

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tumbuhan Sirsak (*Annona muricata* L.)

2.1.1. Taksonomi Tanaman Sirsak (Primasari et al., 2018)

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Superdivisi	: <i>Spermatophyta</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Subkelas	: <i>Magnoliidae</i>
Ordo	: <i>Magnoliales</i>
Famili	: <i>Annonaceae</i>
Genus	: <i>Annona</i>
Species	: <i>Annona muricata</i>



Gambar 2.1 Daun sirsak (Kurniasih *et al.*, 2015)

2.1.2. Morfologi Tumbuhan Sirsak

Daun sirsak berbentuk bulat dan panjang, dengan bentuk daun menyirip dengan ujung daun meruncing, permukaan daun mengkilap, serta berwarna hijau muda sampai hijau tua. Mahkota bunga yang berjumlah 6 sepalum yang terdiri dari dua lingkaran, bentuknya hampir segitiga, tebal, dan kaku, berwarna kuning keputih-putihan, dan setelah tua mekar dan lepas dari dasar bunganya. Bunga umumnya keluar dari ketiak daun, cabang, ranting, atau pohon bentuknya sempurna (hermaprodit) (Sunarjono, 2005).

2.1.3. Khasiat tanaman sirsak

Daun Sirsak secara empiris digunakan masyarakat sebagai antikanker, antidiabetes, antihipertensi, antiinflamasi (Gajalakshmi et al., 2012). Daun sirsak juga bisa digunakan sebagai obat rematik. Daun sirsak sebagai obat rematik dengan cara menyiapkan daun sirsak yang tidak terlalu muda kemudian ditumbuk dan ditempelkan pada bagian yang sakit (Rengga & Eko, 2013). Tanaman sirsak (*Annona muricata L.*) memiliki beberapa khasiat, diantaranya adalah diabetes, anti-inflamansi, antikanker, anti-herpes, antihipertensi, antimikroba, antioksidan (Kedari & Khan, 2014).

2.1.4. Kandungan kimia

Berdasarkan hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun sirsak yang dilakukan oleh Hasmila *et al.*, (2019) didapatkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak mengandung Steroid, terpenoid, alkaloid, flavonoid, Fenol, saponin, Sedangkan hasil skrining fitokimia daun sirsak yang dilakukan oleh Ojezele *et al.*, (2016) menunjukkan bahwa ekstrak air dan etanol daun sirsak mengandung alkaloid, flavonoid, tannin, terpenoid, saponin, steroid, antraquinon, dan glikosida.

2.1.4.1. Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa pigmen alami yang mempunyai warna kuning hingga tidak berwarna, dapat larut dalam air serta tahan terhadap panas. Menurut Retnowati *et al.*, (2011) flavonoid sering disintesis oleh tanaman dalam responnya terhadap infeksi mikroba. Mekanisme terhadap antibakteri yaitu dengan membentuk kompleks dengan protein ekstrak seluler dan terlarut dan dengan dinding mikroba. Kemungkinan lain adalah flavonoid berperan secara langsung dengan mengganggu fungsi sel mikroorganisme dan penghambatan siklus sel mikroba.

2.1.4.2. Tanin

Tanin mampu menghambat bakteri dengan cara menargetkan polipeptida pada dinding sel sehingga pembentukan dinding sel pada bakteri menjadi kurang sempurna. Karena pembentukan dinding sel pada bakteri kurang sempurna sehingga menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati (Fahriya & Shofi, 2011). Hal ini terjadi karena tanin memiliki target pada dinding polipeptida dinding sel bakteri sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna dan kemudian sel bakteri akan mati. Tanin juga memiliki kemampuan untuk menginaktifkan enzim bakteri serta mengganggu jalannya protein pada lapisan dalam sel (Ngajow *et al.*, 2013).

2.1.4.3. Fenol

Mekanisme penghambatan senyawa fenolat pada mikroorganisme dikarenakan oleh gangguan pada membran sel dan sintesis komponen struktural bakteri. Aktivitas antimikroba dari senyawa fenolik terkait dengan inaktivasi enzim seluler atau disebabkan oleh perubahan permeabilitas membran. Permeabilitas membran yang meningkat merupakan faktor utama dalam mekanisme antimikroba, dimana senyawa dapat mengganggu membran dan menyebabkan kematian sel (Pratiwi *et al.*, 2017).

2.1.4.4. Saponin

Saponin yang merupakan produk glikosida alam. Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar. Senyawa ini berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan, lalu mengikat membran sitoplasma dan mengganggu dan mengurangi kestabilan itu. Hal ini menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel (Nuria & Faizatun, 2009).

2.1.4.5. Alkaloid

Alkaloid adalah basa organik yang mengandung amina sekunder, tersier, atau siklik. Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibiotik dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri (Fahriya & Shofi, 2011). 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 (Trisunuwati & Setyowati, 2017)

2.1.4.6. Steroid

Mekanisme kerja steroid sebagai antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri berhubungan dengan membrane lipid dan sensitivitasnya terhadap komponen steroid yang menyebabkan kebocoran pada liposom bakteri. Steroid dapat berinteraksi dengan membrane fosfolipid sel yang bersifat permeable terhadap senyawa-senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membrane menurun serta morfologi membrane sel berubah menyebabkan sel rapuh dan lisis (Madduluri *et al.*, 2013).

2.1.4.7. Antraquinon

Antraquinon merupakan golongan dari senyawa glikosida termasuk turunan kuinon. Antraquinon merupakan senyawa kristal bertitik leleh tinggi, dan larut dalam pelarut organik dan basa. Antraquinon mudah terhidrolisis (Sitrait, 2007).

2.1.4.8. Terpenoid

Senyawa terpenoid ini adalah salah satu senyawa kimia bahan alam yang banyak digunakan sebagai obat. Terpenoid umumnya larut dalam lemak dan terdapat dalam sitoplasma sel tumbuhan (Ramadani, 2016).

2.1.4.9. Glikosida

Senyawa glikosida memiliki sifat aqua yang signifikan sehingga memudahkan perjalanannya dalam sistem metabolisme karena sel manusia mengandung 42 liter air dan 3 liter di antaranya merupakan pelarut substansial untuk darah. Sifat ini akan mempercepat perjalanan suatu molekul untuk mencapai reseptor maupun untuk eliminasi. Senyawa glikosida yang memiliki dua kutub berlawanan yaitu polar dan nol-polar namun secara total memiliki sifat polaritas yang tinggi. Dengan demikian molekul glikosida berpotensi sebagai bahan farmasi terutama obat jika ditinjau dari kinetika dalam sistem metabolisme (Rijai, 2016).

2.2. Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain berupa bahan yang telah dikeringkan. Berdasarkan asalnya, simplisia dibedakan menjadi 3 (tiga), yaitu: (Ningsih, 2016).

2.2.1. Simplisia nabati

Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman (yaitu isis sel yang keluar secara spontan dari tanaman atau dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya atau zat-zat nabati lain yang dipisahkan dari tanamannya secara tertentu) (Ningsih, 2016).

2.2.2. Simplisia hewani

Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni (Ningsih, 2016).

2.2.3. Simplisia pelikan atau mineral

Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Ningsih, 2016).

2.3. Cara pembuatan simplisia

2.3.1. Sortasi basah

Sortasi basah bertujuan untuk memisahkan kotoran atau bahan asing serta bagian tanaman lain yang tidak diinginkan dari bahan simplisia. Sortasi basah harus dilakukan secara teliti dan cermat. Kegiatan sortasi basah dapat juga dilakukan secara bersamaan dengan pencucian dan penirisan. Pada saat pencucian, bahan dibolak-balik untuk memisahkan kotoran yang menempel atau terikut dalam bahan (Ningsih, 2016)

2.3.2. Pencucian

Pencucian dilakukan untuk menghilangkan tanah dan kotoran lain yang melekat pada bahan simplisia. Proses ini dilakukan dengan menggunakan air bersih (standar air minum), air dari sumber mata air, air sumur, atau air PDAM. Khusus untuk bahan yang mengandung senyawa aktif yang mudah larut dalam air, pencucian dilakukan secepat mungkin (tidak direndam). Pencucian dilakukan secara cermat terutama untuk bahan simplisia yang berada di dalam tanah atau dekat dengan permukaan tanah, misalnya rimpang, umbi, akar, dan batang yang merambat, serta daun yang melekat/dekat dengan permukaan tanah. Pencucian sebaiknya dilakukan dengan menggunakan air mengalir agar kotoran yang terlepas tidak menempel kembali (Ningsih,2016).

2.3.3. Penirisan

Setelah bahan dicuci bersih, dilakukan penirisan pada rak-rak yang telah diatur sedemikian rupa untuk mencegah pembusukan atau bertambahnya kandungan air. Proses penirisan bertujuan untuk mengurangi atau menghilangkan kandungan air di permukaan bahan dan dilakukan sesegera mungkin setelah pencucian (Ningsih,2016)

2.3.4. Pengerinan

Pengerinan bertujuan untuk mengurangi kadar air agar bahan simplisia tidak rusak dan dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama, mencegah pertumbuhan kapang, jamur, dan jasad renik lain. Proses pengerinan ada 2 (dua) macam, yaitu:

a. Pengeringan buatan menggunakan oven, uap panas, atau alat pengering lainnya

Suhu pengeringan tergantung pada bahan simplisia dan cara pengeringan. Bahan simplisia umumnya dapat dikeringkan pada suhu ≤ 60 °C. Bahan simplisia yang mengandung senyawa aktif mudah menguap dan tidak tahan panas (termolabil) sebaiknya dikeringkan pada suhu rendah, yaitu antara 30-40 °C selama waktu tertentu. Kelembapan akan menurun selama berlangsungnya proses pengeringan (Ningsih, 2016).

Pada umumnya proses pengeringan buatan akan menghasilkan simplisia dengan mutu yang lebih baik karena pengeringannya lebih merata dalam waktu relatif cepat, dan tidak dipengaruhi kondisi cuaca. Selain itu, proses pengeringan dapat dipersingkat menjadi hanya beberapa jam asalkan senyawa aktifnya stabil, dan kadar air bahan dapat diturunkan serendah mungkin sesuai dengan yang diinginkan (Ningsih, 2016).

b. Pengeringan secara alamiah

1. Panas sinar matahari langsung

Cara ini dilakukan untuk mengeringkan bagian tanaman yang relatif keras, seperti kayu, kulit kayu, biji, dan bahan tanaman yang mengandung senyawa aktif yang relatif stabil. Kelebihan dari proses pengeringan ini adalah mudah dan murah. Sedangkan kelemahannya adalah kecepatan pengeringannya sangat tergantung pada kondisi cuaca (Ningsih, 2016).

2. Dengan diangin-anginkan

Proses pengeringan ini dilakukan untuk mengeringkan bahan tanaman yang lunak seperti bunga, daun, dan bagian tanaman yang mengandung senyawa aktif mudah menguap (Ningsih, 2016).

2.3.5. Sortasi Kering

Prinsip kegiatan sortasi kering sama dengan sortasi basah, namun dilakukan terhadap simplisia sebelum dikemas. Sortasi kering bertujuan untuk memisahkan bahan-bahan asing dan simplisia yang belum kering benar. Kegiatan ini dilakukan untuk menjamin bahwa simplisia benar-benar bebas

dari bahan asing. Kegiatan ini dilakukan secara manual. Simplisia yang telah bersih dari bahan asing terkadang untuk tujuan tertentu (misalnya untuk memenuhi standar mutu tertentu) masih diperlukan grading atau pemisahan menurut ukuran, sehingga diperoleh simplisia dengan ukuran seragam (Ningsih, 2016).

2.3.6. Penyimpanan

Tujuan penyimpanan adalah agar simplisia tetap tersedia setiap saat bila diperlukan dan sebagai stok bila hasil panen melebihi kebutuhan. Proses ini merupakan upaya untuk mempertahankan kualitas fisik dan kestabilan kandungan senyawa aktif, sehingga tetap memenuhi persyaratan mutu yang ditetapkan (Ningsih, 2016).

2.4. Ekstraksi

2.4.1. Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan yang didasarkan pada perpindahan massa komponen kimia yang terdapat dalam sampel bahan alam ke dalam pelarut. Tujuan utama dari metode ekstraksi ini didasarkan pada distribusi zat terlarut ke dalam pelarutnya (Ilyas, 2013). Teknik pemisahan senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam suatu bahan alam merupakan isolasi yang mana pada isolasi senyawa bahan alam terdiri dari beberapa tahapan yang dimulai dari ekstraksi. Hasil ekstraksi ini disebut dengan ekstrak, beberapa metode ekstraksi senyawa organik bahan alam yang umum digunakan antara lain maserasi, perkolasi, soxhletasi dan lain-lain. Namun, metode ekstraksi bahan alam yang paling sederhana adalah metode maserasi (Ilyas, 2013).

1. Cara dingin

a. Maserasi

Maserasi adalah proses pengestrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang terus menerus. Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya (Dasuki, 2010).

b. Perkolasi

Perkolasi adalah cara penyarian dengan mengalirkan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Prinsip ekstraksi dengan perkolasi adalah serbuk simplisia ditempatkan dalam suatu bejana silinder, yang bagian bawahnya diberi sekat berpori, cairan penyari dialirkan dari atas ke bawah melalui serbuk tersebut, cairan penyari akan melarutkan zat aktif dalam sel sel simplisia yang dilalui sampel dalam keadaan jenuh (Dirjen POM, 2014).

2. Cara panas**a. Refluks**

Metode refluks digunakan untuk mengekstrak sampel yang relative tahan panas. Metode ini dilakukan dengan cara menggodok sampel dalam suatu pelarut yang diletakan dalam wadah dan dilengkapi dengan kondensor dengan jangka waktu lebih cepat, biasanya 3–7 jam. Kelebihan metode ini adalah waktunya lebih singkat, terjadi kontak langsung dengan pelarut secara terus menerus, dan pelarut yang digunakan lebih sedikit sehingga efektif dan efisien (Kiswando, 2017).

b. Sokletasi

Sokletasi adalah metode ekstraksi panas yang membutuhkan alat khusus yaitu soklet. Metode ini memiliki keuntungan yaitu penggunaan pelarut sedikit, waktu singkat dan menyari lebih sempurna. Pelarut pengestraksi yang digunakan adalah etanol 70 % karena sampel dalam bentuk kering, kandungan air relatif sedikit tujuannya untuk mempermudah membuka pori-pori sampel (Verawati et al., 2017).

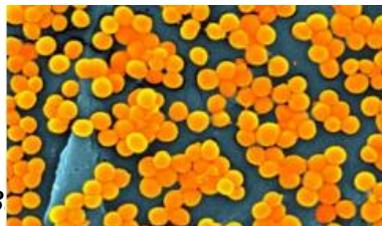
2.5. Bakteri Patogen

Bakteri patogen adalah bakteri yang dapat menyebabkan penyakit infeksi pada manusia. Beberapa bakteri bahkan dapat menyebabkan kematian. Walaupun penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri telah lama diketahui, beberapa spesies bakteri patogen baru diidentifikasi 30 tahun terakhir ini. Selain itu, banyak sekali jenis bakteri patogen yang telah lama dikenal kini bermutasi menjadi bakteri yang kebal terhadap berbagai jenis antibiotik. Sebagai contoh, *Staphylococcus aureus* telah menjelma menjadi bakteri yang kebal terhadap

berbagai jenis antibiotik sehingga membutuhkan penanganan yang serius dalam pengendaliannya. Selain bakteri gram positif dan gram negatif ada juga bakteri golongan lain seperti *Mycobacterium tuberculosis* yang menyebabkan penyakit TB (tuberculosis), *Mycobacterium leprae* menyebabkan penyakit Lepra, dan *Treponema pallidum* menyebabkan penyakit sifilis (Radji, 2009).

2.5.1. *Staphylococcus Aureus*

Bakteri *Staphylococcus* termasuk dalam famili *Micrococcaceae*. Bakteri ini berbentuk bulat. Koloni mikroskopik cenderung berrbentuk menyerupai buah anggur. Menurut bahasa yunani, *Staphyle* berarti anggur dan *coccus* berarti bulat atau bola. Salah satu spesies menghasilkan pigmen berwarna kuning emas sehingga dinamakan *aureus* (berarti emas, seperti matahari). Bakteri ini dapat tumbuh dengan atau tanpa bantuan oksigen. Infeksi *Staphylococcus Aureus* dapat terjadi dengan mekanisme diantaranya : Pelekatan pada protein sel inang, perlawanan terhadap sistem pertahanan inang, dan pelepasan beberapa jenis toksin (Radji, 2009).



Gambar 2.3 *B* (Jawetz *et al*, 2013)

Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* (Syahrurrahman *et al*, 2010).

Domain	: <i>Bacteria</i>
Kingdom	: <i>Eubacteria</i>
Ordo	: <i>Eubacteriales</i>
Family	: <i>Micrococcaceae</i>
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

2.5.2. *Escherichia Coli*

Escherichia Coli termasuk dalam family *Enterobactericeae*. Bakteri ini merupakan bakteri gram negatif, berbentuk batang pendek (kokobasil),

mempunyai flagel. *Escherichia Coli* tumbuh dengan baik hampir di semua pembenihan. Infeksi *Escherichia Coli* sering kali berupa diare yang disertai darah, kejang perut, demam, dan terkadang dapat menyebabkan gangguan pada ginjal. Infeksi *Escherichia Coli* pada beberapa penderita (Radji, 2009).

Anak-anak dibawah 5 tahun, dan orangtua dapat menimbulkan komplikasi yang disebut sindrom uremik hemolitik. Sekitar 2-7% infeksi *Escherichia Coli* menimbulkan komplikasi. Sebagian besar penyakit yang disebabkan oleh infeksi *Escherichia Coli* ditularkan melalui makanan yang tidak dimasak dan daging yang terkontaminasi. Penularan penyakit dapat terjadi melalui kontak langsung dan biasanya terjadi ditempat yang memiliki sanitasi dan lingkungan yang kurang bersih (Radji, 2009).



Gambar 2.4 Bakteri *Escherichia coli* (Mahon C *et al.*, 2015)

Klasifikasi *Escherichia Coli* Menurut Hardjoeno (2007)

Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Filum	: <i>Proterobacteria</i>
Kelas	: <i>Gamma Proteobacteria</i>
Ordo	: <i>Enterobacteriales</i>
Family	: <i>Enterobacteriales</i>
Genus	: <i>Echerichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia Coli</i>

2.5.3. *Propionibacterium Acnes*

Propionibacterium Acnes merupakan bakteri anaerob yang ditemukan pada kulit. Bakteri ini tumbuh dengan lambat dan bersifat Gram positif. Adapun patogenisitas dan gejala dari bakteri ini yaitu : Jerawat timbul karena beberapa

faktor diantaranya karena infeksi bakteri *Propionibacterium Acnes*. Jika terjadi jerawat, sel sel pada folikel rambut bersama dengan sebum akan menggumpal dan menyumbat saluran folikel rambut pada lapisan epidermis kulit sehingga membentuk komedo yang menonjol di permukaan kulit. Komedo ini akan berkembang menjadi inflamasi (*inflammatory acne*) apabila terinfeksi oleh bakteri, terutama bakteri *Propionibacterium Acnes*. Bakteri ini menggunakan gliserol dalam sebum sebagai sumber nutrisi. *Propionibacterium Acnes* membentuk asam lemak bebas dari sebum, yang menyebabkan sel-sel neutrofil menunjukkan respons untuk mengeluarkan enzim yang dapat merusak dinding folikel rambut. Keadaan ini dapat menyebabkan inflamasi sehingga timbul pustule dan papula pada kulit (Radji, 2009).



Gambar 2.5 *Propionibacterium acnes* (Jawetz et al., 2013)

Klasifikasi *Propionibacterium acnes* adalah sebagai berikut (Jawetz et al., 2013):

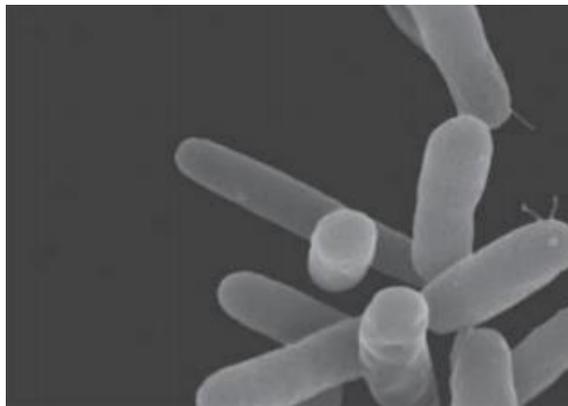
Kingdom : *Bacteria*
 Phylum : *Actinobacteria*
 Class : *Actinobacteridae*
 Ordo : *Actinomycetales*
 Family : *Propionibacteriaceae*
 Genus : *Propionibacterium*
 Species : *Propionibacterium acnes*

2.5.4. *Pseudomonas aeruginosa*

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* termasuk dalam family Pseudomonadaceae. Bakteri ini merupakan bakteri gram negatif, mempunyai flagel tunggal yang bersifat polar atau terkadang terdiri dari 2-3 flagel.

Pseudomonas aeruginosa sering kali dihubungkan dengan penyakit yang ditularkan secara nosokomial pada manusia, yaitu infeksi yang didapat di rumah sakit. Bakteri ini sering diisolasi dari penderita luka dan luka bakar yang berat.

Perjalanan penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* tentunya didahului oleh penurunan kondisi atau kekebalan tubuh penderita. Tahapan infeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yaitu melalui penempelan bakteri. Pili dan fimbria sel bakteri *Pseudomonas aeruginosa* akan menempel pada sel-sel epitel penderita. *Adhesin* bakteri akan berikatan dengan reseptor yang terdapat pada sel-sel epitel yang mengandung senyawa galaktosa, manosa, atau asam sialat. Setelah menempel pada reseptor di sel epitel, bakteri tersebut akan berkembang biak dengan pesat atau melakukan kolonisasi. *Pseudomonas aeruginosa* yang bersifat mukoid memproduksi eksopolisakarida sebagai simpai dinding sel bakteri yang dapat melindungi bakteri dari sel-sel pertahanan tubuh penderita, seperti sel limfosit, sel fagosit, dan system komplemen sehingga bakteri dapat tumbuh dengan baik (Radji, 2009).



Gambar 2.6 *Pseudomonas aeruginosa* (Soedarto, 2016)

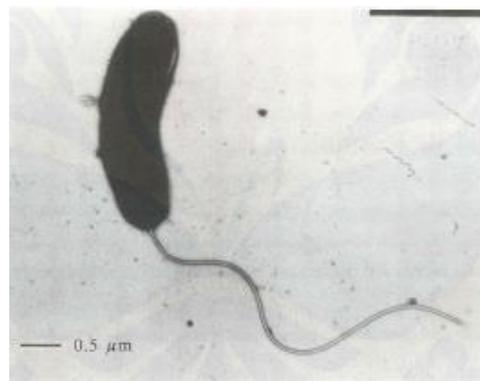
Klasifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (Soedarto, 2015)

Kingdom : *Bacteria*
 Pylum : *Proteobacter*
 Class : *Gamma Proteobacteria*
 Ordeo : *Pseudomonadales*

Family : *Pseudomonadaceae*
 Genus : *Pseudomonas*
 Species : *Pseudomonas aeruginosa*

2.5.5. *Vibrio Cholerae*

Vibrio adalah bakteri yang umum dijumpai di permukaan air di seluruh dunia. *Vibrio* dapat hidup di air laut dan di air tawar dan hidup bersama dengan binatang air. Pada tahun 1883, Robert Koch berhasil mengisolasi *Vibrio Cholerae* dari saluran cerna penderita kolera dan membuktikan bahwa spesies ini merupakan penyebab penyakit kolera. *Vibrio Cholerae* merupakan bakteri berbentuk batang bengkok seperti koma. Spesies ini tidak membentuk spora dan bergerak sangat aktif, karena memiliki flagel tunggal. *Vibrio Cholerae* merupakan bakteri gram negatif, bersifat anaerob fakultatif, dan dapat melakukan metabolisme berupa respirasi dan fermentasi. Bakteri ini bersifat patogen pada manusia dan dapat menyebabkan gangguan pencernaan.



Gambar 2.7. Bakteri *Vibrio cholera* (Efendy, 2018).

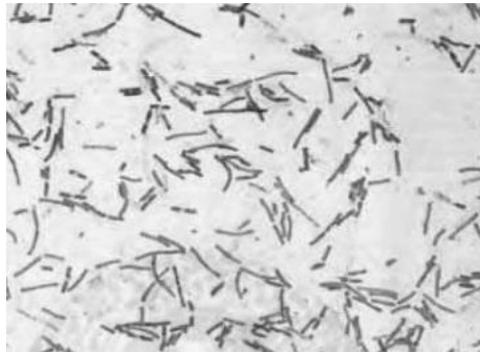
Klasifikasi bakteri *Vibrio cholera* (Efendy, 2018).

Kingdom : *Eubacteria*
 Phylum : *Proteobacteria*
 Class : *Gamma Proteobacteria*
 Ordo : *Vibrionales*

Family : *Vibrionaceas*
 Genus : *Vibrio*
 Species : *Vibrio cholera*

2.5.6. *Bacillus Subtilis*

Bacillus subtilis merupakan bakteri dari genus *Bacillus* berbentuk batang, Gram positif, menghasilkan spora, motil, indol negatif, menghasilkan asam sitrat, katalase positif dan oksidasi positif (Awais et al., 2007). Secara makroskopis koloni bakteri dapat berubah bentuk tergantung dari kondisi lingkungan seperti kondisi nutrisi dan variasi dari media. Perubahan morfologi koloni juga bergantung pada kemampuan gerakan sel yang aktif. Pertumbuhan koloni seperti cincin konsentris. Permukaan koloni pada agar berukuran kecil dengan tepi keriting. Permukaannya berbentuk granular dan kusam. Secara mikroskopis *B._subtilis* berbentuk batang dengan panjang 3-4 μ m dan memiliki lebar 0,6- 0,8 μ m. Bakteri ini mempunyai flagella sehingga bersifat motil (Wakita et al., 2001).



Gambar 2.8. *Bacillus Subtilis* (Cartwright, 2009)

Taksonomi *Bacillus subtilis* menurut (Fritze, 2004) adalah:

Kingdom : *Bacteria*
 Phylum : *Firmicute*
 Class : *Bacilli*
 Ordo : *Bacillales*

Family : *Bacillaceae*
 Genus : *Bacillus*
 Spesies : *Bacillus subtilis*

2.5.7. Streptococcus Mutans

S. mutans merupakan bakteri Gram positif, anaerob fakultatif *S. mutans* berbentuk coccus berdiameter 0,5-1 µm dengan formasi rantai, warna ungu kebiruan. *S. mutans* sangat asidogenik, yaitu menghasilkan asam. *S. mutans* juga bersifat asidourik, yaitu dapat tinggal pada lingkungan asam dan menghasilkan suatu polisakarida yang lengket yang disebut glukon (Nishimura et al., 2012).



Gambar 2.9. Streptococcus Mutans (Nishimura *et al.*, 2012).

Klasifikasi bakteri *Streptococcus Mutans* menurut (Nishimura et al., 2012).

Divisio : *Schizophyta*
 Kelas : *Schizomycetes*
 Ordo : *Enterobakteriales*
 Familia : *Streptococcaceae*
 Genus : *Streptococcus*
 Species : *Streptococcus mutans*

2.6. Antibakteri

Antibakteri merupakan zat yang dapat mengganggu pertumbuhan atau bahkan mematikan bakteri dengan cara mengganggu metabolisme mikroba yang merugikan. Mekanisme kerja antibakteri berdasarkan aktivitasnya dapat dibagi atas 2 kelompok, yaitu aktivitas bakteriostatik dan bakterisidal Suatu zat aktif

akan dikatakan memiliki potensi yang tinggi sebagai antibakteri jika pada konsentrasi rendah memiliki daya hambat yang besar. Kriteria kekuatan antibakteri diantaranya (Nazri et al., 2011).

- | | |
|----------------------------------|---------------------------|
| 1. Diameter zona hambat > 20 mm | = daya hambat sangat kuat |
| 2. Diameter zona hambat 10-20 mm | = daya hambat kuat |
| 3. Diameter zona hambat 5-10 mm | = daya hambat sedang |
| 4. Diameter zona hambat 0-5 mm | = daya hambat lemah |

2.6.1. Mekanisme kerja antibakteri

2.6.1.1. Antibakteri yang dapat menghambat sintesis dinding sel

Dinding sel bakteri sangat penting untuk mempertahankan struktur sel bakteri, oleh karena itu zat yang dapat merusak dinding sel akan melisis dinding sel sehingga dapat mempengaruhi bentuk dan struktur sel, yang pada akhirnya dapat membunuh sel bakteri tersebut (Radji, 2011)

2.6.2.2. Antibakteri yang dapat merusak membran sel

Membran sel mempunyai peranan penting dalam mengatur transportasi nutrisi dan metabolit yang dapat keluar masuk sel. Fungsi membrane sel juga sebagai tempat berlangsungnya respirasi dan aktivitas biosintesis dalam sel. Beberapa jenis antibakteri dapat mengganggu membrane sel sehingga dapat mempengaruhi kehidupan sel bakteri (Radji, 2011).

2.6.2.3. Antibakteri yang dapat mengganggu biosintesis asam nukleat

Proses replikasi DNA di dalam sel merupakan siklus yang sangat penting bagi kehidupan sel. Beberapa jenis antibakteri dapat mengganggu metabolisme asam nukleat tersebut sehingga mempengaruhi seluruh fase pertumbuhan sel bakteri (Radji, 2011).

2.6.2.4. Antibakteri yang dapat menghambat sintesis protein

Sintesis protein merupakan suatu rangkaian proses yang terdiri atas proses transkripsi (DNA di transkripsi menjadi mRNA) dan proses translasi (mRNA ditranslasi menjadi protein). Dengan demikian antibakteri dapat

menghambat proses-proses tersebut sehingga akan menghambat sintesis protein dai mikroorganisme itu sendiri (Radji, 2011).

2.7. Metode Uji Aktivitas Antibakteri

Metode difusi yang banyak digunakan diantaranya metode difusi cakram, metode gradient antimikroba (Etest), dan metode sumuran. Sedangkan, pada metode dilusi yang sering digunakan yaitu metode dilusi broth dan metode dilusi agar (Balouiri *et al.*, 2016).

2.7.1. Metode Difusi

a. Metode *disk diffusion* (kertas cakram).

Keuntungan metode kertas adalah mudah, murah, dapat menguji banyak mikroorganisme dan agen antimikroba, serta sangat mudah dalam menginterpretasikan hasil yang diperoleh. (Balouiri *et al.*, 2016). Metode *disk diffusion* dilakukan dengan menggunakan media agar yang diinokulasikan inokulum mikroorganisme uji. Kemudian kertas cakram (diameter 6 mm) yang mengandung senyawa uji dengan konsentrasi yang diinginkan diletakkan pada permukaan media agar. Cawan petri tersebut diinkubasi pada kondisi yang sesuai dan agen antimikroba akan berdifusi ke dalam agar dan menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang dapat dilihat dari zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram (Balouiri *et al.*, 2016).

b. Metode cetak lubang (metode sumuran)

Metode lubang yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasikan dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diisi dengan larutan yang akan diuji. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling lubang (Balouiri *et al.*, 2016).

c. Metode silinder gelas

Metode silinder yaitu meletakkan beberapa silinder yang terbuat dari gelas atau besi tahan karat di atas media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri. Tiap silinder ditempatkan sedemikian rupa hingga berdiri di atas media agar, diisi dengan larutan yang akan diuji dan diinkubasi. Setelah diinkubasi, pertumbuhan

bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling silinder (Balouiri *et al.*, 2016).

2.7.2. Metode Dilusi

Metode dilusi merupakan metode yang sangat cocok digunakan dalam menentukan nilai KHM, karena pada metode ini dapat diperkirakan konsentrasi senyawa antimikroba pada media agar maupun media cair. Metode dilusi secara garis besar terdiri atas metode dilusi cair dan dilusi padat (Balouiri *et al.*, 2016).

a. Metode Dilusi Cair terdiri atas metode makrodilusi dan mikrodilusi

1. Metode makrodilusi

Metode ini digunakan dalam volume yang besar dalam tabung yang menggunakan medium cair dengan volume minimum 2 mL. Lalu tabung diinokulasikan dengan inokulum yang setara dengan standar 0,5 McFarland dan diinkubasi pada kondisi yang sesuai. Kerugian metode makrodilusi dibandingkan dengan mikrodilusi adalah melelahkan, dilakukan secara manual, resiko terjadinya kesalahan pada pembuatan larutan uji, dan dibutuhkan banyak reagen serta ruang dalam melakukan metode ini (Balouiri *et al.*, 2016).

2. Metode mikrodilusi

Metode ini dapat digunakan untuk mengukur secara kualitatif dan kuantitatif aktivitas antimikroba terhadap bakteri maupun fungi. Nilai KHM dinyatakan sebagai konsentrasi terendah dari agen antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme uji (Balouiri *et al.*, 2016). Kelebihan metode mikrodilusi yaitu lebih sensitif terjadinya kesalahan dalam penyiapan larutan antimikroba pada setiap uji, dan juga dibutuhkan banyak media, reagen, dan ruang dalam pengujiannya (Balouiri *et al.*, 2016). Penentuan nilai KHM dari suatu antimikroba dapat dilakukan dengan menggunakan perangkat untuk membaca pengujian mikrodilusi dan mencatat hasil dengan baik dalam membedakan pertumbuhan mikroorganisme di dalam *well* dan dengan menggunakan reagen warna. Beberapa reagen warna yang dapat digunakan yaitu seperti reagen garam-garam tetrazolium dan resazurin (Balouiri *et al.*, 2016).

b. Metode Dilusi Padat

Metode dilusi padat dilakukan dengan berbagai konsentrasi yang diinginkan ke dalam media agar (agar cair), yang biasa menggunakan pengenceran seri berlipat ganda dan di atas permukaan media padat diinokulasikan suspensi mikroba. Hasilnya dapat dilihat dari konsentrasi terendah senyawa antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Metode ini cocok jika digunakan dengan metode Etest, khususnya dalam pengujian antibakteri gram positif dan gram negatif (Balouiri *et al.*, 2016)