

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Deskripsi Sirih Hijau (*Piper betle* L.)

2.1.1 Sistematika Sirih Hijau (*Piper betle* L.)

Menurut Inayatullah (2012) tanaman Sirih Hijau dalam sistematika tumbuhan diklasifikasikan sebagai berikut :

<i>Kingdom</i>	: Plantae
<i>Subkingdom</i>	: Tracheobionta
<i>Divisio</i>	: Spermatophyta
<i>Sub Divisio</i>	: Angiospermae
Kelas	: Dikotiledonaea
Ordo	: Piperales
Famili	: Piperaceae
Genus	: Piper
Spesies	: <i>Piper betle</i> L.



Gambar 2.1 Morfologi Daun Sirih (Inayatullah, 2012).

2.1.2 Nama Daerah

Ranub (Aceh), Sereh (Gayo), Belo Batak (Karo), Burangir (Mandailing), Cabai (Mentawai), Sirih (Palembang, Minangkabau), Seureuh (Sunda), Sere (Madura), Uwit (Dayak), Sirih (Sampit), Nahi (Bima), Malu (Solor), Mokeh (Alor), Mota (Flores), Bido (Bacan) (Inayatullah, 2012).

2.1.3 Morfologi Sirih Hijau (*Piper betle* L.)

Sirih termasuk dalam famili piperaceae, merupakan jenis tumbuhan merambat dan bersandar pada batang pohon lain, yang tingginya 5-15 meter. Sirih memiliki daun tunggal letaknya berseling dengan bentuk bervariasi mulai dari bundar telur atau bundar telur lonjong, pangkal berbentuk jantung atau agak bundar berlekuk sedikit, ujung daun runcing, pinggir daun rata agak menggulung ke bawah, panjang 5-18 cm, lebar 3-12 cm. Batang sirih berwarna coklat kehijauan, berbentuk bulat, berkerut, dan beruas yang merupakan tempat keluarnya akar. Morfologi daun sirih berbentuk jantung, berujung runcing, tumbuh berselang-seling, bertangkai, teksturnya agak kasar jika diraba, dan mengeluarkan bau khas aromatis jika diremas. Panjang daun 6-17,5 cm dan lebar 3,5-10 cm. Sirih memiliki bunga majemuk yang berbentuk bulir dan merunduk. Bunga sirih dilindungi oleh daun pelindung yang berbentuk bulat panjang dengan diameter 1 mm. Buah terletak tersembunyi atau buni, berbentuk bulat, berdaging dan berwarna kuning kehijauan hingga hijau keabu-abuan. Tanaman sirih memiliki akar tunggang yang bentuknya bulat dan berwarna coklat kekuningan (Inayatullah, 2012).

Daun berwarna hijau, permukaan atas rata, licin agak mengkilat, tulang daun agak tenggelam permukaan bawah agak kasar, kusam, tulang daun menonjol, bau aromatiknnya khas dan rasanya pedas. Batang tanaman berbentuk bulat dan lunak berwarna hijau agak kecoklatan dan permukaan kulitnya kasar serta berkerut-kerut. Tanaman sirih merupakan tanaman yang perdu, merambat, batang berkayu, berbuku buku dan bersalur. Daun sirih mempunyai bau aromatik khas dan rasa pedas. Daun sirih merupakan daun tunggal. Tangkai daun bulat, warna coklat kehijauan panjang 1,5–8 cm (Inayatullah, 2012).

2.1.4 Kandungan Kimia Sirih Hijau (*Piper betle* L.)

Komponen utama minyak atsiri terdiri dari *betlephenol* dan beberapa derivatnya diantaranya *euganol allypyrocatechine* 26,8-42,5%, *cineol* 2,4-4,8%, *methyl euganol* 4,2-15,8%, *caryophyllen* 3-9,8%, *hidroksikavikol*, *kavikol* 7,2-16,7%, *kabivetol* 2,7-6,2%, *estragol*, *ilypryrokatekol* 9,6%,

karvakol 2,2-5,6%, alkaloid, flavonoid, triterpenoid atau steroid, saponin, terpen, fenilpropan, terpinen, diastase 0,8-1,8%, dan tannin 1-1,3%. Pada konsentrasi 0,1-1% fenol bersifat bakteriostatik, sedangkan pada konsentrasi 1-2% phenol bersifat bakteriosida (Inayatullah, 2012).

2.1.4.1 Minyak Atsiri

Minyak atsiri adalah zat berbau yang terkandung dalam tanaman. Minyak ini disebut juga minyak menguap, minyak eteris, atau minyak essensial karena pada suhu biasa (suhu kamar) mudah menguap di udara terbuka. Istilah essensial dipakai karena minyak atsiri mewakili bau dari tanaman asalnya. Secara kimia, minyak atsiri bukan merupakan senyawa tunggal, tetapi tersusun dari berbagai macam komponen yang secara garis besar terdiri dari kelompok terpenoid dan fenil propana. Adapun sifat dari minyak atsiri yaitu mudah menguap apabila dibiarkan pada udara terbuka, tidak larut dalam air, larut dalam pelarut organik, tidak berwarna, tetapi semakin lama menjadi gelap karena mengalami oksidasi dan pendamaran, memiliki bau khas seperti tumbuhan aslinya (Endarini, 2016).

Mekanisme penghambatan bakteri pada daun sirih karena daun sirih mengandung minyak atsiri yang di dalamnya terdapat senyawa phenol yang bersifat bakterisid. Senyawa phenol apabila terjadi interaksi dengan dinding sel mikroorganisme akan terjadi denaturasi proteindan meningkatkan permeabilitas mikroorganisme. Interaksi antar mikroorganisme mengakibatkan perubahan keseimbangan muatan dalam molekul protein, sehingga terjadi perubahan struktur protein dan menyebabkan terjadinya koagulasi. Protein yang mengalami denaturasi dankoagulasi akan kehilangan aktivitas fisiologis sehingga tidak dapat berfungsi dengan baik. Perubahan struktur protein pada dinding sel bakteri akan meningkatkan permeabilitas sel sehingga pertumbuhan sel akan terhambat dan kemudian sel menjadi rusak (Rijayanti, 2014).

2.1.4.2 Tanin

Tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang diketahui mempunyai beberapa khasiat yaitu sebagai astringen, anti diare, anti bakteri dan antioksidan. Tanin merupakan komponen zat organik yang sangat kompleks, terdiri dari senyawa fenolik yang sukar dipisahkan dan sukar mengkristal, mengendapkan protein dari larutannya dan bersenyawa dengan protein tersebut. Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin memiliki peranan biologis yang kompleks mulai dari pengendap protein hingga pengkhelat logam (Sasongko *et al.*, 2018).

Mekanisme kerja antibakteri tanin mempunyai daya antibakteri dengan cara memprepitasi protein. Efek antibakteri tanin melalui reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim dan inaktivasi fungsi materi genetik. Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Rijayanti, 2014).

2.1.4.3 Alkaloid

Senyawa alkaloid terdapat dalam 2 bentuk, yaitu bentuk bebas/bentuk basa dan dalam bentuk garamnya. Alkaloid dalam bentuk basa akan mudah larut dalam pelarut organik seperti eter, kloroform, sedangkan senyawa alkaloid dalam bentuk garam lebih mudah larut dalam air. Alkaloid biasanya berasa pahit dan memiliki aktivitas farmakologis tertentu (Sasongko *et al.*, 2018).

Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Mekanisme lain antibakteri alkaloid yaitu komponen alkaloid diketahui sebagai interkelator DNA dan menghambat enzim topoisomerase sel bakteri (Rijayanti, 2014).

2.1.4.4 Saponin

Sapogenin dan bentuk glikosidanya yang dikenal sebagai saponin. Glikosilasi biasanya terjadi pada posisi C-3. Saponin adalah senyawa yang dapat menimbulkan busa jika dikocok dalam air (karena sifatnya yang menyerupai sabun, maka dinamakan saponin). Pada konsentrasi yang rendah, saponin dapat menyebabkan hemolisis sel darah merah. Dalam bentuk larutan yang sangat encer, saponin sangat beracun untuk ikan (Endarini, 2016).

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

2.1.4.5 Terpenoid

Terpenoid adalah kelompok senyawa metabolit sekunder yang terbesar, dilihat dari jumlah senyawa maupun variasi kerangka dasar strukturnya. Terpenoid ditemukan berlimpah dalam tanaman tingkat tinggi, meskipun demikian, dari penelitian diketahui bahwa jamur, organisme laut dan serangga juga menghasilkan terpenoid. Selain dalam bentuk bebasnya, terpenoid di alam juga dijumpai dalam bentuk glikosida, glikosil ester dan iridoid. Terpenoid juga merupakan komponen utama penyusun minyak atsiri. Senyawa-senyawa yang termasuk dalam kelompok terpenoid diklasifikasikan berdasarkan jumlah atom karbon penyusunnya (Sasongko *et al.*, 2018).

Table 2.1 Klasifikasi terpenoid (Endarini, 2016).

Penggolongan Terpenoid	
Kelompok Terpenoid	Jumlah Atom C
Monoterpen	10
Seskuiterpen	15
Diterpen	20
Triterpen	30
Tetraterpen	40
Politerpen	>40

2.1.4.6 Steroid

Steroid adalah kelompok senyawa bahan alam yang kebanyakan strukturnya terdiri atas 17 karbon dengan membentuk struktur 1,2-siklopentenoperhidrofenantren. Steroid terdiri atas beberapa kelompok senyawa yang pengelompokannya didasarkan pada efek fisiologis yang dapat ditimbulkan (Endarini, 2016).

Mekanisme steroid sebagai antibakteri berhubungan dengan membrane lipid dan sensitivitas terhadap komponen steroid yang menyebabkan kebocoran pada liposom. Steroid dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang bersifat permeabel terhadap senyawa-senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membran menurun serta morfologi membran sel berubah yang menyebabkan sel rapuh dan lisis (Rijayanti, 2014).

2.1.4.7 Fenil propanoid

Sebagian besar senyawa organik bahan alam adalah senyawa aromatik. Sebagian besar dari senyawa aromatik ini mengandung cincin karbo aromatik, yaitu cincin aromatik yang hanya terdiri atas atom karbon dan hidrogen. Cincin karbo aromatik ini lazimnya tersubstitusi oleh satu atau lebih gugus hidroksil atau gugus lain yang ekuivalen ditinjau dari segi biogenetik. Oleh karena itu, senyawa bahan alam aromatik ini sering disebut fenol. Dari segi biogenetik, senyawa fenol pada dasarnya dapat dibedakan atas dua jenis

utama. Yang pertama adalah senyawa fenol yang berasal dari jalur asetat malonat. Ditemukan juga golongan senyawa fenol lain yang berasal dari kombinasi antara kedua jalur biosintesis ini, yaitu senyawa flavonoid. Kelompok senyawa fenol yang berasal dari jalur sikhimat yang utama adalah fenilpropanoid. Senyawa fenol ini mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri atas cincin benzene (C6) yang terikat pada ujung rantai karbon propana (C3). Kelompok senyawa fenol ini banyak ditemukan dalam tumbuhan tingkat tinggi. Beberapa jenis senyawa yang termasuk fenilpropanoid adalah turunan asam sinamat, turunan alifenol, turunan propenilfenol, turunan kumarin (Endarini, 2016).

Turunan kumarin yang mengandung gugus aril pada posisi C-3 secara biogenetik termasuk jenis isoflavonoid sedangkan turunan kumarin yang mengandung gugus aril pada posisi C-4 termasuk jenis neoflavonoid. Kumarin mempunyai berbagai efek fisiologis terhadap tumbuhan dan hewan. Kumarin sederhana dapat mempunyai efek toksik terhadap mikroorganisme. Beberapa kumarin dapat membunuh atau menolak serangga. Beberapa furanokumarin menunjukkan juga efek toksik dan penolakan terhadap serangga (Endarini, 2016).

2.1.4.8 Poliketida

Senyawa fenol yang berasal dari jalur asetat malonat disebut senyawa poliketida. Senyawa poliketida dapat diklasifikasikan berdasarkan pola struktur tertentu yang berkaitan dengan jalur biogenetiknya, yaitu turunan asilfloroglusinol, turunan kromon, turunan benzokuinon, turunan naftakuinon, dan antrakuinon. Senyawa poliketida mempunyai kerangka dasar aromatik yang disusun oleh beberapa unit dua atom karbon (karena asam asetat merupakan sumber atom karbon yang utama untuk pembentukan poliketida) dan membentuk suatu rantai karbon yang linier yakni asam poli beta ketokarboksilat yang disebut rantai poliasetil (Endarini, 2016).

Mekanisme antibakteri senyawa fenol dalam membunuh mikroorganisme yaitu dengan mendenaturasi protein sel. Ikatan hidrogen yang terbentuk antara fenol dan protein mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Ikatan hidrogen tersebut akan mempengaruhi permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma sebab keduanya tersusun atas protein. Permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma yang terganggu dapat menyebabkan ketidakseimbangan makromolekul dan ion dalam sel, sehingga sel menjadi lisis (Rijayanti, 2014).

2.1.4.9 Flavonoid

Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Banyaknya senyawa flavonoid ini bukan disebabkan karena banyaknya variasi struktur, akan tetapi lebih disebabkan oleh berbagai tingkat hidroksilasi, alkoksilasi atau glikosilasi pada struktur tersebut. Flavonoid di alam juga sering dijumpai dalam bentuk glikosidanya (Endarini, 2016).

Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, biru dan sebagian zat warna kuning yang terdapat dalam tanaman. Sebagai pigmen bunga, flavonoid jelas berperan dalam menarik serangga untuk membantu proses penyerbukan. Beberapa kemungkinan fungsi flavonoid yang lain bagi tumbuhan adalah sebagai zat pengatur tumbuh, pengatur proses fotosintesis, zat antimikroba, antivirus dan antiinsektisida. Beberapa flavonoid sengaja dihasilkan oleh jaringan tumbuhan sebagai respon terhadap infeksi atau luka yang kemudian berfungsi menghambat fungsi penyerangnya (Endarini, 2016).

Telah banyak flavonoid yang diketahui memberikan efek fisiologis tertentu. Oleh karena itu, tumbuhan yang mengandung flavonoid banyak dipakai dalam pengobatan tradisional. Penelitian masih terus dilakukan untuk mengetahui berbagai manfaat yang bisa diperoleh dari senyawa flavonoid (Endarini, 2016).

Berdasarkan strukturnya, terdapat beberapa jenis flavonoid yang bergantung pada tingkat oksidasi rantai propan, yaitu kalkon, flavan, flavanol (katekin), flavanon, flavanonol, flavon, flavanon, antosianidin, auron. Katekin merupakan senyawa yang mempunyai banyak kesamaan dengan proantosianidin. Katekin mempunyai aktivitas antioksidan yang tinggi. Proantosianidin, menurut definisi adalah senyawa yang membentuk antosianidin (jika dipanaskan dengan asam). Jika proantosianidin diperlakukan dengan asam dingin akan menghasilkan polimer yang menyerupai tanin. Antosianin adalah pigmen daun dan bunga dari yang berwarna merah hingga biru. Pada $\text{pH} < 2$, antosianin berada dalam bentuk kation (ion flavilium), tetapi pada pH yang sedikit asam, bentuk kuinonoid yang terbentuk. Bentuk ini dioksidasi dengan cepat oleh udara dan rusak, oleh karena itu pengerjaan terhadap antosianin aman dilakukan dalam larutan yang asam (Endarini, 2016).

Flavanon (dihydroflavon) dan flavanol (dihydroflavonol) tersebar di alam dalam jumlah yang terbatas. Keduanya merupakan senyawa yang berwarna atau sedikit kuning. Flavon dan flavanol merupakan flavonoid utama karena termasuk jenis flavonoid yang banyak dijumpai di alam (Endarini, 2016).

Mekanisme kerja flavonoid sebagai antimikroba dapat dibagi menjadi 3 yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi. Mekanisme antibakteri flavonoid menghambat sintesis asam nukleat adalah cincin A dan B yang memegang peran penting dalam proses interkelasi atau ikatan hidrogen dengan menumpuk basa asam nukleat yang menghambat pembentukan DNA dan RNA. Letak gugus hidroksil di posisi 2',4' atau 2',6' dihidroksilasi pada cincin B dan 5,7 dihidroksilasi pada cincin A berperan penting terhadap aktivitas antibakteri flavonoid. Flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri (Rijayanti, 2014).

Mekanisme kerja flavonoid menghambat fungsi membran sel adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler. Penelitian lain menyatakan mekanisme flavonoid menghambat fungsi membran sel dengan cara mengganggu permeabilitas membran sel dan menghambat ikatan enzim seperti ATP dan *phospholipase* (Rijayanti, 2014).

Flavonoid dapat menghambat metabolisme energi dengan cara menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri. Flavonoid menghambat pada sitokrom C reduktase sehingga pembentukan metabolisme terhambat. Energi dibutuhkan bakteri untuk biosintesis makromolekul (Rijayanti, 2014).

2.1.5 Manfaat Sirih Hijau (*Piper betle* L.)

Daun sirih sejak zaman dahulu sudah digunakan secara tradisional dan diketahui khasiatnya sebagai tanaman obat dalam kebutuhan sehari-hari diantaranya sebagai obat kumur dan penyembuh luka. Sirih merupakan tumbuhan herbal yang mudah ditemukan di rumah masyarakat karena mudah dikembangbiakkan (Evival, 2013).

Daun sirih dimanfaatkan sebagai antisariawan, antibatuk, astrigent, dan antiseptik. Kandungan kimia tanaman sirih adalah saponin, flavonoid, polifenol, dan minyak astari. Senyawa saponin dapat bekerja sebagai antimikroba. Senyawa ini akan merusak membran sitoplasma dan membunuh sel. Senyawa flavonoid diduga memiliki mekanisme kerja mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Carolia *et al.*, 2016).

2.2 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan tahap pendahuluan dalam penelitian fitokimia. Secara umum dapat dikatakan bahwa metodenya sebagian besar merupakan reaksi pengujian warna dengan suatu pereaksi warna. Skrining fitokimia merupakan langkah awal yang dapat membantu (Sasongko *et al.*, 2018).

2.2.1 Skrining fitokimia alkaloid

Uji skrining fitokimia senyawa golongan alkaloid dilakukan dengan menggunakan metode Culvenor dan Fitzgerald. Bahan tanaman segar sebanyak 5-10 gram diekstraksi dengan kloroform beramonia lalu disaring. Selanjutnya ke dalam filtrat ditambahkan 0,5-1 ml asam sulfat 2 N dan dikocok sampai terbentuk dua lapisan. Lapisan asam (atas) dipipet dan dimasukkan ke dalam tiga buah tabung reaksi. Ke dalam tabung reaksi yang pertama ditambahkan dua tetes pereaksi Mayer. Ke dalam tabung reaksi kedua ditambahkan dua tetes pereaksi Dragendorf dan kedalam tabung reaksi yang ketiga dimasukkan dua tetes pereaksi Wagener. Adanya senyawa alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih pada tabung reaksi yang pertama dan timbulnya endapan berwarna coklat kemerahan pada tabung reaksi kedua dan ketiga (Sasongko *et al.*, 2018).

2.2.2 Skrining fitokimia flavonoid

Uji skrining senyawa ini dilakukan dengan cara menggunakan pereaksi Wilstater/ Sianidin. Bahan sampel tanaman sebanyak 5 gram diekstraksi dengan pelarut n-heksana atau petroleum eter sebanyak 15 ml kemudian disaring. Ekstrak yang diperoleh selanjutnya diekstraksi lebih lanjut menggunakan metanol atau etanol sebanyak 30 ml. Selanjutnya, 2 ml ekstrak metanol atau etanol yang diperoleh kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambah dengan 0,5 ml asam klorida pekat (HCl pekat) dan 3-4 pita logam Mg. Adanya flavonoid ditandai dengan warna merah, *orange* dan hijau tergantung struktur flavonoid yang terkandung dalam sampel tersebut (Sasongko *et al.*, 2018).

2.2.3 Skrining fitokimia tanin

Uji skrining tanin dapat dilakukan dengan 2 metode yaitu uji gelatin FeCl_3 . Untuk uji FeCl_3 , maka sebanyak 2 ml ekstrak air dari suatu bagian tanaman ditambahkan ke dalam 2 ml air suling. Selanjutnya, larutan ekstrak tersebut ditetesi dengan satu atau dua tetes larutan FeCl_3 1%. Adanya kandungan tanin

ditandai dengan timbulnya warna hijau gelap atau hijau kebiruan. Adapun Suatu ekstrak bagian tanaman mengandung tanin jika terbentuk endapan putih, setelah diberi larutan gelatin 1% yang mengandung NaCl 10% (Sasongko *et al.*, 2018).

2.2.4 Skrining fitokimia terpenoid dan steroid tak jenuh

Uji skrining senyawa golongan terpenoid dan steroid tak jenuh dilakukan dengan menggunakan pereaksi Lieberman-Burchard. Bahan sampel tanaman sebanyak 5 gram diekstraksi dengan pelarut n-heksana atau petroleum eter sebanyak 10 ml kemudian disaring. Ekstrak yang diperoleh diambil sedikit dan dikeringkan di atas papan *spot test*, ditambahkan tiga tetes anhidrida asetat dan kemudian satu tetes asam sulfat pekat. Adanya senyawa golongan terpenoid akan ditandai dengan timbulnya warna merah sedangkan adanya senyawa golongan steroid ditandai dengan munculnya warna hijau (Sasongko *et al.*, 2018).

2.2.5 Skrining fitokimia antrakuinon

Modifikasi uji Borntrager dapat digunakan untuk menguji adanya senyawa golongan antrakuinon. Bahan tanaman sebanyak 5 gram diuapkan di atas penangas air sampai kering. Bahan kering yang sudah dingin tersebut kemudian dimasukkan ke dalam campuran larutan 10 ml KOH 5N dan 1 ml H₂O₂ 3% dan dipanaskan di atas penangas air selama 10 menit, kemudian disaring. Ke dalam filtrat yang diperoleh setelah penyaringan ditambahkan asam asetat glasial sampai larutan bersifat asam, kemudian diekstraksi dengan benzena. Ekstrak benzena yang diperoleh kemudian diambil 5 ml dan ditambah dengan 5 ml amonia, lalu dikocok. Jika terbentuk warna merah pada lapisan amonia, maka bahan tanaman tersebut mengandung senyawa golongan antrakuinon (Sasongko *et al.*, 2018).

2.3 Simplisia

2.3.1 Definisi Simplisia

Simplisia adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan, kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan simplisia tidak lebih dari 60°C (Gunawan, 2010).

Simplisia merupakan bahan awal pembuatan sediaan herbal. Mutu sediaan herbal sangat dipengaruhi oleh mutu simplisia yang digunakan. Oleh karena itu, sumber simplisia, cara pengolahan, dan penyimpanan harus dapat dilakukan dengan cara yang baik. Simplisia adalah bahan alam yang digunakan sebagai bahan sediaan herbal yang belum mengalami pengolahan apapun dan kecuali dinyatakan lain simplisia merupakan bahan yang telah dikeringkan (Gunawan, 2010).

2.3.2 Penggolongan Simplisia

2.3.2.1 Simplisia nabati

Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tumbuhan atau dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya atau zat nabati lain yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tumbuhannya (Gunawan, 2010).

2.3.2.2 Simplisia hewani

Simplisia hewani adalah simplisia berupa hewan utuh atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan. Contohnya adalah minyak ikan dan madu (Gunawan, 2010).

2.3.2.3 Simplisia pelikan atau mineral

Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana. Contohnya serbuk seng dan serbuk tembaga (Gunawan, 2010).

2.3.3 Pengelolaan Simplisia

2.3.3.1 Pengumpulan bahan baku

Kadar senyawa aktif dalam suatu simplisia berbeda-beda yang tergantung pada beberapa faktor, antara lain : bagian tumbuhan yang digunakan, umur tumbuhan atau bagian tumbuhan pada saat panen, waktu panen dan lingkungan tempat tumbuh. Waktu panen sangat erat hubungannya dengan pembentukan senyawa aktif didalam bagian tumbuhan yang akan dipanen. Waktu panen yang tepat pada saat bagian tumbuhan tersebut mengandung senyawa aktif dalam jumlah yang terbesar. Senyawa aktif akan terbentuk secara maksimal didalam bagian tumbuhan atau tumbuhan pada umur tertentu. Berdasarkan garis besar pedoman panen, pengambilan bahan baku tanaman dilakukan sebagai berikut:

a Biji

Pengambilan biji dapat dilakukan pada saat mulai mengeringnya buah atau sebelum semuanya pecah.

b Buah

Panen buah bisa dilakukan saat menjelang masak (misalnya Piper nigrum), setelah benar-benar masak (misalnya adas), atau dengan cara melihat perubahan warna/ bentuk dari buah yang bersangkutan (misalnya jeruk, asam, dan pepaya).

c Bunga

Panen dapat dilakukan saat menjelang penyerbukan, saat bunga masih kuncup (seperti pada Jasminum sambac, melati), atau saat bunga sudah mulai mekar (misalnya Rosa sinensis, mawar).

d Daun atau herba

Panen daun atau herba dilakukan pada saat proses fotosintesis berlangsung maksimal, yaitu ditandai dengan saat-saat tanaman mulai berbunga atau buah mulai masak. Untuk mengambil pucuk daun, dianjurkan dipungut pada saat warna pucuk daun berubah menjadi daun tua.

e Kulit batang

Tumbuhan yang pada saat panen diambil kulit batang, pengambilan dilakukan pada saat tumbuhan telah cukup umur. Agar pada saat

pengambilan tidak mengganggu pertumbuhan, sebaiknya dilakukan pada musim yang menguntungkan pertumbuhan antara lain menjelang musim kemarau.

f Umbi lapis

Panen umbi dilakukan pada saat umbi mencapai besar maksimum dan pertumbuhan pada bagian di atas berhenti. Misalnya bawang merah.

g Rimpang

Pengambilan rimpang dilakukan pada saat musim kering dengan tanda-tanda mengeringnya bagian atas tumbuhan. Dalam keadaan ini rimpang dalam keadaan besar maksimum.

h Akar

Panen akar dilakukan pada saat proses pertumbuhan berhenti atau tanaman sudah cukup umur. Panen yang dilakukan terhadap akar umumnya akan mematikan tanaman yang bersangkutan (Gunawan, 2010).

2.3.3.2 Sortasi Basah

Sortasi basah adalah pemilihan hasil panen ketika tanaman masih segar. Sortasi dilakukan terhadap:

- a Tanah atau kerikil,
- b Rumput-rumputan
- c Bahan tanaman lain atau bagian lain dari tanaman yang tidak digunakan
- d Bagian tanaman yang rusak (dimakan ulat atau sebagainya) (Gunawan, 2010).

2.3.3.3 Pencucian

Pencucian simplisia dilakukan untuk membersihkan kotoran yang melekat, terutama bahan-bahan yang berasal dari dalam tanah dan juga bahan-bahan yang tercemar peptisida. Cara sortasi dan pencucian sangat mempengaruhi jenis dan jumlah mikroba awal simplisia. Misalnya jika air yang digunakan untuk pencucian kotor, maka jumlah mikroba pada permukaan bahan simplisia dapat bertambah dan air yang terdapat pada permukaan bahan tersebut dapat mempercepat pertumbuhan mikroba. Bakteri yang umum

terdapat dalam air adalah *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Enterobacter*, dan *Escherichia* (Gunawan, 2010).

2.3.3.4 Perajangan

Pada dasarnya tujuan pengubahan bentuk simplisia adalah untuk memperluas permukaan bahan baku. Semakin luas permukaan maka bahan baku akan semakin cepat kering. Perajangan dapat dilakukan dengan pisau, dengan alat mesin perajangan khusus sehingga diperoleh irisan tipis atau potongan dengan ukuran yang dikehendaki (Gunawan, 2010).

2.3.3.5 Pengerinan

Proses pengerinan simplisia, terutama bertujuan sebagai berikut :

- a Menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri.
- b Menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan zat aktif .
- c Memudahkan dalam hal pengolahan proses selanjutnya (ringkas, mudah disimpan, tahan lama, dan sebagainya) (Gunawan, 2010).

2.3.3.6 Sortasi Kering

Sortasi kering adalah pemilihan bahan setelah mengalami proses pengerinan. Pemilihan dilakukan terhadap bahan-bahan yang terlalu gosong atau bahan yang rusak (Gunawan, 2010).

2.3.3.7 Penyimpanan

Setelah tahap pengerinan dan sortasi kering selesai maka simplisia perlu ditempatkan dalam suatu wadah tersendiri agar tidak saling bercampur antara simplisia satu dengan lainnya (Gunawan, 2010).

2.4 Ekstrak dan Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai (Paju *et al.*,2013).

Ekstrak berdasarkan sifatnya dapat dibagi menjadi:

- a. Ekstrak encer, sediaan yang masih dapat dituang
- b. Ekstrak kental, sediaan yang tidak dapat dituang dan memiliki kadar air sampai 30%
- c. Ekstrak kering, sediaan yang berbentuk serbuk, dibuat dari ekstrak tumbuhan yang diperoleh dari penguapan bahan pelarut
- d. Ekstrak cair, mengandung simplisia nabati yang mengandung etanol sebagai bahan pengawet (Istiqomah, 2013).

Ekstraksi adalah proses pemisahan suatu zat berdasarkan perbedaan sifat tertentu, terutama kelarutannya terhadap dua cairan tidak saling larut yang berbeda. Pada umumnya ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut yang didasarkan pada kelarutan komponen terhadap komponen lain dalam campuran, biasanya air dan yang lainnya pelarut organik. Bahan yang akan diekstrak biasanya berupa bahan kering yang telah dihancurkan, biasanya berbentuk bubuk atau simplisia (Istiqomah, 2013).

Tujuan ekstraksi bahan alam adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Bahan-bahan aktif seperti senyawa antimikroba dan antioksidan yang terdapat pada tumbuhan pada umumnya diekstrak dengan pelarut. Pada proses ekstraksi dengan pelarut, jumlah dan jenis senyawa yang masuk kedalam cairan pelarut sangat ditentukan oleh jenis pelarut yang digunakan dan meliputi dua fase yaitu fase pembilasan dan fase ekstraksi. Pada fase pembilasan, pelarut membilas komponen isi sel yang telah pecah pada proses penghancuran sebelumnya. Pada fase ekstraksi, mula-mula terjadi pembengkakan dinding sel dan pelonggaran kerangka selulosa dinding sehingga pori-pori dinding sel menjadi melebar yang menyebabkan pelarut dapat dengan mudah masuk kedalam sel (Istiqomah, 2013).

2.4.1 Ekstraksi Konvensional

2.4.1.1 Cara dingin

a. Maserasi

Maserasi merupakan metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut diam atau dengan adanya pengadukan beberapa kali pada suhu ruangan. Metode ini dapat dilakukan dengan cara merendam bahan dengan sekali-sekali dilakukan pengadukan. Pada umumnya perendaman dilakukan selama 24 jam, kemudian pelarut diganti dengan pelarut baru. Maserasi juga dapat dilakukan dengan pengadukan secara sinambung (maserasi kinetik). Kelebihan dari metode ini yaitu efektif untuk senyawa yang tidak tahan panas (terdegradasi karena panas), peralatan yang digunakan relatif sederhana, murah, dan mudah didapat. Namun metode ini juga memiliki beberapa kelemahan yaitu waktu ekstraksi yang lama, membutuhkan pelarut dalam jumlah yang banyak, dan adanya kemungkinan bahwa senyawa tertentu tidak dapat diekstrak karena kelarutannya yang rendah pada suhu ruang (Istiqomah, 2013).

b. Perkolasi

Perkolasi merupakan metode ekstraksi dengan bahan yang disusun secara unggul dengan menggunakan pelarut yang selalu baru sampai prosesnya sempurna dan umumnya dilakukan pada suhu ruangan. Prosedur metode ini yaitu bahan direndam dengan pelarut, kemudian pelarut baru dialirkan secara terus menerus sampai warna pelarut tidak lagi berwarna atau tetap bening yang artinya sudah tidak ada lagi senyawa yang terlarut. Kelebihan dari metode ini yaitu tidak diperlukan proses tambahan untuk memisahkan padatan dengan ekstrak, sedangkan kelemahan metode ini adalah jumlah pelarut yang dibutuhkan cukup banyak dan proses juga memerlukan waktu yang cukup lama, serta tidak meratanya kontak antara padatan dengan pelarut (Istiqomah, 2013).

2.4.1.2 Cara panas

a. Refluks

Ekstraksi refluks merupakan metode ekstraksi yang dilakukan pada titik didih pelarut tersebut, selama waktu dan sejumlah pelarut tertentu dengan adanya pendingin balik (kondensor). Pada umumnya dilakukan tiga sampai lima kali pengulangan proses pada rafinat pertama. Kelebihan metode refluks adalah padatan yang memiliki tekstur kasar dan tahan terhadap pemanasan langsung dapat diekstrak dengan metode ini. Kelemahan metode ini adalah membutuhkan jumlah pelarut yang banyak (Irawan, B., 2010).

b. Sokletasi

Ekstraksi dengan alat soxhlet merupakan ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru, umumnya dilakukan menggunakan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi konstan dengan adanya pendingin balik (kondensor). Pada metode ini, padatan disimpan dalam alat soxhlet dan dipanaskan, sedangkan yang dipanaskan hanyalah pelarutnya. Pelarut terdinginkan dalam kondensor, kemudian mengekstraksi padatan. Kelebihan metode soxhlet adalah proses ekstraksi berlangsung secara kontinu, memerlukan waktu ekstraksi yang lebih sebentar dan jumlah pelarut yang lebih sedikit bila dibandingkan dengan metode maserasi atau perkolasi (Sarker, S. D., et al., 2006). Kelemahan dari metode ini adalah dapat menyebabkan rusaknya *solute* atau komponen lainnya yang tidak tahan panas karena pemanasan ekstrak yang dilakukan secara terus menerus (Tiwari P., et al., 2011).

c. Digesti

Digesti merupakan maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari suhu kamar. Secara umum dilakukan pada suhu 40-50⁰C (Istiqomah, 2013).

d. Infusa

Infusa adalah ekstraksi dengan pelarut air pada suhu penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih), suhu terukur (96-98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit) (Istiqomah, 2013).

e. Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama dan suhu sampai titik didih air, yaitu pada suhu 90-100°C selama 30 menit (Istiqomah, 2013).

2.4.2 Ekstraksi Non-Konvensional

2.4.2.1 Ekstraksi berbantu gelombang ultrasonik (*ultrasound assisted extraction /USE*)

Teknik ekstraksi ini dilakukan dengan bantuan gelombang ultrasonik dengan frekuensi 20-2000 kHz untuk meningkatkan permeabilitas sel tanaman dan membangkitkan kavitasi. Seperti gelombang pada umumnya, gelombang ultrasonik bergerak melalui suatu media dengan mekanisme kompresi dan ekspansi. Langkah ekspansi menarik molekul-molekul pelarut untuk bergerak menjauh. Langkah ekspansi menghasilkan gelembung-gelembung dalam cairan pelarut sehingga menyebabkan penurunan tekanan. Proses ini menghasilkan sebuah fenomena yang disebut dengan kavitasi, yang berarti pembentukan, pertumbuhan, dan pemecahan gelembung. Pada tempat-tempat yang dekat dengan batas partikel padatan, celah antar gelembung pecah secara asimetrik dan menghasilkan gerakan cairan pelarut seperti jet yang sangat cepat. Lucutan jet pelarut inilah yang sangat berperan dalam penetrasi pelarut pada permukaan partikel bagian tanaman yang diekstraksi. Energi yang dihasilkan dari perubahan energi kinetik yang dimiliki oleh gerakan gelembung menjadi energi kalor/panas sangatlah besar. Atas dasar prinsip inilah, ekstraksi berbantu gelombang ultrasonik dikembangkan. Tetapi, hanya cairan dan cairan yang mengandung padatan saja yang dapat mengalami efek kavitasi. Peralatan ekstraksi dengan gelombang ultrasonik terdiri dari sebuah bejana ekstraksi yang dilengkapi dengan pembangkit gelombang ultrasonik dan *waterbath* yang mempunyai pengatur suhu. Dengan adanya energi

ultrasonik, maka ekstraksi berbantu gelombang ultrasonik mempunyai kelebihan dalam mengeluarkan senyawa organik dan anorganik dari matriks bagian tanaman. Mekanismenya diperkirakan melalui terjadinya intensifikasi perpindahan massa dan percepatan pelarut dalam mengakses senyawa bahan aktif yang terkandung dalam sel-sel bagian tanaman. Mekanisme ekstraksi dengan model ini melibatkan dua fenomena fisik, yaitu difusi melalui dinding sel bagian tanaman dan pengeluaran isi sel oleh pelarut setelah dinding sel pecah. Kelebihan ekstraksi dengan model ini adalah waktu ekstraksi singkat, rendahnya energi yang digunakan dan sedikitnya pelarut yang diperlukan. Energi ultrasonik berperan besar dalam menciptakan pencampuran yang efektif, perpindahan energi yang cepat, menurunkan gradien termal dan suhu ekstraksi, sangat selektif dalam mengekstraksi bahan aktif, ukuran peralatan yang kompak/kecil, respon yang lebih cepat pada sistem kendali, *start-up* yang cepat, kapasitas ekstraksi yang bisa diperbesar dan dapat dihilangkannya beberapa tahapan yang tidak perlu. Salah satu kelemahan ekstraksi ini selain biayanya yang besar juga menurunnya bahan aktif sebagai akibat dari terbentuknya radikal bebas dan perubahan molekul bahan obat yang diekstrak karena paparan energi ultrasonik dengan frekuensi lebih dari 20 kHz (Sasongko *et al.*, 2018).

2.4.2.2 Ekstraksi berbantu medan listrik berdenyut (*pulsed-electric field extraction/PEF*)

Pada satu dasawarsa terakhir, teknik ekstraksi ini telah banyak digunakan dalam proses pengepresan, pengeringan, dan ekstraksi. Prinsipnya adalah bahwa denyutan medan listrik akan merak struktur membran sel untuk mempermudah keluarnya bahan aktif dan matriks bagian tanaman. Ketika sel hidup berada dalam lingkungan medan listrik, maka sebuah muatan listrik akan bergerak melintasi membran sel. Berdasarkan karakteristik dipol pada molekul membran, maka potensial listrik akan memisahkan molekul senyawa bahan aktif atas dasar muatan mereka dalam membran sel. Setelah muatan listrik dalam membrane melampaui nilai muatan listrik kritis sekitar 1 volt, terjadi tolak-menolak antara molekul yang membawa muatan sehingga

membentuk pori-pori pada bagian membran yang lemah dan menyebabkan kenaikan permeabilitas yang sangat drastis. Efektivitas teknik ekstraksi ini sangat tergantung pada kekuatan medan listrik, energi listrik yang digunakan, jumlah denyutan, suhu dan karakteristik bagian tanaman yang diekstraksi. Teknik ini mampu untuk mengurangi terjadinya degradasi pada senyawa yang tidak tahan panas, meningkatkan rendemen ekstraksi dan mengurangi waktu ekstraksi (Sasongko *et al.*, 2018).

2.4.2.3 Ekstraksi berbantu enzim (*enzyme assisted extraction/EAE*)

Senyawa-senyawa yang tidak dapat terjangkau dengan pelarut selama ekstraksi dengan teknik konvensional, dapat dilakukan hidrolisis dengan bantuan enzim sebagai perlakuan awal untuk membantu melepaskan senyawa bahan aktif yang terikat oleh ikatan hidrogen dan ikatan hidrofobik, sehingga dapat meningkatkan rendemen ekstraksi. Penambahan enzim tertentu, seperti *selulase*, *β -glukosidase*, *β -glukonase*, *α -amilase* dan *pektinase* selama proses ekstraksi dapat meningkatkan rendemen ekstraksi. Beberapa enzim dapat menghidrolisis dan mendegradasi dinding sel sehingga membantu mempercepat keluarnya senyawa bahan aktif dari dalam sel. Selulosa, hemiselulosa dan pektin dapat dihidrolisis menggunakan enzim *selulose*, *β -glukosidase* dan *pektinase*. Hal ini disebabkan oleh aktivitas enzim-enzim tersebut yang mampu merusak dinding sel dan menghidrolisis bantalan polisakarida dan lemak (Sasongko *et al.*, 2018).

Teknik ekstraksi ini pada umumnya digunakan untuk mengekstraksi minyak yang terdapat didalam berbagai jenis biji-bijian. Faktor-faktor yang mempengaruhi keberhasilan ekstraksi dengan teknik ini adalah komposisi dan konsentrasi enzim, ukuran partikel bagian tanaman yang akan diekstraksi, rasio padatan dengan air, waktu hidrolisis, dan kadar air dalam partikel. Teknik ini merupakan teknik yang ramah lingkungan karena untuk mengekstraksi senyawa bahan aktif dan minyak menggunakan air sebagai pelarut bukan pelarut organik. Selain itu, teknik ini menggunakan pelarut yang tidak mudah terbakar dan tidak beracun (Sasongko *et al.*, 2018).

2.4.2.4 Ekstraksi berbantu gelombang mikro (*microwave assisted extraction/MAE*)

Ekstraksi ini merupakan teknik ekstraksi untuk mengekstraksi bahan aktif dari berbagai jenis bahan baku menggunakan pelarut cair yang sesuai dengan bantuan gelombang mikro. Gelombang mikro merupakan medan elektromagnet dengan rentang frekuensi 300 MHz hingga 300 GHz. Gelombang mikro terdiri dari dua medan yang berorientasi saling tegak lurus, yaitu medan listrik dan medan magnet (Sasongko *et al.*, 2018).

Prinsip pemanasan menggunakan gelombang mikro adalah didasarkan pada tumbukan secara langsung pada bahan-bahan polar. Beberapa keuntungan mengekstraksi dengan teknik ini adalah laju pemanasan yang lebih cepat, gradien suhu yang rendah, ukuran peralatan lebih kecil dan rendemen ekstraksi yang tinggi. Teknik ekstraksi ini lebih selektif dalam mengekstraksi bahan organik dan organometalik yang berikatan sangat kuat dengan matriks induknya. Teknik ekstraksi ini juga ramah lingkungan karena menggunakan pelarut dalam jumlah sedikit. Optimasi ekstraksi dengan metode ini didasarkan pada jenis pelarut, konsentrasi pelarut, ukuran partikel matriks bagian tanaman, waktu dan daya pembangkit gelombang mikro untuk meningkatkan kemampuan ekstrak bahan aktif dalam menyumbangkan electron (Sasongko *et al.*, 2018).

2.4.2.5 Ekstraksi dengan cairan pelarut bertekanan (*pressurized liquid extraction/PLE*)

Pada prinsipnya, teknik ekstraksi ini menggunakan tekanan tinggi untuk menjaga agar pelarut tetap berupa cairan meskipun berada pada suhu yang lebih tinggi daripada titik didihnya. Teknik ekstraksi ini membutuhkan sedikit pelarut karena pengoperasiannya pada suhu dan tekanan yang tinggi sehingga mempercepat proses ekstraksi. Suhu yang tinggi meningkatkan kelarutan bahan aktif dalam pelarut, laju perpindahan massa, menurunkan viskositas dan tegangan permukaan pelarut. Hal inilah yang menyebabkan tingginya laju ekstraksi pada teknik ekstraksi dengan cairan pelarut bertekanan. Penggunaan

pelarut yang hanya sedikit menjadikan teknik ekstraksi ini digolongkan sebagai teknik ekstraksi yang ramah lingkungan (Sasongko *et al.*, 2018).

2.4.2.6 Ekstraksi dengan fluida superkritis

Pada dasarnya, setiap bahan dapat berada dalam wujud padat, cair dan gas. Keadaan superkritis merupakan suatu keadaan yang khas dan hanya dapat dicapai oleh suatu bahan pada suhu dan tekanan di atas titik kritiknya. Titik kritik didefinisikan sebagai suatu suhu dan tekanan yang pada keadaan tersebut suatu bahan tidak dapat dibedakan antara fase cair dan gas. Pada keadaan superkritis, sifat fisik yang dimiliki oleh suatu bahan dalam fase gas dan fase cair tidak ada lagi, sehingga bahan tersebut juga tidak dapat dicirikan dengan mengubah nilai suhu dan tekanannya. Fluida superkritis mempunyai nilai tetapan difusi, viskositas dan tegangan permukaan seperti gas, tetapi densitas dan daya ekstraksi senyawa dari sumbernya dalam waktu yang singkat dan rendemennya yang tinggi. Ekstraksi dengan metode ini dapat mengurangi penggunaan pelarut organik dan menaikkan kapasitas produksi. Keuntungan dengan menggunakan metode ini adalah fluida superkritis mempunyai tetapan difusi yang lebih tinggi, tetapi viskositas dan tegangan permukaannya lebih rendah daripada pelarut organik yang berwujud cair. Hal ini mempermudah penetrasinya ke dalam tanaman dan meningkatkan laju perpindahan massa. Oleh karena itu, waktu ekstraksi dengan fluida superkritis lebih pendek jika dibandingkan dengan ekstraksi konvensional; kontak antara fluida superkritis dengan bagian tanaman yang diekstraksi secara terus-menerus dapat menyebabkan ekstraksi berlangsung sempurna; karena daya larutnya dapat diatur dengan mengubah nilai suhu dan tekanan sistemnya, maka selektivitas fluida superkritis lebih tinggi daripada pelarut organik cair biasa; pemisahan solut bahan aktif dari pelarut dapat dilakukan dengan menurunkan tekanan fluida superkritis, sehingga proses ini mudah dan hemat waktu ekstraksi; ekstraksi dapat dilakukan pada suhu rendah, sehingga mengurangi resiko kerusakan senyawa bahan aktif oleh panas dan pelarut organik; ekstraksi dengan fluida superkritis dapat dilakukan baik untuk matriks bagian tanaman dalam jumlah besar maupun kecil;

penggabungan teknologi ekstraksi dengan fluida superkritis dengan sistem kromatografi dapat dilakukan secara *online*, sehingga sistem ini sangat sesuai untuk senyawa bahan aktif yang sangat mudah menguap; ekstraksi ini hanya menggunakan sedikit pelarut organik; dapat *direcycle* dan digunakan kembali sehingga mengurangi pembentukan limbah; ekstraksi ini dapat dirangkai untuk keperluan tertentu, mulai dari skala miligram untuk proses laboratorium hingga berskala ton dalam industri. Parameter yang harus dikendalikan dalam teknik ini adalah suhu, tekanan, ukuran partikel matriks bagian tanaman, kadar air tanaman yang akan diekstraksi, waktu, laju alir volumetrik karbondioksida dan rasio massa pelarut terhadap bagian tanaman yang diekstraksi. Selain itu, teknik pengumpulan analit, penggunaan pelarut, laju alir pelarut, pengendalian laju pelarut dan tekanan serta pembatas kolom ekstraksi juga turut berperan dalam meningkatkan efisiensi ekstraksi. *Recovery* bahan aktif biasanya meningkat seiring dengan meningkatnya suhu dan tekanan ekstraksi (Sasongko *et al.*, 2018).

2.4.2.7 Proses fitonik

Proses fitonik merupakan proses ekstraksi yang baru dan menggunakan pelarut hidrofluorokarbon. Teknik ekstraksi ini menawarkan beberapa keuntungan dari segi kelestarian lingkungan, kesehatan dan keamanan jika dibandingkan dengan teknik ekstraksi konvensional untuk menghasilkan minyak atsiri, perisa dan ekstrak tanaman. Bahan aktif yang diekstrak dari bagian tanaman dengan teknik ini, umumnya adalah bahan pengharum dalam minyak atsiri, bahan aktif antara, ekstrak antibiotik, oleoresin, pewarna alami, perisa dan ekstrak fitofarmaka yang bisa langsung digunakan tanpa perlakuan lanjutan baik secara fisik maupun kimia. Selain untuk mengekstraksi, teknik ini juga digunakan untuk memurnikan ekstrak kasar dari proses ekstraksi yang lain dari lilin, pengotor dan biosida. Proses ekstraksi dengan metode ini sangat menguntungkan karena pelarut dapat diatur sesuai dengan keperluannya. Pelarut lain yang sudah dimodifikasi kepolarannya juga dapat digunakan untuk mengekstrak berbagai jenis bahan aktif dengan selektifitas yang tinggi. Pada umumnya, bahan aktif yang diekstrak dengan teknik ini

hanya mengandung residu pelarut yang sangat rendah (kurang dari 20 ppb) sehingga sering tidak terdeteksi. Pelarut yang digunakan dalam teknik ini tidak bersifat asam atau basa, sehingga hampir tidak ada potensi terjadi reaksi kimia antara pelarut dengan bahan aktif yang diekstrak. Alat ekstraksi fitonik ditutup dengan sangat rapat sehingga dapat didaur ulang dan dipungut kembali seluruhnya pada akhir proses ekstraksi tanpa terjadi kebocoran yang dapat menyebabkan lepasnya pelarut ke lingkungan. Jika terjadi kebocoran sekalipun, pelarut tidak mengandung klorin sehingga tidak membahayakan lapisan ozon. Satu-satunya peralatan yang disediakan adalah energi listrik. Sisa bagian tanaman yang tidak terekstrak biasanya kering dan ramah lingkungan. Keunggulan teknik ini adalah produk bahan aktif yang dihasilkan tidak rusak karena tidak terpapar dengan suhu tinggi; tidak memerlukan penghampaan sehingga tidak terjadi kehilangan bahan volatil yang berharga; proses berlangsung pada pH netral dan tanpa oksigen sehingga produk bahan aktif tidak mengalami kerusakan akibat reaksi hidrolisis atau oksidasi; mempunyai selektifitas yang tinggi, kondisi operasi mudah diatur sehingga produk bahan aktif yang diinginkan juga bisa diperkirakan dengan baik; ramah lingkungan karena pelarut yang digunakan tidak mudah terbakar, tidak beracun, tidak menyebabkan emisi gas berbahaya ke atmosfer dan bahan sisa tanaman bersifat tidak berbahaya dan tidak menimbulkan masalah pada lingkungan; murah karena tidak memerlukan banyak energi listrik dan keseluruhan pelarut yang digunakan dapat didaur ulang dan dipungut kembali. Teknik ini biasanya diterapkan pada bidang bioteknologi (produksi antibiotik), industri obat herbal, makanan, minyak atsiri dan perisa serta pada produksi bahan aktif lain. Teknik ekstraksi ini juga digunakan pada pemurnian ekstrak kasar bahan aktif dari proses ekstraksi lainnya serta dalam penghilangan biosida dan pestisida dari biomassa (Sasongko *et al.*, 2018).

2.5 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Ekstraksi

Menurut Istiqomah (2013) faktor – faktor yang mempengaruhi ekstraksi, yaitu :

1. Jenis pelarut

Jenis pelarut mempengaruhi senyawa yang tersari, jumlah zat terlarut yang terekstrak dan kecepatan ekstraksi.

2. Suhu

Secara umum, kenaikan suhu akan meningkatkan jumlah zat terlarut ke dalam pelarut.

3. Rasio pelarut dan bahan baku

Jika rasio pelarut bahan baku besar maka akan memperbesar pula jumlah senyawa yang terlarut. Akibatnya laju ekstraksi akan semakin meningkat.

4. Ukuran partikel

Laju ekstraksi juga meningkat apabila ukuran partikel bahan baku semakin kecil. Dalam arti lain, rendemen ekstrak akan semakin besar bila ukuran partikel semakin kecil.

5. Pengadukan

Fungsi pengadukan adalah untuk mempercepat terjadinya reaksi antara pelarut dengan zat terlarut.

6. Lama waktu

Lamanya waktu ekstraksi akan menghasilkan ekstrak yang lebih banyak, karena kontak antara zat terlarut dengan pelarut lebih lama.

2.6 Bakteri

2.6.1 Definisi Bakteri

Bakteri adalah salah satu golongan organisme prokariotik (tidak memiliki selubung inti). Bakteri sebagai makhluk hidup tentu memiliki informasi genetik berupa DNA, tapi tidak terlokalisasi dalam tempat khusus (nukleus) dan tidak ada membran inti. Bentuk DNA bakteri adalah sirkuler, panjang dan biasa disebut nukleoi. Pada DNA bakteri tidak mempunyai intron dan hanya tersusun atas akson saja. Bakteri juga memiliki DNA ekstrakromosomal yang tergabung menjadi *plasmid* yang berbentuk kecil dan sirkuler (Jawetz *et al.*, 2013).

Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri adalah :

- a. Sumber energi, yang diperlukan untuk reaksi-reaksi sintesis yang membutuhkan energi dalam pertumbuhan dan restorasi, pemeliharaan keseimbangan cairan, gerak dan sebagainya.
- b. Sumber karbon
- c. Sumber nitrogen, sebagian besar untuk sintesis protein dan asam nukleat.
- d. Sumber garam-garam anorganik, khususnya folat dan sulfat sebagai anion ; dan potasium, sodium magnesium, kalsium, besi, mangan sebagai kation.
- e. Bakteri-bakteri tertentu membutuhkan faktor-faktor tumbuh tambahan, disebut juga vitamin bakteri, dalam jumlah sedikit untuk sintesis metabolik esensial (Jawetz *et al.*, 2013).

2.6.2 Klasifikasi Bakteri

2.6.2.1 Bakteri Gram-Negatif

- a. Bakteri Gram Negatif Berbentuk Batang (*Enterobacteriaceae*).

Bakteri gram negatif berbentuk batang habitatnya adalah usus manusia dan binatang. *Enterobacteriaceae* meliputi *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus*). Beberapa organisme seperti *Escherichia coli* merupakan flora normal dan dapat menyebabkan penyakit, sedangkan yang lain seperti *salmonella* dan *shigella* merupakan patogen yang umum bagi manusia (Jawetz *et al.*, 2013).

- b. *Pseudomonas*, *Acinobacter* dan Bakteri Gram Negatif Lain

Pseudomonas aeruginosa bersifat invasif dan toksigenik, mengakibatkan infeksi pada pasien dengan penurunan daya tahan tubuh dan merupakan patogen nosokomial yang penting (Jawetz *et al.*, 2013).

- c. *Vibrio Campylobacter*, *Helicobacter*, dan Bakteri lain yang berhubungan.

Mikroorganisme ini merupakan spesies berbentuk batang Gram-negatif yang tersebar luas di alam. *Vibrio* ditemukan didaerah perairan dan permukaan air. *Aeromonas* banyak ditemukan di air segar dan terkadang pada hewan berdarah dingin (Jawetz *et al.*, 2013).

d. *Haemophilus*, *Bordetella*, dan *Brucella*

Gram negatif *Hemophilis influenza* tipe b merupakan patogen bagi manusia yang penting (Jawetz *et al.*, 2013).

e. *Yersinia*, *Franscisella* dan *Pasteurella*.

Berbentuk batang pendek Gram-negatif yang *pleomorfik*. Organisme ini bersifat katalase positif, oksidase positif, dan merupakan bakteri anaerob fakultatif (Jawetz *et al.*, 2013).

2.6.2.2 Bakteri Gram-Positif

a. Bakteri gram positif pembentuk spora : Spesies *Bacillus* dan *Clostridium*.

Kedua spesies ini terdapat dimana-mana, membentuk spora, sehingga dapat hidup di lingkungan selama bertahun-tahun. Spesies *Basillus* bersifat aerob, sedangkan *Clostridium* bersifat anaerob (Jawetz *et al.*, 2013).

b. Bakteri Gram-positif Tidak Membentuk Spora: Spesies *Corynebacterium*, *Listeria*, *Propionibacterium*, *Actinomycetes*.

Beberapa anggota genus *Corynebacterium* dan kelompok *Propionibacterium* merupakan flora normal pada kulit dan selaput lender manusia (Jawetz *et al.*, 2013).

c. *Staphylococcus*

Berbentuk bulat, biasanya tersusun bergerombol yang tidak teratur seperti anggur. Beberapa spesies merupakan anggota flora normal pada kulit dan selaput lendir, yang lain menyebabkan supurasi dan bahkan septikemia fatal. *Staphylococcus* yang patogen sering menghemolisis darah, mengkoagulasi plasma dan menghasilkan berbagai enzim ekstraseluler. Tipe *Staphylococcus* yang berkaitan dengan medis adalah *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus saprophyticus* (Jawetz *et al.*, 2013).

d. *Streptococcus*

Merupakan bakteri gram-positif berbentuk bulat yang mempunyai pasangan atau rantai pada pertumbuhannya. Beberapa *streptococcus* merupakan flora normal manusia tetapi lainnya bisa bersifat patogen pada manusia. Ada 20 spesies diantaranya ; *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, dan jenis *Enterococcus* (Jawetz *et al.*, 2013).

2.7 Antibakteri

2.7.1 Golongan Antibiotik Berdasarkan Mekanisme Kerjanya

2.7.1.1 Obat yang menghambat sintesis atau merusak dinding sel bakteri.

a. Antibiotik Beta-Laktam

Antibiotik beta-laktam terdiri dari berbagai golongan obat yang mempunyai struktur cincin beta-laktam, yaitu penisilin, sefalosporin, monobaktam, karbapenem, dan inhibitor beta-laktamase. Obat-obat antibiotik beta-laktam umumnya bersifat bakterisid, dan sebagian besar efektif terhadap organisme Gram -positif dan negatif. Antibiotik beta-laktam mengganggu sintesis dinding sel bakteri, dengan menghambat langkah terakhir dalam sintesis peptidoglikan, yaitu heteropolimer yang memberikan stabilitas mekanik pada dinding sel bakteri (Kemenkes, 2011).

b. Basitrasin

Basitrasin adalah kelompok yang terdiri dari antibiotik polipeptida, yang utama adalah basitrasin A. Berbagai kokus dan basil Gram-positif, *Neisseria*, *H. influenzae*, dan *Treponema pallidum* sensitif terhadap obat ini. Basitrasin tersedia dalam bentuk salep mata dan kulit, serta bedak untuk topikal. Basitrasin jarang menyebabkan hipersensitivitas. Pada beberapa sediaan, sering dikombinasi dengan neomisin dan/atau polimiksin. Basitrasin bersifat nefrotoksik bila memasuki sirkulasi sistemik (Kemenkes, 2011).

c. Vankomisin

Vankomisin trisiklik yang penting karena efektivitasnya terhadap organisme resisten multi-obat seperti stafilokokus resisten metilisin. Masyarakat kesehatan sekarang ini prihatin tentang laporan adanya resistensi vankomisin pada *strain* ini (Kemenkes, 2011).

Vankomisin merupakan antibiotik lini ketiga yang terutama aktif terhadap bakteri Gram-positif. Vankomisin hanya diindikasikan untuk infeksi yang disebabkan oleh *S. aureus* yang resisten terhadap metisilin Gram-negatif dan mikobakteria resisten terhadap vankomisin. Vankomisin diberikan secara intravena, dengan waktu paruh sekitar 6 jam (Kemenkes, 2011).

2.7.1.2 Obat yang memodifikasi atau menghambat sintesis protein

a. Aminoglikosida

Aminoglikosida dihasilkan oleh jenis-jenis fungi *Streptomyces* dan *Micromonospora* semua senyawa dan turunan semi-sintesisnya mengandung dua atau tiga gula amino di dalam molekulnya yang saling terikat secara glukosidis. Dengan adanya gugusan-amino, zat-zat ini bersifat basa lemah dan garam sulfatnya yang digunakan dalam terapi mudah larut dalam air (Tjay & Rahardja, 2010).

Spektrum aktivitas obat golongan ini menghambat bakteri aerob Gram negatif. Obat ini mempunyai indeks terapi sempit, dengan toksisitas serius pada ginjal dan pendengaran, khususnya pada pasien anak dan usia lanjut. Efek samping yang ditimbulkan adalah toksisitas ginjal, ototoksitas neuromuskular lebih jarang (Kemenkes, 2011).

Gentamisin

Gentamisin termasuk golongan Aminoglikosida. Gentamisin bersifat bakterisid yang aktif terutama terhadap gram negatif termasuk *Pseudomonas aerogenosa*, *Proteus serratia*. Antibiotik ini diindikasikan pada pasien dengan pneumonia, kolesistitis, peritonitis, septikemia,

pyelonefritis, infeksi kulit, inflamasi pada tulang panggul, endokarditis, meningitis, listeriosis, brucellosis, pes, pencegahan infeksi setelah pembedahan. Dosis yang diberikan secara IM, IV lepas lambat lebih lambat 3 menit dan IV pada usia <2 minggu, 3 mg/kgBB setiap 12 jam. Untuk usia 2 minggu-12 tahun, 2 mg/kgBB setiap 8 jam (Kemenkes, 2011).

b. Tetrasiklin

Tetrasiklin adalah suatu grup senyawa yang terdiri dari 4 cincin yang berfungsi dengan suatu sistem ikatan ganda konjugasi. Perbedaannya yang kecil yaitu dalam efektivitas klinik menunjukkan variasi farmakokinetik secara individual akibat substitusi pada cincin-cincin tersebut (Kemenkes, 2011).

Antibiotik golongan ini mempunyai spektrum luas dan dapat menghambat berbagai bakteri Gram-positif, Gram-negatif, baik yang bersifat aerob maupun anaerob, serta mikroorganisme lain seperti *Rickettsia*, Mikoplasma, Klamidia, dan beberapa spesies mikobakteria. Antibiotik yang termasuk ke dalam golongan ini adalah tetrasiklin, doksisisiklin, oksitetrasiklin, minosiklin, dan klortetrasiklin (Kemenkes, 2011).

Doksisisiklin

Doksisisiklin merupakan antibiotik golongan tetrasiklin dan mempunyai spektrum luas. Efektif pada kondisi yang disebabkan oleh *klamidia sp*, *riketsia sp*, *brucella sp* dan *spirochaete*, *Borrelia burgdorfer* (*Lyme disease*). Merupakan golongan tetrasiklin yang paling disukai karena mempunyai profil farmakokinetik yang lebih baik dibandingkan dengan tetrasiklin. Tersimpan pada tulang dan gigi yang sedang dalam pertumbuhan sehingga menyebabkan pewarnaan hipoplasia gigi. Tidak diberikan pada anak usia dibawah 12 tahun atau pada wanita hamil. Antibiotik ini diindikasikan pada pasien dengan infeksi saluran napas, termasuk pneumonia dan bronkitis kronik, infeksi saluran urin, sifilis, klamidia, mikoplasma, dan riketsia, prostatitis, limfogranuloma venereum,

penyakit radang pelvik dengan metronidazol, penyakit Lyme, brucellosis dengan rifampisin, leptospirosis, kolera, melioidosis, pes, antraks. Terdapat dalam bentuk kapsul atau tablet 100 mg, tablet 50 mg, dan sirup 10 mg/ml. Dosis anak peroral pada hari pertama 4 mg/kgBB/hari, selanjutnya 2 mg/kgBB/hari (Kemenkes, 2011).

c. Kloramfenikol

Kloramfenikol aktif terhadap sejumlah organisme gram positif dan gram negatif, tetapi karena toksisitasnya penggunaan obat ini dibatasi hanya untuk mengobati infeksi yang mengancam kehidupan dan tidak ada alternatif lain (Kemenkes, 2011).

Kloramfenikol adalah antibiotik berspektrum luas, menghambat bakteri Gram-positif dan negatif aerob dan anaerob, Klamidia, Rickettsia, dan Mikoplasma. Kloramfenikol mencegah sintesis protein dengan berikatan pada subunit ribosom 50S. Efek samping yang ditimbulkan adalah supresi sumsum tulang, *grey baby syndrome*, neuritis optik pada anak, pertumbuhan kandida di saluran cerna, dan timbulnya ruam (Kemenkes, 2011).

d. Makrolida

Makrolida aktif terhadap bakteri Gram-positif, tetapi juga dapat menghambat beberapa *Enterococcus* dan basil Gram-positif. Sebagian besar Gram-negatif aerob resisten terhadap makrolida, namun azitromisin dapat menghambat *Salmonella*. Azitromisin dan klaritromisin dapat menghambat *H. influenzae*, tapi azitromisin mempunyai aktivitas terbesar. Keduanya juga aktif terhadap *H. Pylori*, sehingga menghambat langkah translokasi sintesis protein (Kemenkes, 2011).

e. Klindamisin

Klindamisin menghambat sebagian besar kokus Gram-positif dan sebagian besar bakteri anaerob, tetapi tidak bisa menghambat bakteri Gram-negatif

aerob seperti *Haemophilus*, *Mycoplasma* dan *Chlamydia* (Kemenkes, 2011).

2.7.1.3 Obat Antimetabolit yang menghambat enzim-enzim esensial dalam metabolisme folat

a. Sulfonamida dan Trimetoprim

Trimetoprim dalam kombinasi dengan sulfametoksazol, mampu menghambat sebagian besar patogen saluran kemih, kecuali *P.aeruginosa* dan *Neisseria sp.* Kombinasi ini menghambat *S.aureus*, *Staphylococcus koagulase* negatif, *Streptococcus hemoliticus*, *H. influenzae*, *Neisseria sp.*, bakteri Gram negatif aerob *Enterobacter*, *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, *P. Carinii* (Tjay & Rahadja, 2010).

2.7.1.4 Obat yang mempengaruhi sintesis atau metabolisme asam nukleat

a. Asam nalidiksat

Asam nalidiksat menghambat sebagian besar *Enterobacteriaceae*.

b. Fluorokuinolon

Golongan fluorokuinolon meliputi norfloksasin, siprofloksasin, ofloksasin, moksifloksasin, pefloksasin, levofloksasin, dan lain-lain. Fluorokuinolon bisa digunakan untuk infeksi yang disebabkan oleh *Gonokokus*, *Shigella*, *E. coli*, *Salmonella*, *Haemophilus*, *Moraxella catarrhalis* serta *Enterobacteriaceae* dan *P. Aeruginosa* (Kemenkes, 2011).

2.7.2 Uji Aktivitas Antibakteri

Mikroorganisme dapat menyebabkan infeksi, menimbulkan penyakit dan merusak bahan pangan. Senyawa antimikroba adalah zat yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme dan dapat digunakan untuk penelitian pengobatan infeksi pada manusia maupun hewan. Antimikroba meliputi antifungi, antibakteri, antiprotozoa dan antivirus (Rahmadani, 2015).

Antibakteri diartikan sebagai bahan yang dapat mengganggu pertumbuhan dan metabolisme bakteri sehingga dapat memiliki sifat menghambat

perkembangbiakan bakteri (bakteriostatik) atau sifat mematikan bakteri (bakterisidal) dalam menghentikan aktivitas sel bakteri (Rahmadani, 2015).

Aktivitas antimikroba dapat ditentukan dengan dua cara yaitu metode difusi dan dilusi. Pada metode difusi termasuk di dalamnya metode *disk diffusion* (Kirby & Bauer), *ditch-plate technique*, *cup-plate technique*. Sedangkan pada metode dilusi termasuk di dalamnya metode dilusi cair dan dilusi padat (Aziz, 2010).

2.7.2.1 Metode Dilusi

a. Metode dilusi cair

Metode ini mengukur KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bakterisidal Minimum). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji (Niswah, 2014).

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 (Niswah, 2014).

2.7.2.2 Metode Difusi

a. Cara Kirby Bauer (Kertas Cakram)

Metode difusi cakram merupakan cara yang paling sering digunakan untuk menentukan kepekaan antibakteri terhadap suatu antibiotik. Pada cara ini digunakan suatu cakram kertas saring (*paper disk*) yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antimikroba. Kertas saring tersebut kemudian diletakkan pada lempeng agar yang telah diinokulasi mikroba uji, kemudian diinkubasi pada waktu tertentu dan suhu tertentu, sesuai dengan kondisi optimum dari mikroba uji. Pada umumnya, hasil yang di dapat bisa diamati setelah inkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37°C. Hasil

pengamatan yang diperoleh berupa ada atau tidaknya daerah bening yang terbentuk di sekeliling kertas cakram yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri (Maradona, 2013).

b Cara Parit (*Ditch-plate technique*).

Pada metode ini lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji dibuat sebidang parit. Parit tersebut berisi zat antimikroba, kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu optimum yang sesuai untuk mikroba uji. Hasil pengamatan yang diperoleh berupa ada tidaknya zona hambat yang akan terbentuk di sekitar parit (Rahmawati, 2015).

c Cara Sumuran (*Hole/Cup-plate technique*).

Metode ini lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji dibuat suatu lubang yang selanjutnya diisi dengan zat antimikroba uji. Setelah diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan mikroba uji, dilakukan pengamatan dengan melihat ada atau tidaknya zona hambatan di sekeliling lubang (Rahmawati, 2015).

d Metode *E-test* (epsilometer)

Metode gabungan antara metode dilusi dan metode difusi antibakteri ke dalam media. Metode ini dilakukan dengan menggunakan strip plastik yang sudah mengandung agen antibakteri dengan konsentrasi terendah sampai tertinggi yang diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganismenya. Hambatan pertumbuhan mikroorganismenya bisa diamati dengan adanya area jernih di sekitar strip tersebut (Rahmawati, 2015).

2.8 Medium

2.8.1 Macam – Macam Media

2.8.1.1 Berdasarkan Bentuknya

a Media padat

Media padat merupakan media yang mengandung banyak agar atau zat pematik kurang lebih 15% agar sehingga media menjadi padat. Media ini

dapat dibedakan menjadi tiga jenis menurut bentuk dan wadahnya yaitu, media tegak, media miring, dan media lempeng. Media tegak menggunakan tabung reaksi yang ditegakkan sebagai wadahnya, media miring menggunakan tabung reaksi yang dimiringkan, sedangkan media lempeng menggunakan *petridish (plate)* sebagai wadahnya. Media ini umumnya digunakan untuk pertumbuhan koloni bakteri atau kapang. Kalau ke dalam media ditambahkan antara 10-15 gram tepung agar-agar per 1000 ml media. Jumlah tepung agar-agar yang ditambahkan tergantung kepada jenis atau kelompok mikroba yang dipelihara. Kalau ke dalam media tidak ditambahkan zat pematat, umumnya dipergunakan untuk pembiakkan mikroalga tetapi juga mikroba lain, terutama bakteri dan ragi. Ada yang memerlukan kadar air tinggi sehingga jumlah tepung agar-agar rendah. Tetapi ada pula yang memerlukan kandungan air rendah sehingga penambahan tepung agar-agar harus sedikit. Media padat umumnya dipergunakan untuk bakteri, ragi, jamur dan kadang-kadang juga mikroalga (Rahmawati, 2015).

b Media semi padat

Media semi padat atau semi cair merupakan media yang mengandung agar kurang dari yang seharusnya kurang lebih 0,3% - 0,4% sehingga media menjadi kenyal, tidak padat dan tidak begitu cair. Umumnya digunakan untuk pertumbuhan mikroba yang banyak memerlukan air dan hidup anerobik dan untuk melihat pergerakan mikroba. Kalau penambahan zat pematat hanya 50% atau kurang dari yang seharusnya. Ini umumnya diperlukan untuk pertumbuhan mikroba yang banyak memerlukan kandungan air dan hidup *anaerobic* atau fakultatif (Rahmawati, 2015).

c Media cair

Media cair merupakan media yang tidak ditambahi bahan pematat, umumnya digunakan untuk pertumbuhan mikroalga. Kalau ke dalam media tidak ditambahkan zat pematat, umumnya dipergunakan untuk

pembiakkan mikroalge tetapi juga mikroba lain, terutama bakteri dan ragi (Rahmawati, 2015).

2.8.1.2 Berdasarkan Komposisi/ Susunannya

a. Media alami/ non – sintesis

Media alami/non sintetis merupakan media yang disusun dari bahan-bahan alami dimana komposisinya yang tidak dapat diketahui secara pasti dan biasanya langsung diekstrak dari bahan dasarnya seperti: kentang, tepung, daging, telur, ikan sayur, dsb. Contohnya: *Tomato juice agar* (Rahmawati, 2015).

b. Media semi sintesis

Media semi sintesis merupakan media yang disusun dari bahan-bahan alami dan bahan-bahan sintesis. Contohnya: Kaldu nutrisi disusun dari : Pepton 10,0 g, Ekstrak daging 10,0 g, NaCl 5,0 g, dan Aquadest 1000 ml (Rahmawati, 2015).

c. Media sintesis

Media sintesis, yaitu media yang disusun dari senyawa kimia yang jenis dan takarannya diketahui secara pasti. Contohnya : *Mac Conkey Agar* (Rahmawati, 2015).

2.8.2 Media yang sering digunakan secara umum dalam mikrobiologi

a *Lactose Broth*

Lactose broth digunakan sebagai media untuk mendeteksi kehadiran koliform dalam air, makanan, dan produk susu, sebagai kaldu pemer kaya (*pre-enrichment broth*) untuk *Salmonellae* dan dalam mempelajari fermentasi laktosa oleh bakteri pada umumnya. Pepton dan ekstrak *beef* menyediakan nutrisi esensial untuk memetabolisme bakteri. Laktosa menyediakan sumber karbohidrat yang dapat difermentasi untuk organisme *koliform* (Rahmawati, 2015).

b EMBA (*Eosin Methylene Blue Agar*)

Media *Eosin Methylene Blue* mempunyai keistimewaan mengandung laktosa dan berfungsi untuk memilah mikroba yang memfermentasikan laktosa seperti *S. aureus*, *P. aeruginosa*, dan *Salmonella*. Mikroba yang memfermentasi laktosa menghasilkan koloni dengan inti berwarna gelap dengan kilap logam. Sedangkan mikroba lain yang dapat tumbuh koloninya tidak berwarna (Rahmawati, 2015).

c *Nutrient Agar*

Nutrien agar adalah medium umum untuk uji air dan produk dairy. NA juga digunakan untuk pertumbuhan mayoritas dari mikroorganisme yang tidak selektif, dalam artian mikroorganisme heterotrof. Media ini merupakan media sederhana yang dibuat dari ekstrak beef, pepton, dan agar. Na merupakan salah satu media yang umum digunakan dalam prosedur bakteriologi seperti uji biasa dari air, sewage, produk pangan, untuk membawa stok kultur, untuk pertumbuhan sampel pada uji bakteri, dan untuk mengisolasi organisme dalam kultur murni (Rahmawati, 2015).

d *Nutrient Broth*

Nutrient broth merupakan media untuk mikroorganisme yang berbentuk cair. Intinya sama dengan nutrient agar (Rahmawati, 2015).

e MRSA (*deMann Rogosa Sharpe Agar*)

MRSA merupakan media yang diperkenalkan oleh *De Mann, Rogosa*, dan *Shape* (1960) untuk memperkaya, menumbuhkan, dan mengisolasi jenis *Lactobacillus* dari seluruh jenis bahan. MRS agar mengandung polysorbat, asetat, magnesium, dan mangan yang diketahui untuk beraksi/bertindak sebagai faktor pertumbuhan bagi *Lactobacillus*, sebaik nutrien diperkaya (Rahmawati, 2015).

f TSB (*Trypticase Soy Broth*)

TSB adalah media broth diperkaya untuk tujuan umum, untuk isolasi, dan penumbuhan bermacam mikroorganisme. Media ini banyak digunakan untuk isolasi bakteri dari spesimen laboratorium dan akan mendukung pertumbuhan mayoritas bakteri patogen. Media TSB mengandung kasein dan pepton kedelai yang menyediakan asam amino dan substansi nitrogen lainnya yang membuatnya menjadi media bernutrisi untuk bermacam mikroorganisme (Rahmawati, 2015).

g PCA (*Plate Count Agar*)

PCA digunakan sebagai medium untuk mikroba aerobik dengan inokulasi di atas permukaan. Media PCA ini baik untuk pertumbuhan total mikroba (semua jenis mikroba) karena di dalamnya mengandung komposisi casein enzymic hydrolysate yang menyediakan asam amino dan substansi nitrogen kompleks lainnya serta ekstrak yeast mensuplai vitamin B kompleks (Rahmawati, 2015).

h PDA (*Potato Dextrose Agar*)

PDA digunakan untuk menumbuhkan atau mengidentifikasi yeast dan kapang. Dapat juga digunakan untuk enumerasi yeast dan kapang dalam suatu sampel atau produk makanan. PDA cocok untuk pertumbuhan jamur. PDA mengandung sumber karbohidrat dalam jumlah cukup yaitu terdiri dari 20% ekstrak kentang dan 2% glukosa sehingga baik untuk pertumbuhan kapang dan khamir tetapi kurang baik untuk pertumbuhan bakteri (Rahmawati, 2015).

2.8.3 Jenis – Jenis Media

a Media Basal (media dasar)

Media Basal (media dasar) adalah media yang digunakan sebagai bahan dasar untuk membuat media lain yang lebih kompleks. Media ini dapat mendukung pertumbuhan hampir semua jenis mikrobia, contohnya adalah *nutrient broth*, *kaldu pepton*, dsb. (Rahmawati, 2015).

b *Media Diferensial*

Media diferensial adalah media yang bila ditumbuhi oleh mikroba yang berbeda, mikroba tersebut akan tumbuh dengan ciri khusus sehingga dapat dibedakan. Contohnya: *Media Triple Sugar Iron Agar (TSIA)*, *Media Sulfid Indol Motility (SIM)*, dsb. Dan *media differensial* merupakan media yang ditambahkan bahan-bahan kimia atau reagensia tertentu yang menyebabkan mikroba yang tumbuh memperlihatkan perubahan-perubahan spesifik sehingga dapat dibedakan dengan jenis lainnya (Rahmawati, 2015).

c *Media Selektif*

Media selektif adalah media yang memungkinkan suatu jenis mikroba tumbuh dengan pesat, sementara jenis mikroba yang lain terhambat. Contohnya: *Media Salmonella Shigella Agar (SSA)*, *Thiosulphate Citrate Bile Salt (TCBS)*, dsb. Dan media selektif, merupakan media yang ditambahkan bahan-bahan tertentu yang akan menghambat pertumbuhan mikroba yang tidak diinginkan yang ada dalam suatu spesimen. Inhibitor yang digunakan berupa antibiotik, garamk dan bahan-bahan kimia lainnya (Rahmawati, 2015).

d *Media diperkaya (enrichment)*

Media diperkaya (*enrichment*) adalah media yang dirancang untuk mendukung pertumbuhan mikroorganisme. Media tersebut memiliki konstituen nutrisi yang mendorong pertumbuhan mikroba tertentu. Contohnya: kaldu selenit, atau kaldu tetrionat untuk memisahkan bakteri *Salmonella thyposa* dari tinja. Dan Media diperkaya (*enrichment media*), media yang ditambahkan bahan-bahan tertentu untuk menstimulasi pertumbuhan mikroba yang diinginkan. Hal ini dilakukan untuk menstimulasi pertumbuhan mikroba yang jumlahnya sedikit dalam suatu campuran berbagai mikroba contoh *Chocolate media* dan *Yeast-Extract-poptasium Nitrat Agar* (Rahmawati, 2015).

e Pengkayaan

Media pengkayaan adalah media ini umumnya mengandung bahan-bahan tertentu yang di satu pihak dapat menghambat pertumbuhan bakteri tertentu, tetapi di lain pihak sebaliknya dapat menunjang pertumbuhan bakteri tertentu lainnya. misalnya media *muller-kauffman* mengandung natrium tetrasetat yang menunjang pertumbuhan salmonella tetapi menghambat pertumbuhan *Escherichia* (Rahmawati, 2015).

f Media Uji (Identifikasi)

Media uji adalah media yang digunakan untuk identifikasi mikroba, medium *litmus milk*. umumnya ditambah dengan substansi tertentu yang menjadi indikator (Rahmawati, 2015).

g Medium Umum

Medium umum, media yang ditambahkan bahan-bahan yang bertujuan menstimulasi pertumbuhan mikroba secara umum. Contoh *Nutrien Agar* (NA) untuk menstimulasi pertumbuhan bakteri, *Potato Dextrose Agar* (PDA) untuk menstimulir pertumbuhan fungi (Rahmawati, 2015).

h Medium Khusus (Sfesifik)

Medium khusus (spesifik), merupakan medium untuk menentukan tipe pertumbuhan mikroba dan kemampuannya untuk mengadakan perubahan-perubahan kimia tertentu misalnya, medium tetes tebu untuk *Saccharomyces cerevisiae* (Rahmawati, 2015).

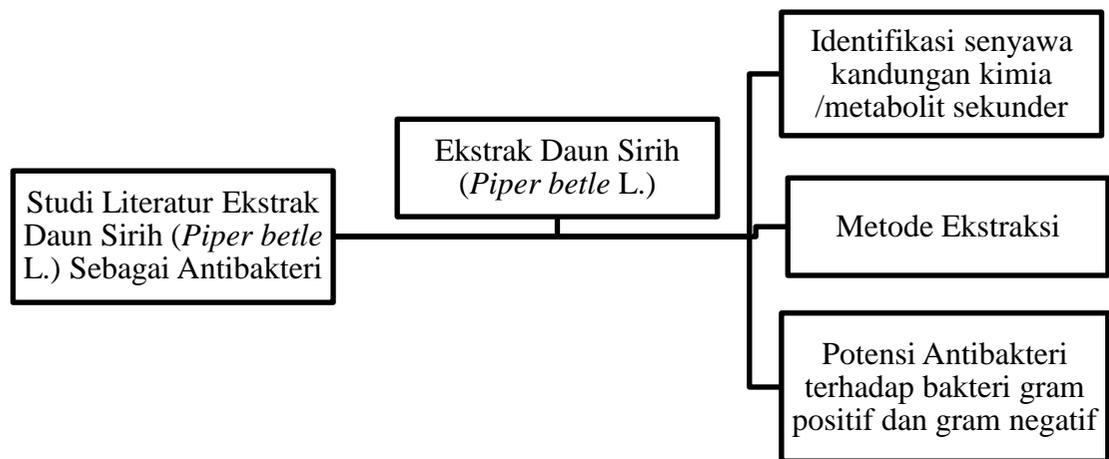
i Medium Penguji (Assay Medium)

Medium penguji (*Assay medium*), yaitu medium dengan susunan tertentu yang digunakan untuk pengujian senyawa-senyawa tertentu dengan bantuan bakteri misalnya medium untuk menguji vitamin-vitamin, antibiotika dan lain-lain (Rahmawati, 2015).

j Medium Perhitungan Jumlah Mikroba

Medium perhitungan jumlah mikroba yaitu medium spesifik yang digunakan untuk menghitung jumlah mikroba dalam suatu bahan, misalnya medium untuk menghitung jumlah bakteri *E. coli* air sumur (Rahmawati, 2015).

2.9 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 2.2 Kerangka Konsep Penelitian