

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bakteri *Staphylococcus aureus*

2.1.1 Definisi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Bakteri Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,5-1,0 μm , tersusun dalam kelompok yang tidak teratur menyerupai bentuk buah anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak (BSN,2015). Lebih dari 90% isolat klinik menghasilkan *S. Aureus* yang mempunyai kapsul polisakarida atau selaput tipis yang berperan dalam virulensi bakteri (Jawetz et al; 1995).

Staphylococcus aureus mudah tumbuh pada kebanyakan perbenihan bakteri dalam aerobik atau mikroaerofilik. Bakteri ini tumbuh paling optimum pada suhu 37⁰C, tetapi paling baik dalam pembentukan pigmen pada suhu kamar antara 20⁰C-25⁰C. Bakteri *Staphylococcus areus* menghasilkan katalase, yang membedakan dengan bakteri *Streptococcus*. Bakteri ini meragikan banyak karbohidrat dengan waktu yang lambat, menghasilkan asam laktat, tetapi tidak menghasilkan gas. *Staphylococcus aureus* relatif resisten terhadap pengeringan, panas, dan resisten terhadap NaCl (Natrium klorida 9%). Kepekaan bakteri *Staphylococcus aureus* terhadap banyak antimikroba berbeda-beda (Syamsul Alam, 2015). Rahmi et al (2015) mengatakan bahwa *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri patogen yang berkaitan dengan virulensi toksin, invasive, dan ketahanan terhadap antibiotic.

Staphylococcus dapat menyebabkan penyakit berkat kemampuannya melakukan pembelahan dan menyebar luas ke dalam jaringan melalui produksi beberapa bahan ekstraseluler. Beberapa bahan tersebut dapat berupa enzim maupun toksin. *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus viruen* lainnya memiliki bergam factor virulensi, yang mencakup protein-prrotein permukaan yang berperan dalam perlekatan

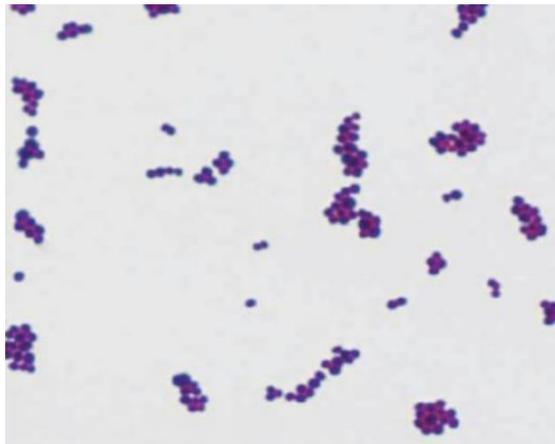
kuman, enzim-enzim yang mengurangi protein, dan toksin yang merusak sel penjamu (Husna, 2015).

2.1.2 Klasifikasi Bakteri *Staphylococcus Aureus*

Bakteri dengan nama binomial *Staphylococcus aureus* memiliki klasifikasi sistematika sebagai berikut: (Rosenbach, 1884)

Domain : Bacteria
Kingdom : Eubacteria
Filum : Firmicutes
Kelas : Bacilli
Ordo : Bacillales
Family : Staphylococcaeae
Genus : *Staphylococcus*
Spesies : *S. Aureus*

2.1.3 Morfologi Bakteri *Staphylococcus aureus*



Gambar 2.1 Bakteri *Staphylococcus aureus* perbesaran 1000x (Sumber: Brooks *et al.*, 2013)

Karakterisasi morfologi bertujuan untuk mengamati baik morfologi koloni maupun morfologi sel bakteri pada isolat bakteri yang telah lolos seleksi. Ketika ditumbuhkan dalam media yang bervariasi, mikroorganisme akan menunjukkan penampakan makroskopis yang berbeda-beda pada pertumbuhannya. Perbedaan tersebut dinamakan karakteristik kultur, yang digunakan sebagai dasar untuk memisahkan mikroorganisme dalam kelompok taksonimik. Karakteristik bakteri

Staphylococcus aureus Koloni pada pembedihan padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan berbentuk bundar, halus menonjol, dan berkilau merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7- 1,2 μm , tersusun dalam kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora yang mempunyai kapsul polisakrida atau selaput tipis yang berperan dalam virulensi bakteri (Jawetz et al, 1995).

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif berbentuk kokus, berdiameter 1 mm dan tersusun atas kelompok-kelompok yang tidak beraturan, tidak membentuk spora, dan dapat lisis oleh obat-obatan seperti antibiotik penisilin dan bertahan hidup tanpa oksigen (Jawetz et al, 2001).

2.2 Definisi Infeksi

Menurut kamus kedokteran Dorland (2012) infeksi merupakan masuknya mikroorganisme yang memperbanyak diri di jaringan tubuh dan menyebabkan peradangan. Penyakit infeksi merupakan penyakit yang disebabkan oleh masuk dan berkembang biaknya mikroorganisme, suatu kelompok luas dari mikroorganisme makroskopik yang terdiri dari satu atau banyak sel seperti bakteri, fungi, dan parasit serta virus (Mandell GL dkk, 2010). Penyakit infeksi banyak terjadi di daerah tropis seperti Indonesia, bahkan ada yang bersifat endemik menetap berada dalam masyarakat pada suatu populasi tertentu (Fatimah, S dkk, 2016).

Dalam kutipan jurnalnya Mardinah (2017) menyatakan masalah utama dalam bidang ilmu kedokteran sekarang terkait berat tentang angka kejadian infeksi, hal tersebut ditunjukkan oleh banyaknya data yang memperlihatkan angka kesakitan dan kematian oleh karena penyakit infeksi.

2.3 Infeksi *Staphylococcus Aureus* pada Kulit

Bakteri patogen *Staphylococcus aureus* adalah bakteri yang menyebabkan terjadinya berbagai jenis infeksi mulai dari infeksi kulit, keracunan makanan sampai dengan infeksi sistemik (Herlina et al, 2015). Infeksi kulit yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* beresiko

besar menginfeksi pada korban yang memiliki luka goresan terbuka, atau melakukan kontak dengan orang yang tengah mengidap infeksi kulit. Infeksi oleh *Staphylococcus aureus* ditandai dengan kerusakan jaringan yang disertai abses bernanah. Beberapa penyakit infeksi yang di sebabkan oleh bakteri *Staphylococcus Aureus* adalah bisul, jerawat, impertigo, dan infeksi luka. Infeksi kulit yang biasanya disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* yaitu impetigo, folikultis, dan abses (Salmelina, 2002).

Infeksi *Staphylococcus aureus* yang lebih berat diantaranya pneumonia, mastitis, infeksi saluran kemih, dan endocarditis, *Staphylococcus aureus* juga merupakan penyebab utama sindrom syok toksik (Warsa, 1994). *Staphylococcus aureus* juga sering menyebabkan keracunan pada makanan karena adanya enterotoksin yang dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus* yang terdapat pada makanan tercemar (Refdanita dkk,2004).

2.4 Pertumbuhan Mikroba

Pertumbuhan didefinisikan sebagai penambahan kuantitas konstituen seluler dan struktur organisme yang dapat dinyatakan dengan ukuran, diikuti dengan penambahan jumlah, penambahan ukuran sel, penambahan berat atau massa dan parameter lain. Sebagai hasil penambahan ukuran dan pembelahan sel atau penambahan jumlah sel mak terjadi pertumbuhan populasi mikroba (Iqbalali, 2008).

Faktor pertumbuhan mikroba dapat dipengaruhi oleh faktor instrinsik dan faktor ekstrinsik. Faktor instrinsik merupakan karakteristik dari makanan atau nutrisi yang dibutuhkan, Sementara faktor ekstrinsik meliputi faktor pada lingkungan disekitar makanan. Pertumbuhan mikroorganisme membutuhkan air, energi, nitrogen, vitamin dan faktor pertumbuhan, mineral (Mossel *et al*, 1995 dan Jay 2000).

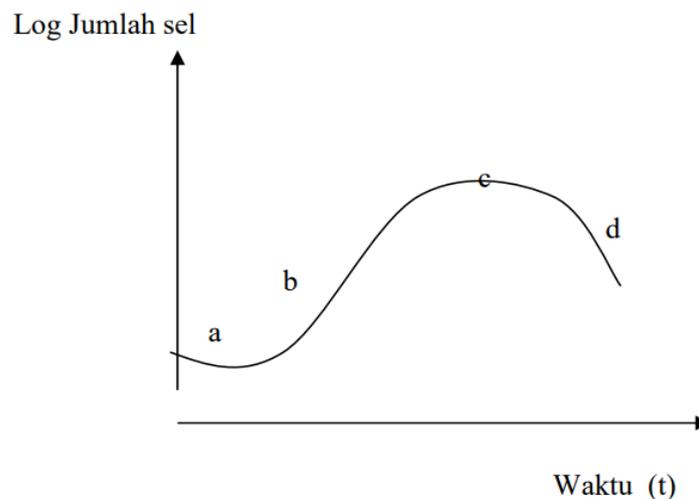
Seperti kebanyakan bakteri gram positif lainnya, *Staphylococcus aureus* membutuhkan komponen organik tertentu untuk kebutuhan nutrisinya. Asam amino dibutuhkan sebagai sumber nitrogen, tiamin dan asam nikotinat digunakan sebagai sumber vitamin B (Jay, 2000).

Menurut ICMSF (1996), *Staphylococcus aureus* sangat resisten terhadap pembekuan, *thawing*. Bakteri ini tumbuh optimal pada suhu 35-40⁰ C. pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* terbatas pada kondisi anaerob, bakteri ini bisa dibunuh pada suhu pasteurisasi.

2.5 Fase-Fase Pertumbuhan Bakteri

Fase dalam pertumbuhan mikroba telah dikenal luas oleh para ahli mikrobiologi. Terdapat 4 fase pertumbuhan bakteri ketika ditumbuhkan pada culture curah yaitu fase adaptasi (*Lag phase*), fase perbanyak (*exponential phase*), fase statis (*stationer phase*) dan fase kematian (*Death phase*) (Purwoko, 2003)

Kurva pertumbuhan mikroba merupakan gambaran pertumbuhan secara bertahap sejak awal hingga terhenti mengadakan kegiatan pertumbuhan. Kurva ini pada umumnya terbagi menjadi 4 fase yaitu antara lain:



Gambar 2.2 Kurva pertumbuhan bakteri, terdapat 4 fase a= *lag phase*, b= *exponential phase*, c= *stationer phase*, d= *death phase* (sumber: Brock dan Madigan, 1991)

a. Fase adaptasi (*Lag phase*)

Secara fase ini pertumbuhan individu tidak secara nyata terlihat. Karena fase ini dapat juga sebagai fase adaptasi (penyesuaian) ataupun fase pengaturan

jasad untuk satu kegiatan dalam lingkungan yang mungkin baru, sehingga bentuk kurva selama fase ini mendatar.

b. Fase Eksponensial (*Eksponential phase*)

Perubahan bentuk dan peningkatan jumlah individu akan terjadi sehingga bentuk kurva meningkat dengan tajam (menanjak). Peningkatan ini dipengaruhi oleh faktor lingkungan.

c. Fase Stasioner (*Stationer phase*)

Fase pengurangan sumber nutrisi serta faktor-faktor lain yang terkandung didalam jasadnya sendiri, mencapai puncak pertumbuhan pada titik yang tidak bisa dilampaui lagi, selama pada fase ini kurva pertumbuhan terlihat mendatar, populasi pada fase ini hidup dalam keadaan maksimal stasioner yang konstan.

d. Fase Kematian (*Death phase*)

Ini merupakan fase akhir dan suatu kurva dimana jumlah individu secara tajam akan menurun sehingga kurva tampaknya akan mendekati titik awal kembali (Suriawiria, 2008).

2.6 Tanaman Sirih

Perbedaan morfologi yang paling menonjol ada pada bentuk daun, tekstur daun, warna batang, warna tangkai daun, habitus dan aroma. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat beberapa jenis sirih yang dikenal dengan nama daerah sirih gading, sirih cacing dan sirih hijau dengan nama botani *Piper betle L.* serta sirih merah dengan nama botani *Piper crocatum L.* atau *piper ornatum L.* Kadar atsiri masing masing jenis sirih berturut-turut: sirih hijau (0,6%), sirih cacing (0,3%), sirih gading (0,3%), dan sirih merah (0,6%) (Badan Litbang Kesehatan, KEMENKES RI, 2013).

2.7 Sirih Hijau (*Piper belte L*)

2.7.1 Definisi daun sirih hijau (*Piper belte L*)

Piper merupakan salah satu marga dalam *family piperceae* yang meliputi lebih dari seribu jenis tumbuhan yang tersebar di daerah tropis dan subtropis (Heyne,1987). Secara tradisional daun sirih digunakan

untuk antiradang, antiseptic, antibakteri pengehenti pendarahan, Pereda batuk, peluruh perut, perangsang keluarnya air liur, pencegah cacangan, penghilang gatal, dan penenang (Heyne, 1987).

Tumbuhan yang hidup subur pada dataran rendah maupun dataran tinggi di wilayah Indonesia ini merupakan salah satu tanaman yang telah diuji kasiatnya sebagai tanaman obat. Bagian tanaman yang digunakan sebagai obat antara lain daun, akar, dan minyak yang berkhasiat obat (Dalimarta, 2006).

2.7.2 klasifikasi Daun Sirih Hijau (*Piper betle L*)

Tumbuhan dengan nama binomial *piper betle L* mempunyai klasifikasi sistematika sebagai berikut: (Hutapea, 1997)

Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Piperales
Suku	: Piperaceae
Genus	: Piper
Spesies	: <i>Piper betle L</i>

2.7.3 Morfologi Daun Sirih Hijau (*Piper betle L*)



Gambar 2.3 Morfologi daun sirih hijau (*Piper betle L*) (sumber: *Doc pribadi*)

Ciri morfologi menurut Badan Litbang Kesehatan, KEMENKES RI,2013) disajikan pada tabel 2.1

Tabel 2.1 Deskripsi morfologi daun sirih hijau (*Piper betle L.*)

No	Bagian tanaman	Keterangan
1.	Habitus	Memanjat, merayap, panjang 1-3 m
2.	Batang	Silindris, beruas-ruas, panjang antara 7-20 cm, pada bagian pangkal mengayu, beralur tegas, hijau atau hijau kekuningan
3.	Daun Jenis Bentuk Duduk daun Panjang Lebar Tangkai daun Tepi daun Ujung daun Pangkal daun Tulang daun Aroma Permukaan	Tunggal Bulat telur sampai lonjong Berseling 5-15 cm 2-10 cm 5-9 cm Rata Meruncing Membulat Menyirip Kuat Halus, licin
4.	Bunga	Majemuk, bentuk bulir, putih
5.	Akar Tipe Warna	Akar panjat Putih

2.7.4 Kandungan dalam daun sirih hijau (*Piper betle L.*)

Daun sirih mengandung senyawa metabolit sekunder antara lain, saponin, flavonoid, alkaloid, polifenol dan minyak atsiri. Daun sirih mempunyai aroma yang khas karena mengandung minyak astari 1-4,2%, air, protein, lemak, karbohidrat, kalsium, fosfor, vitamin A, B, C,

yodium, gula dan pati. Fenol alam yang terkandung dalam minyak atsiri memiliki daya antiseptik 5 kali lebih kuat dibandingkan fenol biasa (Bakterisid dan Fungisid) tetapi tidak sporasid (Putri ZF, 2010).

a. Minyak Atsiri

Minyak atsiri merupakan senyawa metabolit sekunder yang termasuk dalam golongan terpen yang disintesis melalui jalur asam mevalolat (ganjewala, 2009). Minyak atsiri adalah salah satu jenis minyak nabati yang multimanfaat. Bahan baku minyak atsiri ini diperoleh dari berbagai bagian tanaman seperti daun, bunga, buah, biji, kulit biji, batang, akar atau rimpang. Salah satu ciri utama minyak atsiri yaitu mudah menguap dan beraroma khas (Rusli, MS, 2010).

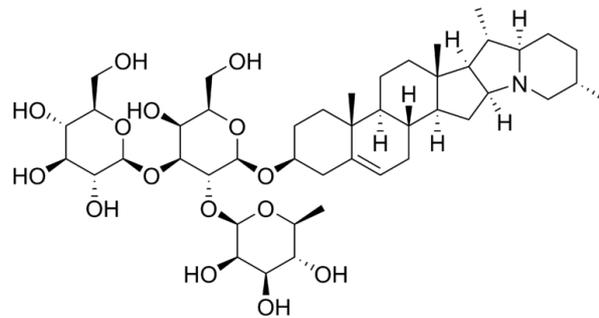
Minyak atsiri umumnya terjadi dari berbagai campuran persenyawaan kimia yang terbentuk dari unsur karbon (C), hydrogen (H), dan oksigen (O) serta beberapa persenyawaan kimia yang mengandung unsur Nitrogen dan belerang (Ketaren, 1985). Komponen utama minyak atsiri adalah terpena dan turunan terpen yang mengandung atom oksigen. Banyak terpena yang harum dan seringkali dapat dikenali langsung dalam sulungan tumbuhan bila terdapat sebagai kandungan utama kegunaan minyak atsiri sangat luas khususnya dalam berbagai bidang industry, contohnya antara lain dalam industry kosmetik, industry makanan, industry farmasi atau obat-obatan (antibakteri, antinyeri, antiinfeksi, dan insektisida (Luthony dan Rahmawati, 1994).

b. Saponin

Saponin adalah jenis glikosida yang banyak ditemukan dalam tumbuhan. Saponin memiliki karakteristik berupa buih, sehingga ketika direaksikan dengan air dan dikocok maka akan terbentuk buih yang dapat bertahan lama. Saponin mudah larut dalam air dan tidak larut dalam eter (Hartono, 2009).

Saponin yang banyak terkandung dalam tanaman telah lama digunakan untuk pengobatan tradisional (Deore et al., 2009; Wink,

2015). Saponin merupakan senyawa dalam bentuk glikosida yang tersebar luas pada tanaman tingkat tinggi serta beberapa hewan laut dan merupakan kelompok senyawa yang beragam dalam struktur, sifat fisikokimia dan efek biologisnya (Patra and Saxena, 2009; Addisu and Assefa, 2016). Berikut merupakan struktur kimia senyawa saponin.



Senyawa saponin yang bersifat detergen bekerja dengan membentuk suatu kompleks dengan sterol yang terdapat pada membran, sehingga menyebabkan kerusakan membran (Barile *et al.*, 2006). Senyawa saponin juga berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang bersifat impermeabel terhadap senyawa-senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membran menurun, morfologi membran sel berubah, dan akhirnya dapat menyebabkan membran sel rapuh dan lisis (Bangham dan Horne, 2006 dalam Yani, 2004). Rusaknya membran sel bakteri mengakibatkan membran plasma pecah, sel kehilangan sitoplasma, transport zat terganggu, dan metabolisme terhambat sehingga bakteri mengalami hambatan pertumbuhan bahkan kematian sehingga menyebabkan sel bakteri lisis (Tortora *et al.*, 2007).

Secara umum saponin merupakan bentuk glikosida yang memiliki aglikon berupa steroid dan triterpene. Triterpene merupakan jenis senyawa bahan alam yang memiliki jumlah atom carbon sebanyak tiga. Dari aglikonnya senyawa saponin terbagi menjadi dua yaitu saponin steroid dan saponin triterpenoid. Berdasarkan struktur sapogenin, di kenal dua macam saponin yaitu steroid (biasanya tetrasiklik triterpenoid) dan saponin jenis tetrasiklik triterpenoid

keduanya mempunyai ikatan glikosida C-3 dan mempunyai asal-usul biogenis melalui jalur asam mevalolat dan unit isoprenoid (Evans, 2002).

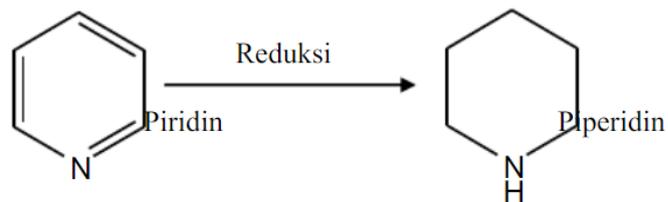
Saponin steroid merupakan senyawa yang tersusun atas inti steroid (C-27) dengan molekul karbohidrat steroid saponin terhidrolisis menghasilkan satu aglikon yang dikenal sebagai sapogenin. Saponin triterpenoid merupakan senyawa yang tersusun atas triterpenoid dengan molekul karbohidrat dihidrolisis menghasilkan suatu aglikon yang disebut sapogenin tipe saponin ini merupakan turunan -amyrine (Amirt Pal, 2002).

Menurut survei fitokimia saponin steroid banyak ditemukan pada tanaman monokotil terutama *Dioscoreaceae*, *Amarylidaceae*, dan *Liliaceae*. Sedangkan saponin triterpenoid jarang ditemukan pada tumbuhan monokotil namun banyak terdapat pada tumbuhan dikotil.

c. Alkaloid

Alkaloid merupakan golongan zat sekunder yang terbesar terdapat pada tumbuhan. Pada umumnya senyawa alkaloid bersifat basa yang mengandung satu atau lebih gugus atom nitrogen, biasanya dalam gabungan, sebagai gabungan dari siklik. Alkaloid dalam tumbuhan biasanya terdapat sebagai garam (misal sebagai tartat dan sitrat) dan sebagai alkaloid bebas golongan basa kuarterner danamina teroksidasi bersifat lebih polar sehingga mudah tersari oleh pelarut organik. Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri karena mekanisme kerja senyawa ini mampu mempengaruhi komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian pada sel bakteri tersebut (Robinson, 1991).

Alkaloid golongan piridin-piperidin mempunyai satu cincin karbon yang mengandung satu atom nitrogen. Turunan piperidin banyak ditemukan pada tumbuhan golongan *pipericeae* yang sering dijadikan bahan obat dan bahan bumbu dapur. Berikut merupakan struktur kimia senyawa saponin.

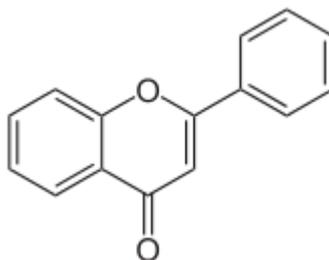


d. Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa polar yang umumnya mudah larut dalam pelarut polar seperti etanol, dan aseton. Flavonoid adalah golongan terbesar dari senyawa fenol memiliki kemampuan antibakteri dengan mendenaturasi protein yang menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri (Chussie & Lamb, 2011).

Flavonoid adalah metabolit sekunder dari polifenol, ditemukan secara luas pada tanaman hijau serta makanan dan memiliki berbagai efek bioaktif termasuk anti virus, anti-inflamasi (Qinghu Wang dkk, 2016), kardioprotektif, antidiabetes, anti kanker, (M.M. Marzouk, 2016) anti penuaan, antioksidan (Vanessa dkk, 2014) dan lain-lain. Senyawa flavonoid adalah senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon yang tersusun dalam konfigurasi C6-C3-C6, artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C6 (cincin benzena tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon. (Tiang-Yang dkk, 2018).

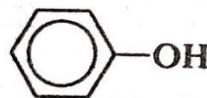
Flavonoid merupakan senyawa yang terdiri atas 15 atom carbon yang terdiri dari dalam konfigurasi C6-C3-C6, yaitu dua cincin aromatic yang dihubungkan oleh satuan tiga karbon (Novi P, 2017). Berikut merupakan struktur senyawa Flavonoid



e. Polifenol

Komponen fenolik atau disebut juga polifenol merupakan hasil dari metabolisme sekunder tanaman. Substansi ini memiliki berbagai macam struktur dan fungsi yang berbeda. Secara umum, fenolik terdiri atas cincin aromatik yang mengikat satu atau lebih gugus hidroksil termasuk turunan fungsionalnya. Penggolongan fenolik sangat beragam, mulai dari molekul sederhana seperti asam fenolik sampai dengan molekul kompleks seperti tanin. Komponen fenolik ini meliputi fenol sederhana, benzokuinon, asam fenolik, fenil asetat, asam sinamat, xanthon, golongan flavonoid, lignin dan bifl avonoid (Dey dkk., 1989).

Polifenol merupakan senyawa yang memiliki struktur dasar berupa fenol. Fenol merupakan struktur yang terbentuk dari benzene tersubstitusi dengan gugus $-OH$. Gugs $-OH$ yang terkandung merupakan activator yang kuat dalam reaksi substitusi aromatic elektrofilik (Fessenden, 1982).



fenol

2.8 Simplisia

Simplisia atau herba adalah bahan alam yang telah dikeringkan, digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan, kecuali hanya dengan proses pengeringan simplisia tidak lebih dari $60^{\circ}C$ (Ditjen POM, 2008).

Simplisia merupakan bahan awal pembuatan sediaan herbal. Mutu simplisia dipengaruhi oleh sumber bahan simplisia, cara pengolahan, dan penyimpanan harus dapat dilakukan dengan cara yang baik (Gunawan, 2010).

Simplisia dibagi menjadi tiga golongan yaitu: (Gunawan, 2010).

a. Simplisia nabati

Simplisia nabati merupakan simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan.

b. Simplisia hewani

Simplisia hewani merupakan simplisia berupa hewan utuh atau zat-zat yang dihasilkan oleh hewan.

c. Simplisia pelikan atau mineral

Simplisia pelikan atau mineral merupakan berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana.

2.9 Metode Ekstraksi

2.9.1 Definisi Ekstraksi

Ekstraksi merupakan metode pemisahan yang menyangkut perpindahan zat dari fasa yang satu ke fasa yang lain. Ekstraksi adalah penyarian zat-zat aktif dari bagian tanaman obat. Adapun tujuan dari ekstraksi yaitu untuk menarik komponen kimia dari dalam simplisia. Salah satu metode yang digunakan untuk penentuan obat tradisional adalah metode ekstraksi. Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan di isolasi. Sebelum memilih suatu metode ekstraksi perlu diperhatikan target metode ekstraksi antara lain: (Sarker SD, dkk, 2006).

- a) Senyawa bioaktif yang tidak diketahui
- b) Senyawa yang diketahui ada pada suatu organisme
- c) Sekelompok senyawa dalam organisme yang berhubungan secara structural

Proses ekstraksi merupakan proses penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Bahan mentah obat yang berasal dari tanaman-tanaman atau hewan yang hanya mengalami proses pengeringan atau yang sering disebut sebagai simplisia nabati dan hewani. Ekstrak adalah produk hasil ekstraksi yang berwujud sediaan dalam bentuk pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, pelarut di uapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian rupa hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Ansel, 1989).

Proses ekstraksi khususnya untuk bahan yang berasal dari tumbuhan atau nabati dapat dilakukan sebagai berikut:

- a) Pengelompokan bagian tumbuhan (daun, bunga, herba, dll)
- b) Pengeringan tumbuhan menjadi simplisia
- c) Pemilihan pelarut yang sesuai perlu di perhatikan

Pelarut polar seperti: air, etanol, methanol, dsb

Pelarut non polar seperti: N-heksan, petroleum eter, kloroform, dsb

2.9.2 Jenis Metode Ekstraksi

1) Ekstraksi Dingin

Metode ini dilakukan tanpa menggunakan pemanasan selama proses penyarian, dengan tujuan untuk menghindari rusaknya senyawa saat proses ekstraksi berlangsung. Jenis metode ekstraksi dingin yaitu maserasi dan perkolasi.

a. Maserasi

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industry (Agoes, 2007). Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk simplisia tanaman dengan penambahan pelarut yang sesuai kedalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu ruang. Dilakukan pengadukan secara teratur pada 3 hari proses perendaman. Ekstraksi di hentikan ketika cairan penyari sudah menembus dinding sel dan masuk dalam rongga sel larutan zat aktif didalam sel dan di luar sel maka larutan terpekat didesak keluar. Setelah proses ekstraksi pelarut yang masih tertinggal didalam ekstrak di pisahkan dengan penyaringan. Proses maserasi memiliki keunggulan untuk mengekstrak senyawa yang bersifat termolabil (Mukhriani, 2014).

b. Perkolisasi

Metode perkolisasi adalah cara penyarian yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Penambahan pelarut pada bagian atas serbuk sampel dan dibirikan menetes perlahan pada bagian bawah percolator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawah). Kelebihan

dari metode perkolasi adalah sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru, sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam percolator tidak homogeny maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area, metode ini membutuhkan pelarut dan waktu yang lama (Mukhriani, 2014).

2) Ekstraksi Panas

Ekstraksi secara panas dilakukan untuk mengekstraksi komponen kimia yang tahan terhadap pemanasan seperti glikosida, saponin, dan minyak-minyak mengupas yang mempunyai titik didih yang tinggi, selain itu pemanasan juga diperuntukkan untuk membuka pori-pori sel simplisia sehingga pelarut organik mudah masuk ke dalam sel untuk melarutkan komponen kimia (Tobo, 2001).

Jenis metode ekstraksi secara panas yaitu, reflux, soxhletasi, Digesti, infusa, dekoksi (Depkes RI, 2000).

2.10 Metode Pengujian Aktivitas Antimikroba

2.10.1 Definisi Sensitivitas Bakteri

Sensitivitas bakteri ini dilakukan untuk mengetahui dan mendapatkan produk alam yang berpotensi sebagai bahan antibakteri serta mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan atau mematikan bakteri pada konsentrasi terendah yang terukur.

Zona hambat merupakan tempat dimana bakteri terhambat pertumbuhannya akibat antibakteri atau mikroba. Zona hambat adalah daerah untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada media agar oleh antibiotik (Pelczar, 1986).

Diameter zona hambat yang terbentuk dapat digolongkan menjadi tiga kategori tersaji dalam tabel 2.1 (Cut Ziadong P, dkk, 2009)

Tabel 2.2 Penggolongan Zona Hambat Bakteri

Diameter Zona Hambat (mm)	Respon Hambat Pertumbuhan
< 3	Lemah
3 – 6	Sedang
> 6	Kuat

2.10.2 Macam-Macam Metode Pengujian Antimikroba yaitu:**1) Metode Difusi****a. Metode *Disc Diffusion* (tes Kirby & Burer)**

Merupakan salah satu metode yang digunakan untuk menentukan aktivitas agen mikroba dengan cara melakukan piringan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media agar (Sylvia T. Pratiwi, 2008)

b. *Ditch-Plate technique*

Pada metode ini sampel uji berupa agen mikroba yang diletakkan pada parit yang dibuat dengan cara memotong media agar dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur dan mikroba uji (maksimum 6 macam) digoreskan ke arah yang berisi agen antimikroba (Sylvia T. Pratiwi, 2008)

c. *Cup-Plate technique*

Metode ini serupa dengan metode disc diffusion, dimana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antimikroba yang akan diuji (Sylvia T. Pratiwi, 2008).

2) Metode Dilusi**a. Metode Dilusi Cair (*Broth dilution*)**

Metode ini mengukur MIC (*Minimum inhibitory concentration*) atau kadar hambat minimum KHM, dan MCB (*Minimum bacterial concentration* atau kadar bunuh minimum (KBM). Cara yang dilakukan adalah membuat seri pengenceran

antimikroba pada medium cair ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji agen antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang telah ditentukan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba, dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang telah terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai KBM (Sylvia T. Pratiwi, 2008).

b. Metode Dilusi Padat

Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat (*solid*). Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji. (Sylvia T. Pratiwi, 2008).

2.10.3 Menghitung Zona Hambat

Zona hambat yang terbentuk diukur dengan menggunakan rumus:

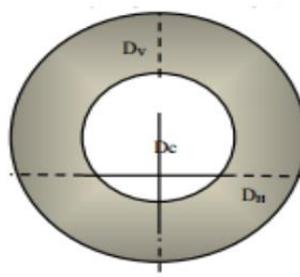
$$\frac{(D_v - D_s) + (D_h - D_s)}{2}$$

Keterangan:

D_v = Diameter vertikal

D_h = Diameter horizontal

D_s = Diameter sumuran(6mm) (Toy et al., 2015)



Gambar 2.4 Diameter Zona Hambat (Toy et al., 2015)