

## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 1.1 Tanaman Halaban (*Vitex Pubescens*)

Tanaman halaban (*Vitex Pubescens Vahl*) ialah salah satu macam tanaman yang berasal dari famili *Lamiaceae*, yang dapat ditemukan dari sekitaran Asia Timur sampai Selatan. Pohon halaban memiliki ciri umum yaitu pohonnya berukuran sedang dengan tinggi pohon yang umumnya mampu memiliki ketinggian sekitar 40 meter. Batang pohonnya umumnya tidak mempunyai akar yang menganjur keluar dan lingkaran pohonnya bisa sampai 130 cm, beralur dalam serta jelas, kayu pohonnya berisi dan keras biasanya dengan warna putih kekuningan. Kayu pohonnya termasuk kuat, serta tidak mempunyai kandungan silica (Setiawati, 2017).

Kayu pohonnya pada saat lembab beraroma seperti kulit kayunya, daunnya bersilang ada atau tidak adanya rambut halus di bagian bawahnya. Membentuk barisan kembang terminal, dengan bunga yang mempunyai kelamin dua, yang tiap lembar kelopak menyatu di sisi dasar dan terbentuk wadah kecil, sedangkan *corolla* menyatu pada sisi bawah dan bentuknya tidak beraturan. Mahkotanya berwarna putih hampir keunguan, batang dan stamen pada bagian rongga mahkotanya, serta pada atas dasar bunganya terdapat buah. Buahnya yang ada daging, bundar agak oval yang berdiameter 5-12 mm yang ketika matang akan berubah warna menjadi ungu gelap. Ada sekitar 1 – 4 biji yang terdapat pada tiap buahnya (Setiawati, 2017).

Ekologi tanaman halaban (*Vitex pubescens*) umumnya yaitu sering dijumpai di daerah dengan lingkungan yang agak terbuka, hutan yang tumbuh dengan alami setelah kerusakan hutan dan terdapat pada pinggiran sungai. Lingkungan tanaman halaban ini yaitu dengan dataran rendah sampai dengan tinggi sekitar 2000 mdpl. Tanaman halaban (*Vitex pubescens*) berkembang baik di lahan dengan tekstur tanah lebih belet sampai tanah berpasir. Ditemukan pada wilayah yang dengan kondisi kering dan basah. Saat cuaca

kering tanaman halaban menjatuhkan daun-daunnya. Pada saat tropik semacam di wilayah *borneo*, berbuah dan berbunga nyaris setiap waktu (Setiawati, 2017).

Divisi : *Spermatophyta*  
Subdivisi : *Angiospermae*  
Kelas : *Dicotyledoneae ordo Tubiflorae*  
Familia : *Lamiaceae*  
Marga : *Vitex*  
Spesies : *Vitex pubescens Vahl*



Gambar 2.1 Pohon Halaban (*Vitex Pubescens*)

(Dokumentasi Pribadi)

Pohon halaban (*Vitex pubescens*) sering dijumpai di Kalimantan, karena kekayaan sumber hayati ini maka kerap digunakan warga sekitar menjadi obat alami, di mana salah satu tanaman yang kerap dimanfaatkan oleh orang dayak, khususnya sebagai terapi tradisional yaitu tanaman halaban, daun tanaman ini digunakan oleh masyarakat setempat untuk obat sakit perut dengan cara memakan langsung daun mudanya, ada juga dengan meminum air rebusannya. Daun dari pohon halaban telah terbukti mengandung senyawa seperti flavonoid, alkaloid, steroid maupun terpenoid. Senyawa ini umumnya dapat berkhasiat sebagai anti oksidan. Pada penelitian sebelumnya telah

membuktikan manfaat mengonsumsi tanaman yang mengandung anti oksidan dapat menurunkan risiko indikasi seperti jantung, kanker, penuaan dini, serta penyakit degeneratif lain (Hermansah, 2005).

Kayu halaban (*Vitex Pubescens Vahl*) oleh masyarakat dayak pedalaman di gunakan sebagai tanaman obat pada pengobatan penyakit tertentu seperti pengobatan penyakit *urticaria*, *maag*, *rhinitis* dan *limpanitis*. Adapun daunnya yang dipakai untuk pengobatan penyakit kulit, kemudian akarnya yang mampu meningkatkan imunitas tubuh dan dapat menjaga stamina pada tubuh. Khasiat ekstrak kayu halaban dalam mengobati penyakit tertentu menandakan keberadaan kandungan senyawa-senyawa tertentu yang berfungsi sebagai bahan obat maupun racun terhadap pemakainya. Pada penelitian sebelumnya ditemukan bahwa fraksi etil asetat dari akar kayu halaban memiliki sifat sebagai anti jamur dan anti rayap (Wardenaar, 2011).

Kayu halaban merupakan salah satu jenis *Vitex* yang mempunyai kontribusi paling banyak di negara Indonesia, karena tanaman ini berkembang nyaris diseluruh pulau Kalimantan dan juga Sumatra. Tanaman ini dapat digunakan untuk penyakit seperti sakit punggung, luka, disentri, gangguan pencernaan, anti inflamasi, anti tumor, dan demam. Pada isolasi tanaman ini terkandung beberapa senyawa seperti 20-hidroxyecdysone, pinnatasteron, retusin, turkesteron,  $\beta$ -sitosterol dan kaempferoltrimetileter (Padmalatha, et al., 2009). Rudrapaul et al (2014) telah menyebutkan terdapat senyawa asam 4hidroxibenzoat, asam 3,4-dihidroxibenzoat dan luteolin. Batang dari kulit tanaman halaban terdapat juga senyawa visciosida, apigenin dan luteolin dan flavonoid (Anwar et al., 2019).

## 2.2 *Streptococcus*

*Streptococcus* termasuk bakteri gram positif berbentuk bulat yang khas dengan berpasangan atau dengan bentuk rantai selama masa pertumbuhannya. *Streptococcus* ialah golongan bakteri heterogen. Di mana beberapa diantaranya adalah anggota flora normal pada manusia (Jawetz dkk, 1996).

*Streptococcus* yaitu bakteri gram positif non motil, tidak berspora, kokus katalase-negatif yang menjadi berpasangan atau menyerupai rantai. Pada pertumbuhan yang lama dapat kehilangan sifat gram positifnya. Sebagian besar bakteri *Streptococcus* adalah anaerob fakultatif serta diantara yang lain merupakan anaerob obligat (Pettersen, 1996).

### **1.2.1 Morfologi dan Identifikasi**

Jawetz (1996) mengatakan bahwa *Streptococcus* merupakan kokus yang tunggal dengan bentuk bulat atau bulat telur yang tersusun dengan rantai. Kokus membelah membelah pada bagian yang tegak lurus rantai. Panjang rantai pada *Streptococcus* bervariasi tergantung dengan faktor lingkungan. *Streptococcus* bersifat gram positif, akan tetapi pada biakan tua dan mati bakteri ini jadi gram negatif. kondisi ini dapat terjadi saat didiamkan semalam. Dinding selnya mengandung protein, karbohidrat dan peptidoglikan. Pili yang menyerupai rambut terbentuk dari protein M yang ditutupi oleh asam lipoteikoat. Asam ini sangat penting untuk melekatkan *Streptococcus* pada sel epitel.

Kebanyakan *Streptococcus* tumbuh pada pembenihan padat sebagai koloni yang diskoit dengan diameter 1-2 mm. Strain dengan bentuk koloni mukoid. Bentuk strain yang sama menunjukkan perbedaan bentuk koloni. Energi sebagai pertumbuhan berasal dari penggunaan gula. Pertumbuhan *Streptococcus* cenderung menjadi tidak subur pada pembenihan padat atau dalam kaldu kecuali yang mengandung banyak darah. Kebutuhan makanan bakteri ini berbeda-beda setiap spesiesnya. Kebanyakan *Streptococcus* bersifat fakultatif anaerob (Jawetz dkk, 1996).

### **1.2.2 Klasifikasi *Streptococcus***

Jawetz (1996), klasifikasi *Streptococcus* dikelompokkan menjadi beberapa bagian yaitu :

### **2.2.2.1 Morfologi Koloni dan Reaksi Hemolitik Pada Agar Darah**

*Streptococcus* terbagi menjadi 3 bagian berdasarkan hemolisis pada agar darah yaitu :  $\alpha$ -hemolisis (hemolisis hijau dan tidak sempurna),  $\beta$ -hemolisis (lisis komplit dan terang) serta  $\gamma$  – hemolisis (tidak terjadi hemolisis) (Patterson, 1996).

$\alpha$ -hemolisis disebabkan zat besi yang tereduksi dalam hemoglobin, menyebabkan *Streptococcus* berwarna hijau dalam darah.  $\beta$ -hemolisis merupakan sel darah merah yang meluruh secara luas, penuh, terang serta daerah sekitar koloni bersih.  $\gamma$ -hemolisis adalah jenis *Streptococcus* yang tidak mengalami hemolisis.

### **2.2.2.2 Spesifitas Serologi Dari Unsur Dinding Sel Golongan Spesifik**

Penggolongan serologi berdasarkan pada perbedaan antigen di dalam dinding sel karbohidrat (A sampai V). Dinding sel protein yang berikatan pada pili, serta kapsul polisakarida pada *Streptococcus* kelompok B (Patterson, 1996). Penentuan ini umumnya dilakukan hanya pada kelompok A sampai dengan D, F, G yang dapat menyebabkan penyakit pada manusia dan merupakan reagen yang mempunyai kemungkinan untuk penentuan jenis dengan menggunakan aglutinasi sederhana maupun reaksi warna (Jawtz dkk, 1996).

### **2.2.2.3 Reaksi Biokimia dan Resistensi Faktor Fisika-Kimia**

Uji biokimia termasuk reaksi peragian pada gula, uji keberadaan enzim dan uji untuk kepekaan serta resistensi terhadap zat kimia tertentu. Uji biokimia sering digunakan untuk mengklasifikasikan *Streptococcus* sehabis pertumbuhan koloni dan sifat khas hemolitik dikerjakan. Uji biokimia dilakukan untuk spesies yang dengan khas tidak bereaksi

dengan antibodi yang umumnya digunakan untuk zat golongan spesifik. Untuk menentukan jenis dari *Streptococcus Viridan* memerlukan beberapa uji biokimia (Jawetz dkk, 1996).

#### 2.2.2.4 Sifat Ekologi

Ekologi *Streptococcus* penting untuk diketahui sebagai penentuan penyakit berdasarkan daerah yang dijadikan inang. Secara umum *Streptococcus* diklasifikasikan jadi dua yaitu reaksi hemolisis pada media agar darah serta klasifikasi serogikal dari lancefield.

Klasifikasi *Streptococcus* berdasarkan reaksi hemolitik terdiri atas :

##### a. *Streptococcus $\beta$ -Hemolitic*

- (1) Golongan A *Streptococcus Pyogenic* adalah kelompok besar patogen manusia yang berhubungan dengan invasi lokal atau sistemik dan kelainan pasca *Streptococcus* yang disebabkan oleh reaksi-reaksi imunologik. Bakteri ini biasanya sensitif terhadap basitrasin.
- (2) Golongan B *Streptococcus agalactiae* adalah anggota flora normal dari saluran kelamin wanita dan merupakan penyebaran yang penting pada sepsis dan mengiritasi neonatal.
- (3) Golongan C dan G kadang-kadang terdapat pada faring dan dapat menyebabkan sinusitis. Bakterimia dapat diganggu oleh organisme golongan A.
- (4) Golongan D termasuk Enterokokus (misalnya *S.faecalis* dan *S.faectum*) dan non Enterokokus (misalnya *S.bovis* dan *S.equinus*).
- (5) Golongan E, F, H, K dan L jarang menimbulkan patogenesis pada manusia.

### **b. *Streptococcus* Non $\beta$ -Hemolytic**

- (1) *Streptococcus Pneumoniae* adalah bakteri yang dapat larut dalam empedu dan pertumbuhannya mampu dihambat oleh cakram optokhin.
- (2) *Streptococcus Viridans* termasuk *S.salivarius*, *S.mitis*, *Streptococcus mutans*, *S.sanguis* dan lain-lain tidak larut dalam empedu dan pertumbuhannya tidak dihambat oleh cakram optokhin. Kelompok ini adalah anggota flora normal saluran pernafasan manusia dan penting untuk keadaan kesehatan selaput lendir. Beberapa jenisnya *Streptococcus mutans* dapat mensintesis polisakarida yang mempunyai molekul besar seperti levan dan dekstran yang penting perannya dalam proses karies pada gigi.
- (3) *Streptococcus* golongan D meliputi beberapa strain yang menghasilkan  $\alpha$ -hemolisin akan tetapi selebihnya berlaku seperti *Enterokokus*.
- (4) *Streptococcus* golongan N memiliki kemampuan hemolitik yang beragam. Bakteri ini dinamakan *S.laktat* (Brooks dkk, 2007).

#### **1.2.3 *Streptococcus Mutans***

Golongan *Streptococcus* memiliki beberapa strain, namun yang dominan serta banyak dijumpai pada rongga mulut manusia adalah jenis *Streptococcus Mutans* (strain c, e, f) dan *Streptococcus Obrinus* (strain d dan g). Hasil penelitian terdahulu menyatakan bahwa *Streptococcus Mutans* adalah bakteri penyebab karies gigi paling dominan pada manusia (Heriandi dkk, 2003).

*Streptococcus Mutans* adalah bakteri gram positif yang bersifat non motil (tidak bergerak), bakteri anaerob fakultatif. Mempunyai bentuk kokus tunggal berbentuk bulat maupun bulat telur serta tersusun

menyerupai rantai. Bakteri ini tumbuh dengan optimal pada suhu 18-40°C. *Streptococcus Mutans* sudah dikenal sebagai penyebab utama dari karies gigi. Bakteri ini ditemukan pada plak gigi serta air liur dengan berbagai strain *Streptococcus Mutans* lokal (Nugraha, 2008).

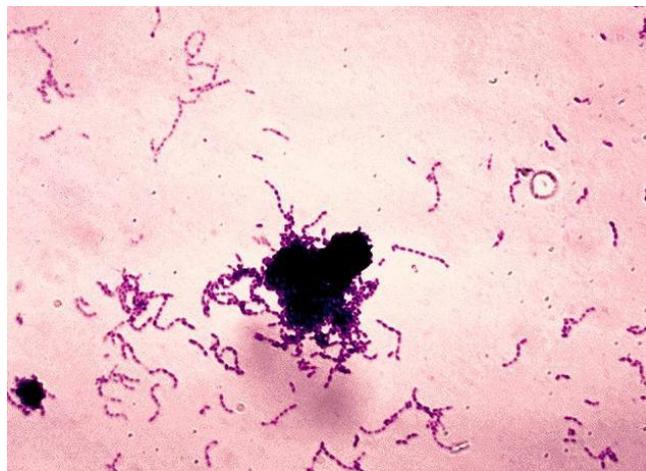
*Streptococcus Mutans* adalah spesies yang berada di rongga mulut yang mampu menyebabkan endokarditis setelah masuk ke dalam peredaran darah sehabis ekstraksi gigi. Bakteri ini juga didapatkan di karies pada gigi. *Streptococcus Mutans* masuk dalam golongan  $\alpha$ -hemolitik. Berdasarkan penelitian longitudinal terbukti bahwa bakteri ini stabil pada jumlah yang besar diasosiasikan dengan pengembangan lesi karies. Lesi yang sudah menembus dentin dihubungkan dengan *Lactibacillus*. Pada karies gigi akar *Streptococcus Mutans* juga terdapat bakteri anaerob yang sebagian memiliki pengaruh proteolitik terhadap matriks dentin. Walaupun demikian, bakteri ini juga ditemukan di dalam plak yang di bawahnya tidak terbentuk karies, sebaliknya malah tidak ditemukan pada plak yang bawahnya lesi berkembang (Schuurs, 1993).

*Streptococcus Mutans* merupakan penghuni normal dalam rongga mulut, akan tetapi jika lingkungan menguntungkan dan terjadi peningkatan jumlah maka dapat berubah menjadi patogen (Kidd dan Bechal, 1992). Bakteri ini melekat pada bagian permukaan gigi dan banyak terdapat pada plak karies gigi. Koloni bakteri ini membutuhkan permukaan yang tidak deskuamatik. Oleh karena itu, di bagian dalam mulut pertama kali ditemukan plak gigi. *Streptococcus Mutans* memiliki dua sistem enzim yang mampu membentuk dua macam polisakarida ekstraseluler yang berasal dari sukrosa yaitu glukukan dan fluktan (Indrawati dan Retno, 1999). *Streptococcus Mutans* dapat melekat pada permukaan gigi, menghasilkan enzim glukuronil transferase. Enzim ini memproduksi glukukan yang tidak

larut dalam air dan berperan dalam menimbulkan plak serta koloni pada permukaan gigi (Zaenab dan Mardiasuti, 2004).

*Streptococcus Mutans* mempunyai kebiasaan untuk mensintesis karbohidrat, sukrosa maupun glukosa menjadi polisakarida ekstraselular dan asam (Panjaitan, 2002). Bakteri ini mampu menurunkan pH menjadi 5,2-5,5 serta menyebabkan demineralisasi gigi. Polisakarida ekstraselular nantinya membentuk plak pada gigi apabila terdapat bakteri *Streptococcus Mutans* di dalam mulut. Pembentukan plak dan pembentukan asam berlangsung setiap kali mengonsumsi gula dan selama gula tersebut berada dalam mulut. Risiko pembentukan plak dan asam ditentukan oleh frekuensi konsumsi gula bukan oleh banyak gula yang dimakan (Ariningrum, 2002). Bakteri ini berkembang biak pada suhu 37°C selama 48 jam di media selektif. Di dalam mulut, bakteri ini mampu hidup apabila adanya permukaan padat seperti gigi atau gigi tiruan (Sosiastih, 2002).

Bakteri ini mempunyai sifat yaitu asidogenik, karena mampu menghasilkan PH < 5 dalam waktu kurang lebih 3 menit jika dibandingkan dengan bakteri lainnya (Kidd dan Bechal, 1992).



Gambar 2.2. Gambar Mikroskopis Bakteri *Streptococcus Mutans* menggunakan Mikroskop Cahaya Besaran 400x. (Sumber : Kenneth Todar University, 2002).

### **1.3 Simplisia**

Simplisia yaitu bahan atau beberapa bagian yang alami dipakai untuk pengobatan tanpa melakukan perubahan secara utuh serta umumnya berupa bahan kering. Simplisia mempunyai tiga golongan, yaitu (Herbie, 2015):

#### **1.3.1 Simplisia Nabati**

Simplisia ini ialah tumbuhan asli, potongan atau sebagian tanaman, serta gabungan seluruhnya. Eksudat tanaman sendiri merupakan isi pada sel yang keluar dengan langsung pada tumbuhan tersebut atau menggunakan metode tertentu yang dengan sengaja dikeluarkan dari selnya.

#### **1.3.2 Simplisia Hewani**

Simplisia ini merupakan zat bermanfaat yang terbuat dari hasil pengolahan hewan itu sendiri serta tidak menjadi sebagai senyawa kimia, contohnya yaitu minyak ikan dan madu.

#### **1.3.3 Simplisia Pelikan atau Mineral**

Simplisia ini ialah simplisia yang berasal dari mineral ataupun pelikan yang belum diproses atau menggunakan cara yang mudah serta tidak menjadi bahan kimia, seperti serbuk tembaga dan seng. Selain itu, simplisia tanaman obat juga termasuk ke dalam golongan simplisia nabati.

### **1.4 Ekstrak dan Metode Ekstraksi**

#### **1.4.1 Pengertian dan Jenis Ekstrak**

Ekstrak merupakan hasil akhir dari proses penyarian zat aktif melewati beberapa tahap ekstraksi memakai *solvent* (pelarut) tertentu, pelarut dipakai kemudian dikeringkan lagi sehingga metabolit sekunder pada ekstrak lebih padat. Berdasarkan jumlah pelarut ketika diuapkan mampu menentukan bentuk ekstrak menjadi ekstrak kental maupun ekstrak kering (Marjoni, 2016).

Jenis ekstrak dapat dikelompokkan menjadi 3 dengan berdasarkan kandungan senyawa aktifnya, yaitu (Marjoni, 2016) :

#### ***1.4.1.1 Standardised Extracts***

*Standardised extracts* adalah ekstrak yang didapatkan dengan menambahkan zat aktif yang aktifitas terapeutiknya telah diketahui sebelumnya untuk dapat mencapai komposisi yang ditentukan. *Standardised extracts* juga dapat dihasilkan melalui penambahan bahan tambahan atau mencampurkan antara ekstrak senyawa aktif yang tinggi dengan ekstrak senyawa aktif yang rendah sehingga kandungan metabolit aktifnya memenuhi persyaratan baku yang telah ditetapkan.

#### ***1.4.1.2 Quantified Extracts***

*Quantified extracts* adalah ekstrak yang didapatkan dengan cara mengatur kandungan senyawa yang telah diketahui khasiatnya agar mempunyai aktivitas yang sama. kadar senyawa dapat diatur dengan cara mencampurkan 2 jenis atau lebih ekstrak yang mempunyai kandungan yang sama serta dalam jumlah tetap.

#### ***1.4.1.3 Other Extract***

*Other extracts* yaitu ekstrak yang didapatkan dengan mengatur cara produksi serta spesifikasinya. Kandungan senyawa pada ekstrak ini yang bertanggung jawab untuk efek farmakologinya masih belum diketahui.

### **1.4.2 Metode Ekstraksi**

Ekstraksi ialah tahapan penyaringan metabolit sekunder pada suatu bagian tanaman yang telah ditentukan dengan tujuan mengambil senyawa aktif yang terkandung pada suatu tanaman menggunakan pelarut yang telah ditetapkan. Massa pada komponen zat padat

simplisia akan beralih ke dalam pelarut organik. Pelarut organik tersebut masuk ke dalam dinding sel yang kemudian menembus masuk pada celah-celah sel tanaman yang terkandung metabolit sekunder didalamnya. Metabolit sekunder tersebut akan larut ke dalam pelarut organik pada bagian terluar sel kemudian akan berdifusi masuk ke dalam *solvent* (pelarut). Tahap ini akan terjadi berulang hingga konsentrasi seimbang antara metabolit sekunder didalam sel dengan konsentrasi metabolit sekunder di luar sel (Marjoni, 2016).

Ekstraksi sendiri mampu dilakukan dengan macam-macam metode yang sesuai berdasarkan sifat serta tujuan ekstraksi tersebut. Tanaman yang diekstraksi dapat berupa tanaman segar maupun tanaman kering. Tanaman yang sering digunakan ialah tanaman segar karena masuknya *solvent* (pelarut) akan berlangsung lebih singkat. Selain itu, penggunaan tanaman bagus ataupun segar mampu mengurangi terjadinya polimer resin yang terjadi saat tahap pengeringan. Akan tetapi pemakaian tanaman yang telah kering juga memiliki keuntungan seperti mampu mengurangi kandungan air yang terkandung didalam tanaman, sehingga mampu menghindari dari terjadinya kerusakan kandungan metabolit yang diakibatkan mikroba (Marjoni, 2016).

Adapun beberapa jenis-jenis ekstraksi antara lain:

#### **1.4.2.1 Berdasarkan Bentuk Substrat Dalam Campuran**

##### **1.4.2.1.1 Ekstraksi Padat-Cair**

Ialah metode ekstraksi padat-cair yang sering ditemukan dalam isolasi senyawa yang terdapat pada suatu bahan alam. Metode tersebut menyangkut substansi dengan bentuk padat yang terdapat pada campuran serta interaksi antara pelarut dengan zat padat yang dibutuhkan lama. Keberhasilan ekstraksi ini ditentukan oleh sifat

bahan alam itu sendiri serta sifat bahan yang diekstraksi (Marjoni, 2016).

#### **1.4.2.1.2 Ekstraksi Cair-Cair**

Metode ini ialah metode yang dibuat apabila substansi yang diekstraksi berbentuk cairan pada campurannya (Marjoni, 2016).

### **1.4.2.2 Berdasarkan Penggunaan Panas**

#### **1.4.2.2.1 Ekstraksi Secara Dingin**

Proses ini berguna untuk mengekstrak senyawa aktif yang terdapat pada simplisia dengan sifat senyawanya yaitu *thermolabile* (tidak tahan terhadap pemanasan).

Ekstraksi secara dingin dapat dikerjakan dengan beberapa cara, yaitu :

##### **1) Maseraasi**

Maserasi merupakan tahap ekstraksi dengan merendam tanaman atau simplisia tanaman didalam suatu pelarut atau lebih selama kurun waktu yang telah ditetapkan di suhu ruangan serta terhindar dari sinar matahari. Prinsip kerja adalah terjadinya proses melarut pada zat aktif berdasarkan sifat kelarutannya pada pelarut (Marjoni, 2016). Proses ini biasanya memakai pelarut metanol ataupun etanol. Pelarut metanol mempunyai keuntungan yaitu titik didih yang relatif rendah sehingga mudah untuk proses penguapan dengan temperatur rendah, namun relatif lebih toksik. Selanjutnya etanol mempunyai kekurangan yaitu mempunyai titik didih yang lebih tinggi sehingga lebih sulit ketika penguapan, tetapi kurang toksik apabila dibanding dengan yang menggunakan metanol (Atun, 2014). *Solvent* (pelarut) yang digunakan,

berpenetrasi ke dalam dinding sel dan kemudian masuk ke dalam sel tanaman yang kaya akan dengan metabolit sekunder. Interaksi antara pelarut dengan senyawa aktif akan terjadi tahap pelarutan yang ketika senyawa aktif dan pelarut akan larut ke dalam pelarut. Pelarut yang terkandung pada sel mengandung metabolit sekunder sementara itu yang terletak di bagian luar sel tidak mengandung metabolit sekunder, sehingga mengakibatkan ketidakseimbangan dari konsentrasi metabolit sekunder didalam sel dan di luar sel (Marjoni, 2016). Adanya perbedaan konsentrasi tersebut menyebabkan terbentuknya tahap difusi, saat pelarut dengan konsentrasi lebih tinggi akan mendesak keluar dari dalam sel sehingga tergantikan dengan pelarut yang konsentrasinya lebih rendah. Proses tersebut berlangsung berulang kali sehingga menghasilkan kesetimbangan konsentrasi larutan antara didalam sel dan di luar sel (Marjoni, 2016).

Tahapan ini dikerjakan dalam waktu yang telah ditentukan dengan tambahan adukan sesekali, pada umumnya yaitu dengan kurun waktu sehari sampai hari ke enam. Selain etanol ataupun metanol, pelarut lain juga sering dipakai adalah kloroform, aseton maupun pelarut yang sesuai dengan senyawa yang terkandung. Pada waktu yang telah ditentukan ekstrak yang biasanya juga disebut sebagai maserat dipisahkan menggunakan penyaringan. Remaserasi merupakan proses maserasi yang dikerjakan secara berulang dengan menambahkan kembali pelarut setelah melakukan penyaringan. Remaserasi dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan atau sampai senyawa yang diinginkan habis atau tidak ada lagi. Jika proses maserasi menggunakan pengadukan secara terus-menerus maka

dapat dikatakan sebagai maserasi kinetik (Atun, 2014). Metode maserasi mempunyai kelebihan dan kekurangan. Berikut kelebihan dari metode maserasi, yaitu (Marjoni, 2016):

1. Peralatan yang digunakan sangat sederhana.
2. Teknik pengerjaan lebih sederhana dan mudah dikerjakan.
3. Biaya operasionalnya relatif rendah.
4. Karena maserasi dilakukan tanpa pemanasan bisa digunakan untuk penyarian senyawa yang bersifat termolabil.
5. Proses ekstraksi lebih hemat penyari.

Adapun kekurangan dari metode ini adalah:

1. Relatif lebih lama karena prosesnya panjang.
2. Proses penyarian kurang sempurna.
3. Pelarut yang dipakai relatif lebih banyak.
4. Kemungkinan adanya senyawa yang menguap ketika proses ekstraksi.
5. Adanya senyawa yang relatif lebih sulit diekstraksi pada suhu ruangan.
6. Pelarut air yang digunakan membutuhkan bahan tambahan yaitu pengawet yang diberikan pada awal ekstraksi. Penambahan pengawet bertujuan untuk pencegahan pertumbuhan bakteri serta kapang.

## **2) Perkolasi**

Perkolasi ialah metode ekstraksi yang menggunakan cara dengan mengalirkan melewati tabung perkolator yang berisi bubuk simplisia kemudian ekstraknya dikeluarkan melalui keran dengan perlahan-lahan (Atun, 2014). Pelarut pada metode ini dialirkan secara berkelanjutan pada waktu tertentu. Pelarut dialirkan secara vertikal dari sisi atas ke

sisi bawah melewati simplisia kemudian *solvent* (pelarut) akan membawa metabolit sekunder pada simplisia yang dilewatinya sampai dengan kondisi jenuh. pergerakan ini diakibatkan oleh gaya beban dari pelarut bagian atas dikurangi oleh beban kapiler yang lebih membatasi pergerakan ke bagian bawah (Marjoni, 2016).

Beberapa hal yang perlu diperhatikan selama tahapan perkolasi, yaitu: kemampuan melarut senyawa aktif, gaya berat, tegangan permukaan, kekentalan cairan, difusi, tekanan osmosis, gaya kapiler, gaya adesi serta gaya gesekan (Marjoni, 2016). Teknik perkolasi bisa pada suhu ruang. Parameter untuk berhenti menambahkan pelarut yaitu tidak terdapat komponen yang diinginkan pada perkolat, pada tetesan perkolat yang sudah tidak memiliki warna merupakan pengamatan secara fisik pada ekstraksi (Atun, 2014).

Metode perkolasi ini mempunyai keuntungan dan kerugian. Diantaranya keuntungannya yaitu:

1. Tidak memerlukan langkah tambahan
2. Tidak memerlukan panas pada metode perkolasi sehingga sangat cocok pada substansi yang mempunyai sifat termolabil.
3. Sampel selalu di aliri leh pelarut baru.
4. Pelarut mengalir melewati sampel sehingga proses penyarian menjadi lebih sempurna.

Sedangkan kerugian dari perkolasi adalah :

1. Interaksi antara sampel padat dengan pelarut tidak merata dan terbatas.
2. Pelarut jadi dingin sepanjang proses perkolasi sehingga komponen tidak larut secara efisien.

3. Apalagi simplisia pada alat tidak tercampur merata maka *solvent* (pelarut) akan sukar sampai keseluruhnya
4. Proses ini memerlukan banyak *solvent* (pelarut) dan menggunakan waktu yang lebih lama (Marjoni, 2016).

#### **1.4.2.2.2 Ekstraksi Cara Panas**

Metode ini dipakai jika metabolit yang terkandung pada simplisia kuat terhadap pemanasan. Metode yang menggunakan pemanasan adalah:

##### **1) Seduhan**

Ialah salah satu cara penyarian zat aktif yang dilakukan dengan mendiamkan simplisia pada air hangat atau panas dengan waktu yang telah ditentukan (5-10menit) (Marjoni, 2016).

##### **2) Coque (Penggodokan)**

*Coque* adalah cara penyarian dengan cara menggodok sampel memakai pemanasan (api) secara langsung serta hasil yang didapat langsung dipakai untuk obat ataupun dengan menyeluruh seperti hasil saringan hingga hasil dari penggodokan tanpa ampas (Marjoni, 2016).

##### **3) Infusa**

Infusa adalah cara ekstraksi yang menggunakan pelarut akuades. Dengan waktu tertentu, suhu pada pelarut sebelumnya sudah sampai suhu 90°C dalam waktu 15 menit. Perbandingan antara sampel dan pelarut yaitu 1 : 10, maksudnya adalah apabila berat sampel 100 gr maka jumlah pelarut yang digunakan yaitu 1000 ml (Atun, 2014).

Infusa ialah suatu metode penyarian yang dengan menggunakan prinsip yaitu menyari simplisia dalam air pada suhu 90°C dengan waktu 15 menit menggunakan api kecil. Infusa merupakan metode penyarian yang sering dipakai dalam menyari suatu senyawa aktif yang terlarut dalam air pada bahan-bahan yang digunakan. Selanjutnya Infus merupakan salah satu sediaan cair yang diolah dengan cara yang singkat untuk membuat sediaan berbasis herbal dari bunga, daun, buah dan yang lainnya. Infus diharuskan dibuat pada kondisi segar setiap hari, sehingga bisa disimpan dalam lemari pendingin atau pada wadah yang tidak terpapar dari cahaya matahari secara langsung (Ansel, 1989). Adapun cara kerja infus dengan bahan dasar simplisia yaitu tanaman yang sebelumnya sudah dihaluskan dengan ketetapan kehalusan yang telah ditentukan kemudian ditambahkan dengan air secukupnya dalam panci infus. Selanjutnya dipanaskan dengan menggunakan penangas air dengan waktu 15 menit, waktu dihitung ketika suhu dalam wadah infus telah sampai 90°C, dengan melakukan pengadukan sesekali. Infusa disaring langsung pada saat hangat atau panas menggunakan penyaring seperti kertas saring ataupun kain flanel. Ketika infus yang diinginkan tidak sesuai volumenya, untuk mencukupi kekurangan tersebut, dapat ditambahkan air mendidih yang ditambahkan dengan ampasnya. Adapun kelebihan dari metode infus yaitu peralatan yang dipakai lebih sedikit dan harga operasionalnya lebih murah (Novitasari, 2015).

#### **4) Digesti**

Digesti adalah salah satu metode ekstraksi yang menggunakan suhu 40 - 50°C. Proses ini dibuat dengan cara memasukan sebagian sampel pada wadah yang

tertutup, kemudian ditambahkan *solvent* antara 1 banding 7, atau dengan kiranya sampai seluruh simplisia terendam. Disimpan pada waktu 1-6 hari dengan suhu kamar dan terhindar dari sinar matahari dengan sesekali pengadukan. Kemudian dipisahkan, setelah itu bagian endapannya dibuang (Atun, 2014). Selama tahapan penyimpanan maka zat aktif yang terdapat pada simplisia akan berdifusi ke dalam bagian dinding sel agar larut konsisten pada sel serta memicu pada bagian dalam sel untuk berdifusi keluar. Metode ini menggunakan sistem statis, terkecuali ketika penggojogan, tahap penyarian aktif menggunakan difusi molekuler, sehingga proses ini memakan waktu lebih lama dan bertahap. Setelah selesai proses ekstraksi, residu dari sampel langsung diambil dan dipisahkan dengan pelarut menggunakan dekantir maupun dengan menggunakan penyaringan, (Atun, 2014).

#### **5) Dekokta**

Dekokta adalah suatu metode penyarian yang hampir sama pada proses infusa, yang membedakannya yaitu waktu pemanasan yang diperlukan lebih lama yaitu sekitar kurang lebih 30 menit dengan suhu pelarut yang digunakan sama dengan titik didih air (Atun, 2014). Waktu 30 menit akan dihitung ketika suhu sudah mencapai 90°C. akan tetapi ekstraksi dengan metode ini sangat jarang dipakai dikarenakan proses penyarian yang tidak efektif serta tidak bisa diterapkan pada zat aktif yang memiliki sifat tidak tahan terhadap pemanasan (Marjoni, 2016).

#### **6) Refluks**

Refluks adalah metode penyarian yang memakai pelarut dengan titik didih pelarut dengan waktu dan volume

pelarut yang sudah ditetapkan menggunakan alat yang disebut kondensor (pendingin balik). Metode ini dikerjakan sebanyak 3 sampai 5 kali pengulangan, sehingga metode berikut merupakan salah satu metode ekstraksi yang cukup efektif (Marjoni, 2016).

## **7) Sokletasi**

Sokletasi merupakan salah satu proses ekstraksi panas yang memakai alat ekstraktor soklet. Suhu yang dipakai kurang dari suhu yang digunakan pada metode refluks (Marjoni, 2016). Proses ini menggunakan larutan yang harus baru sehingga berlangsung penyarian secara konstan dengan hadirnya alat pendingin balik. Proses berikut digunakan dengan memasukan simplisia pada selongsong yang sebelumnya sudah di bungkus menggunakan kertas untuk penyaringan, selanjutnya diletakan pada alat yang telah dipasang di labu bagian bawahnya. *Solvent* ditambahkan sebanyak 2 kali pengulangan, lalu dipasang alat kondensor, dan pemanas tabung. Metode ini memerlukan waktu 3 jam atau lebih dengan waktu sirkulasi tiap menit ke 15 (Atun, 2014).

### **1.4.2.2.3 Berdasarkan Proses Pelaksanaan**

#### **1) Ekstraksi Berkelanjutan (*Continous Extraction*)**

Metode penyarian dengan metode ini, *solvent* serupa digunakan dengan refetitif hingga tahap penyariannya berhenti (Marjoni, 2016).

#### **2) Ekstraksi Bertingkat (*Bath Extraction*)**

Metode ini pada tiap tingkatannya ekstraksinya menggunakan *solvent* yang terus di perbarui hingga tahap penyarian tersebut sempurna (Marjoni, 2016).

#### 1.4.2.2.4 Berdasarkan Metode Ekstraksi

##### 1) Ekstraksi Utuh

Ialah metode penyarian yang menyatukan sampel yang akan diekstrak menggunakan suatu *solvent*. Sebagian dari zat aktif yang menggunakan metode ekstraksi ini akan tercampur dalam *solvent* hingga menghasilkan kesetimbangan. Adapun kekurangan dari penyarian dengan menggunakan cara seperti ini yaitu rendahnya rendemen yang didapatkan (Marjoni, 2016).

##### 2) Ekstraksi Tahap Gabungan

Yaitu metode penyarian yang menggabungkan sampel saat dipakai berulang kali menggunakan *solvent* yang selalu baru sama banyaknya. Ekstrak yang didapatkan dengan cara ini mempunyai eksudat relatif lebih besar dari pada penyarian utuh, karena bahan yang digunakan mengalami beberapa kali proses pencampuran dan pemisahan (Marjoni, 2016).

Parameter yang mempengaruhi ekstraksi diantaranya adalah: (Marjoni, 2016).

1. Pengembangan dan pemelaran tanaman.
2. Difusi, pH, ukuran partikel dan suhu.
3. Pilihan pelarut ekstraksi.

## 1.5 Pengukuran Aktivitas Anti Mikroba

Pengujian ini merupakan penentuan kerentanan bakteri terhadap suatu senyawa anti mikroba yang bisa dikerjakan dengan menggunakan satu dari dua cara pada umumnya yang sering digunakan ialah cara difusi maupun cara dilusi. Metode ini diperlukan untuk bisa mengatur seluruh aspek yang dapat memicu kinerja anti bakteri itu sendiri. Pengujian anti bakteri ini dapat dilakukan dengan memakai organisme uji serta menggunakan obat

yang telah dipilih sebagai kontrol untuk perbandingan aktivitasnya, sehingga metode ini bisa dipakai untuk memprediksi seberapa besar potensi anti bakteri dalam sampel atau kerentanan terhadap mikroorganisme (Jawetz, 2013).

### 1.5.1 Metode Dilusi

Substansi anti mikroba yang terdapat dalam kadar bertingkat dimasukan ke dalam media uji baik itu cair maupun padat. Dalam proses ini zat anti bakteri menggunakan pengenceran sebanyak dua tahap ( $\log_2$ ). Medium selanjutnya dipindahkan dengan mikroorganisme uji yang kemudian dilakukan proses inkubasi. Titik akhir ditentukan sebagai total senyawa anti bakteri yang dibutuhkan agar dapat membunuh bakteri uji serta menghambat pertumbuhan mikroorganisme. pengujian kepekaan agar dilusi dapat memakan banyak waktu, serta penggunaannya yang sangat terbatas pada keadaan tertentu. Pengujian ini juga kurang praktis dikarenakan pengenceran zat uji yang dipakai hanya sedikit akan tetapi harus dilakukan pengenceran menggunakan tabung reaksi (Jawetz, 2013).

Adapun keuntungan dari pengujian dengan metode dilusi yaitu mampu memberikan hasil secara kuantitatif yang dapat dilaporkan, ini menandakan total anti bakteri yang digunakan agar dapat membunuh pertumbuhan bakteri uji (Jawetz, 2013). Pada pengukuran kuantitatif aktivitas anti mikroba, pengenceran anti mikroba bisa dimasukan ke dalam kaldu maupun medium agar, yang selanjutnya di inokulasi dengan organisme yang akan diuji. Kandungan terendah yang bisa membunuh perkembangan setelah melalui inkubasi dikatakan sebagai *minimum inhibitory concentration* (MIC) (Vandepitte et al., 2011).

### 1.5.2 Metode Difusi

Cara berikut sering digunakan di laboratorium yaitu cara *disk difusi* kertas cakram saring yang mengandung senyawa anti bakteri yang terukur diletakan di bagian latar dari media agar yang sudah diinokulasikan dengan mikroorganisme. Sehabis inkubasi, lingkaran zona bening yang terdapat pada sekeliling kertas ditetapkan sebagai ukuran daya hambat obat atau senyawa anti bakteri untuk menghambat jenis organisme tertentu. Metode tersebut subjektif dengan faktor kimia dan fisika serta interaksinya sederhana pada obat dengan organisme seperti stabilitas obat, *diffusibility*, sifat medium dan juga ukuran molekul (Jawetz, 2013).

Namun, standarisasi kondisi mengharuskan menentukan kepekaan mikroorganisme. Penjelasan pada perolehan pengujian harus berdasarkan dengan perpaduan antara cara difusi serta cara dilusi. Perpaduan seperti ini telah menghasilkan nilai standar rujukan. Regresi linier dapat menggambarkan informasi mengenai hubungan mengenai diameter zona inhibisi dalam uji difusi dan log konsentrasi hambat minimum pada uji pengenceran. Penggunaan disk tunggal pada setiap antibiotik dengan kondisi standar pengujian memungkinkan adanya laporan mengenai resistensi suatu mikroorganisme dengan cara membandingkan diameter zona hambat obat standar (kontrol positif) dengan sampel (Jawetz, 2013).

Kertas cakram yang telah menyerap antibiotik pada jumlah tertentu, kemudian ditempatkan di media agar yang sebelumnya telah ditanami oleh bakteri uji dengan secara merata. Gradient konsentrasi zat pada anti mikroba yang didapatkan dari difusi cakram serta pertumbuhan organisme uji yang dihambat dengan adanya jarak pada cakram berkaitan pada kepekaan organisme tersebut dengan di samping faktor lainnya. Metode difusi cakram merupakan Metode modifikasi *Kirby-bauer* yang pada awalnya dibakukan, dijabarkan serta kemudian

dilakukan evaluasi secara menyeluruh. Agensi-agensi resmi telah menyarankan dengan sedikit modifikasi tersebut, sebagai metode rujukan yang bisa dipakai sebagai alternatif teknik rutin pada laboratorium klinik (Vandepitte et al., 2011).

Metode difusi dipakai sebagai penentuan aktivitas agen anti mikroba. senyawa anti mikroba yang terdapat pada piringan ditempatkan di media agar yang mengandung mikroorganisme karena telah ditanam mikroorganisme pada media tersebut kemudian akan terjadi difusi pada media agar tadi. Zona bening pada bagian latar medium menandakan bahwa terdapat penghambatan perkembangan bakteri uji oleh senyawa antibakteri.

Metode difusi dibagi menjadi dua metode yaitu metode dengan cara *Kirby Bauer* dan metode dengan cara sumuran: (Prayoga, 2013).

#### **1.5.2.1 Metode *Kirby Bauer* (Difusi disk tes *Kirby Bauer*)**

Metode ini dibuat sebagai penentuan kerja senyawa anti bakteri. Cakram yang sebelumnya telah ditambahkan dengan agen anti bakteri diletakan di medium yang sudah diinokulasikan mikroorganisme uji, kemudian senyawa tersebut akan bercampur dengan medium. Lingkaran bening menandakan terdapat inhibisi perkembangbiakan dari suatu mikroorganisme oleh senyawa anti bakteri pada bagian permukaannya. Adapun kelebihan dari menggunakan cara ini yaitu besarnya kebebasan untuk pemilihan senyawa anti bakteri yang dipakai.

#### **1.5.2.2 Metode Sumuran**

Cara ini hampir sama dengan cara kertas cakram, yaitu dibuat sumuran di medium yang sebelumnya sudah ditumbuhi bakteri uji kemudian pada sumur yang telah dibuat dimasukan agen anti bakteri yang akan diuji kedalamnya, banyak faktor kimia

dan fisika yang mempengaruhi metode ini seperti ukuran molekul, daya difusi, stabilitas bahan uji serta sifat pembenihan. Meskipun begitu, dengan standarisasi keadaan maka akan memungkinkan penentuan kerentanan mikroorganismenya.

## **1.6 Antibiotik**

Antibiotik adalah salah satu senyawa organik yang didapatkan dari mikroorganismenya yang bersifat toksik pada mikroorganismenya lainnya. Indikasi toksik zat-zat yang dihasilkan memiliki kinerja untuk perkembangan mikroorganismenya serta mampu menghambat bakteri secara langsung (bakterisidal) jika berinteraksi dengan antibiotik tersebut (Sumardjo, 2009). Antibiotik dipakai untuk mencegah, mengobati serta mampu mengendalikan penyebaran bakteri patogen (Mahon, Lehman and Manuselis, 2011). Pengujian antibiotik sendiri dilakukan karena untuk memberi jaminan jika kualitas dan mutu antibiotik tersebut yang digunakan pada pengobatan memenuhi dengan persyaratan yang telah ditentukan (Radji, 2015).

## **1.7 Uji Fitokimia**

Uji Fitokimia dikerjakan sebagai pengetahuan mengenai metabolit sekunder yang terdapat pada suatu sampel. Akhir-akhir sekarang ini telah sangat berkembang menjadi ilmu khusus, yang hadir di antara dua keilmuan diantaranya yaitu biokimia tumbuhan serta kimia organik bahan alam di mana keduanya sangat berkaitan. Namun, bahasan tersebut terletak pada senyawa organik yang disimpan serta dibentuk oleh tanaman tersebut sangat beranekaragam termasuk dengan biosintesis, perubahan metabolisme, struktur, penyebaran secara ilmiah serta aktivitas biologisnya (Endarini, 2016).

Pada penelitian internasional terbaru mengenai kimia bahan alam, skrining fitokimia sangat jarang digunakan, tetapi uji ini merupakan sebagai langkah awal yang mampu membantu memberikan gambaran tentang golongan

senyawa yang terdapat pada suatu tanaman. Adapun tahapan yang digunakan pada uji fitokimia wajib sudah mencukupi kriteria seperti cepat, simpel, identik untuk satu golongan senyawa, serta mempunyai batas deteksi yang luas. Skrining fitokimia adalah tahap awal dari uji fitokimia, secara umum bisa dikatakan bahwa metode yang digunakan merupakan metode pengujian dengan menggunakan reaksi pengujian warna dengan suatu pereaksi (Endarini, 2016).