, yaitu bahan aktif dan bahan tidak aktif. Bahan aktif berperan dalam memberikan efek terapeutik, seperti agen antibakteri yang membantu mencegah infeksi mikroba. Sementara itu, bahan tidak aktif berfungsi untuk memberikan konsistensi pada sediaan, menyatukan semua komponen formulasi, dan memberikan warna, rasa, dan aroma yang diinginkan. Komponen tidak aktif antara lain bahan abrasif, humektan, bahan pengikat, surfaktan, pengawet, pemanis, zat perisa, dan zat pewarna (Vranic dkk. 2004).

1. Bahan abrasif

Bahan abrasif merupakan komponen utama dalam pasta gigi yang berfungsi untuk menghilangkan plak, sisa makanan, dan noda pada permukaan gigi tanpa merusak jaringan email. Sifat utama bahan abrasif

adalah kekerasannya. Beberapa jenis bahan abrasif yang umum digunakan antara lain:

- a. Kalsium karbonat (CaCO_3): Serbuk putih halus, tidak berbau, dan tidak larut dalam air. Telah lama digunakan dan memiliki daya abrasif yang relatif tinggi.
- b. Kalsium fosfat dibasa dihidrat ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$): Memiliki efek abrasif yang ringan dan nyaman digunakan, tetapi cenderung mengeras jika kehilangan air kristalnya, sehingga memerlukan penstabil tambahan seperti garam magnesium.
- c. Silikat hidrat ($\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$): Bahan abrasif berbasis silikon dioksida amorf, sangat cocok digunakan dalam pasta gigi yang mengandung fluorida karena tidak bereaksi membentuk senyawa yang tidak larut.

2. Humektan

Zat ini berfungsi untuk mencegah hilangnya air dan menghindari pengerasan pasta gigi di dalam kemasan maupun saat terpapar udara. Selain itu, zat ini juga membantu memberikan tekstur yang lembut pada sediaan. Contohnya adalah polialkohol dengan rantai pendek seperti gliserol, sorbitol (dalam bentuk larutan air yang sangat pekat), propilen glikol, dan polietilen glikol.

3. Bahan pengikat

Bahan pengikat berfungsi untuk menjaga kestabilan formulasi pasta gigi dengan mencegah terjadinya pemisahan antara komponen bubuk dan cair. Selain itu, bahan ini juga membantu mempertahankan kelembapan sediaan dengan mengikat air, serta memengaruhi sifat

viskoelastisitas, pembusaan, dispersi, dan kenyamanan saat digunakan. Bahan pengikat yang umum digunakan adalah natrium karboksimetilselulosa (CMC) karena larut dalam air, stabil, dan kompatibel dengan bahan lain. Selain CMC, bahan pengikat lainnya meliputi turunan selulosa (metaselulosa, hidroksietilselulosa), polisakarida alami (alginate, karagenan, gom xantan), polimer sintetis (natrium poliakrilat), serta miner lempung (bentonin dan laponit).

4. Surfaktan

Surfaktan, seperti natrium lauril sulfat, berperan dalam menghasilkan busa saat proses menyikat gigi. Senyawa ini berfungsi sebagai deterjen yang membantu mengangkat kotoran serta mengemulsikan plak yang menempel pada permukaan gigi.

5. Pengawet

Bahan pengawet berfungsi untuk mencegah berkembangnya mikroorganisme dalam sediaan pasta gigi. Jenis pengawet yang umum digunakan antara lain natrium benzonat, metilparaben, dan etilparaben.

6. Pemanis

Pemanis berfungsi untuk meningkatkan rasa pasta gigi, memberikan sensasi manis yang lembut saat digunakan. Jenis pemanis yang sering digunakan antara lain natrium sakarin, sorbitol, dan gliserol. Selain itu, xylitol dikenal sebagai pemanis yang juga memiliki efek anti-karies.

7. Zat perisa

Zat perisa digunakan untuk menutupi bau dan rasa tidak enak dari bahan-bahan dasar, serta memberikan sensasi dingin dan segar dimulut. Umumnya kombinasi minyak esensial yang tidak larut air seperti spearmint, peppermint, eucalyptus, dan mentol dimanfaatkan sebagai perisa dalam pasta gigi.

8. Zat pewarna

Sebagian besar pasta gigi mengandung zat pewarna yang berfungsi memberikan tampilan visual yang menarik. Zat pewarna ini biasanya diklasifikasikan berdasarkan Indeks Warna (CI). Salah satu zat pewarna yang umum digunakan adalah titanium dioksida, yang ditambahkan untuk menghasilkan warna putih pada pasta gigi.

2.4.2 Fluoride Dalam Pasta Gigi

Fluoride merupakan ion anorganik yang secara luas digunakan dalam produk perawatan gigi, terutama pasta gigi sebagai agen utama pencegah karies gigi. Fluoride berperan dalam memperkuat struktur enamel melalui prose remineralisasi dan penghambatan demineralisasi, sehingga meningkatkan resisten terhadap serangan asam yang dihasilkan oleh bakteri kariogenik di rongga mulut. Fluoride jufa memiliki efek antibakteri secara tidak langsung dengan menghambat metabolisme bakteri penyebab karies sehingga menurunkan produksi asam pada biofilm plak gigi (Yeh dkk. 2025).

Mekanisme remineralisasi fluoride bekerja dengan menggantikan ion hidroksil pada hidroksiapatit menjadi fluorohidroksiapatit dan fluorapatite yang

kurang larut dan lebih stabil. Bentuk mineral yang lebih stabil tersebut menurunkan titik kritis pH untuk demineralisasi dari sekitar 5,5 menjadi lebih rendah, sehingga enamel menjadi lebih tahan terhadap serangan asam. Selain itu, keberadaan fluoride juga dapat menghambat enzim anolase dalam jalur glikolisis bakteri, sehingga dapat menurunkan produksi asam oleh bakteri di dalam plak. Berbagai teknologi fluoridasi, seperti REFIX atau *bioactive glass fluoridasi*, dapat merangsang pembentukan mineral pada permukaan maupun lapisan bawah enamel secara efektif, meskipun efektivitasnya dapat bervariasi tergantung pada formulasi dan pH sediaan (Fernandes dkk. 2022).

Fluoride efektif dalam remineralisasi dan mencegah karies, namun paparan fluoride dalam jumlah berlebihan terutama secara sistemik dapat menimbulkan efek samping seperti fluorosis gigi. Kondisi ini muncul ketika jumlah fluoride yang diterima selama masa pembentukan gigi melebihi batas aman yang direkomendasikan. Pemantauan kadar fluoride dalam produk perawatan mulut penting untuk mengurangi resiko tersebut sekaligus mempertahankan efek terapeutiknya (Yeh dkk. 2025).

Dalam penelitian ini, fokus pada pasta gigi herbal yang menggunakan ekstrak daun pegagan tanpa fluoride. Ekstrak pegagan dipilih karena memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*, sehingga dapat menjadi alternatif alami dalam mencegah karies. Secara teoritis, kombinasi fluoride dengan ekstrak pegagan dapat menimbulkan efek sinergis, dengan fluoride memperkuat enamel dan pegagan menghambat pertumbuhan bakteri. Namun, penelitian lebih lanjut diperlukan untuk memastikan keamanan dan efektivitas kombinasi tersebut.

2.4.3 Penelitian Terdahulu Pasta Gigi Herbal Sebagai Antibakteri

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa bahan alami dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri dalam sediaan pasta gigi. (Hidayati dkk. 2024) menemukan bahwa kombinasi ekstrak daun peppermint (*Mentha pipeita l.*) dan daun sirih merah (*piper crocatum*) dalam sediaan pasta gigi terbukti efektif menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*. Peppermint meskipun efektif, memiliki aroma yang sangat kuat sehingga dapat menurunkan tingkat penerimaan konsumen (Zahrannisa dkk. 2022). Menurut (Suryono dkk. 2024), menunjukkan bahwa pasta gigi yang berbahan dasar propolis 10% terbukti efektif menghambat pertumbuhan bakteri biofilm, termasuk *Streptococcus mutans*. Meskipun propolis terbukti memiliki aktivitas antibakteri yang kuat, pemanfaatan propolis dalam sediaan pasta gigi masih menghadapi keterbatasan terutama karena variasi komposisi dan kandungan senyawa aktif yang dipengaruhi asal geografi, jenis tanaman sumber resin, musim, serta spesies lebah penghasil. Perbedaan ini menyebabkan kandungan bioaktif seperti flavonoid dan fenolik tidak selalu konsisten, sehingga proses standarisasi mutu dan kestabilan aktivitas antibakteri sulit dicapai (Kasote dkk. 2022). Penelitian (Meutia dkk. 2024) melaporkan bahwa pasta gigi yang diformulasikan dengan ekstrak lidah buaya (*Aloe vera*) juga efektif dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*. Hasil penelitian ini sejalan dengan (De Oliveira dkk. 2008) yang menunjukkan bahwa kemampuan pasta gigi berbahan dasar *Aloe vera* dalam menurunkan plak dan gingivitis pada uji klinis, meskipun penelitian tersebut juga melaporkan beberapa responden yang merasakan rasa tidak enak, sehingga berpotensi mengurangi tingkat penerimaan konsumen.

Daun pegagan (*Centella asiatica* (L). Urb) dapat dijadikan alternatif dengan berbagai keunggulan dalam pengembangan sediaan pasta gigi herbal. Beberapa penelitian terbaru menunjukkan bahwa daun pegagan memiliki aktivitas antibakteri yang konsisten terhadap *Streptococcus mutans*, sebagaimana dilaporkan oleh (Chonsut dkk. 2024). Karakterisasi simplisia dan ekstrak etanol pegagan menunjukkan adanya senyawa bioaktif berupa saponin, flavonoid, serta tanin yang berperan penting dalam aktivitas antibakteri. Hasil uji organoleptik memperlihatkan bahwa daun pegagan memiliki aroma khas namun tetap dapat diterima sebagai aroma simplisia (H. A. Putri & Mulyanti 2023). Daun pegagan juga termasuk tanaman kosmopolit yang tumbuh liar dan tersebar luas di daerah tropis termasuk Indonesia, sehingga ketersediaannya melimpah dan mudah diperoleh. Kondisi ini menjadikan pegagan lebih unggul dibandingkan beberapa bahan alami lain yang penggunaannya terbatas karena faktor ketersediaannya dan sifat organoleptik (Azzahra & Hayati 2018). Dengan kandungan yang konsisten, aroma yang khas yang masih dapat diterima, serta ketersediaannya yang mudah, pegagan berpotensi besar diformulasikan dalam sediaan pasta gigi herbal.

2.5 Ekstraksi

2.5.1 Definisi Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan senyawa aktif dari bahan padat atau cair dengan menggunakan pelarut tertentu. Ekstraksi padat-cair atau disebut juga *leaching* adalah metode untuk memisahkan komponen yang larut (solut) dari campurannya yang mengandung bahan padat tidak larut (*inert*) dengan bantuan pelarut cair. Proses ini umumnya melibatkan mekanisme difusi (Prayudo dkk. 2017).

Prinsip dari ekstraksi padat-cair terletak pada kemampuan senyawa yang terdapat dalam matriks yang kompleks dari suatu padatan yang dapat larut dalam pelarut tertentu. Beberapa faktor penting yang perlu diperhatikan agar proses ekstraksi berjalan optimal meliputi: senyawa target harus mudah larut dalam pelarut dalam waktu singkat, pelarut yang digunakan harus selektif terhadap senyawa yang diinginkan, konsentrasi senyawa analit cukup tinggi untuk mempermudah proses ekstraksi, serta tersedia cara yang efektif untuk memisahkan senyawa analit dari pelarut setelah proses ekstraksi selesai (Masúd & Puspitasari, 2024).

1. Maserasi

Ekstraksi maserasi merupakan metode ekstraksi sederhana yang dilakukan dengan merendam serbuk tanaman dalam pelarut pada suhu kamar dan wadah tertutup. Proses ini mengandalkan prinsip kesetimbangan konsentrasi antara senyawa dalam sel tanaman dan pelarut. Ekstraksi dihentikan saat kesetimbangan tercapai, kemudian pelarut dipisahkan melalui penyaringan. Metode ini cocok untuk senyawa yang sensitif terhadap panas (termolabil), namun memiliki kekurangan seperti waktu proses yang lama, kebutuhan pelarut yang cukup banyak, serta kemungkinan kehilangan senyawa yang sulit larut pada suhu kamar (Mukhtarini 2014).

2. Perkolasi

Perkolasi merupakan metode ekstraksi dimana serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam percolator, yaitu wadah silinder dengan kran dibagian bawah. Pelarut ditambahkan dari atas dan dibiarkan menetes perlahan melalui sampel ke bagian bawah. Keunggulan metode ini adalah

aliran pelarut yang terus menerus menyentuk sampel, sehingga senyawa dapat terlarut secara maksimal. Namun, jika sampel tidak tercampur secara merata, pelarut dapat gagal mengekstraksi seluruh bagian secara efektif. Selain itu, metode ini banyak membutuhkan pelarut dan memerlukan waktu yang cukup lama (Mukhtarini 2014).

3. Soxhlet

Metode Soxhlet dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel dalam kantong selulosa (seperti kertas saring) yang dimasukkan kedalam klonsong, diantara labu dan kondensor. Pelarut ini dimasukkan kedalam labu, lalu dipanaskan pada suhu dibawah titik refluks. Kelebihan metode ini adalah ekstraksi berlangsung terus menerus dengan pelarut murni hasil konsensasi, sehingga lebih efisien dalam penggunaan pelarut dan waktu. Namun, kelemahan adalah resiko degradasi senyawa yang sensitif terhadap panas karena proses berlangsung pada suhu mendekati titik didih (Mukhtarini 2014).

4. Reflux dan Destilasi Uap

Metode reflux dilakukan dengan mencampurkan sampel dan pelarut dalam labu yang disambungkan ke kondensor, lalu dipanaskan hingga titik didih. Uap yang terbentuk akan mengembun dan kembali ke dalam labu, memungkinkan ekstraksi berlangsung terus menerus. Destilasi uap memiliki prinsip serupa, namun lebih umum digunakan untuk mengekstraksi minyak atsiri yang terdiri dari senyawa mudah menguap. Selama pemanasan, uap terkondensasi dan destilat (terpisah sebagai 2 bagian yang tidak saling bercampur) ditampung dalam wadah yang

terhubung dengan kondesor. Kelemahan kedua metode ini adalah resiko degradasi senyawa yang sensitif terhadap panas (termolabil) akibat paparan suhu tinggi selama proses (Mukhtarini 2014).

