

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman kencur

Kencur adalah salah satu jenis tanaman obat, dengan mempunyai nama latin yaitu (*kaempferia galangal* L). Tanaman kencur ini hidup di antara daerah dataran rendah atau juga pegunungan yang tanahnya gembur dan tidak terlalu banyak mengandung air. Tanaman kencur ini mempunyai daun lebar yang jumlahnya tidak lebih dari 5 helai daun, susunan daun saling berhadapan, tumbuhnya menggeletak daun-daunnya menempel ke permukaan tanah. Tanaman kencur ini mempunyai bunga majemuk tersusun dan jumlah tanaman kencur ini bisa mencapai sampai dengan 12 helai bunga (Andareto, 2015).

2.1.1 Klasifikasi

Berikut ini merupakan klasifikasi dari kencur (*kaempferia galangal* L):

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Subdivisi : Angiospermae
Kelas : Monocotyledoneae
Ordo : Zingiberales
Familia : Zingiberaceae
Genus : Kaempferia
Species : *Kaempferia galangal* L.

2.1.2 Nama Daerah

Kencur (Indonesia, Jawa), cikur (Sunda), ceuko (Aceh), kencor (Madura), cekuh (Bali), kencur, sukung (Minahasa), asauli, sauleh, soul, umpa (Ambon), cekir (Sumba) (Putra, 2015).

2.1.3 Kandungan Kimia

Rimpang kencur mengandung flavonoid, polifenol, minyak atsiri dan saponin (Winarto, 2007). Selain itu juga ada yang menyebutkan kandungan kencur terdiri dari minyak atsiri, alkaloid, mineral, flavonoid, pati dan gum (Hariana, 2015).

Flavonoid dapat menginhibisi situs asam nukleat, sehingga menyebabkan pertumbuhan sel bakteri terhambat, flavonoid juga bekerja secara langsung pada membran barier sel bakteri, yang menyebabkan kebocoran sel. Flavonoid pada kadar rendah, akan membentuk kompleks lemah dengan protein bakteri. Sedangkan pada kadar yang tinggi, flavonoid akan menyebabkan membran sitoplasma lisis (Wardani, 2014).

Polifenol atau senyawa phenolic merupakan senyawa antioksidan alami pada tumbuhan, dapat berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin dan asam-asam organik polifungsional (Mardiyaningsih, 2014).

Minyak atsiri memiliki sifat lipofilik dan dapat bereaksi dengan *phospholipid bilayer* membran luar bakteri, sehingga meningkatkan permeabilitasnya kemudian terjadi kebocoran sel. Minyak atsiri juga merusak membran sitoplasma sehingga terjadi kebocoran sitoplasma, dan menyebabkan terjadinya koagulasi sitoplasma (Wardani, 2014).

Alkaloid mempunyai kemampuan dalam menghambat kerja enzim untuk mensintesis protein bakteri dan dapat merusak komponen pembentukan peptidoglikan dinding sel bakteri (Wardani, 2014).

Saponin adalah suatu glikosida alamiah yang terkait dengan steroid atau triterpena. Saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan

permukaan sehingga permeabilitas membran luar akan naik, kemudian terjadi kebocoran sel. Selain itu saponin juga menyebabkan reaksi saponifikasi yaitu melisiskan struktur lemak pada bakteri (Wardani, 2014).

2.1.4 Kegunaan Kencur

Selain digunakan sebagai bahan bumbu masak, secara tradisional rimpang kencur juga digunakan untuk pengobatan batuk, keseleo, flu batuk pada bayi, sakit kepala, diare, masuk angin, menghilangkan darah kotor, memperlancar haid dan menghilangkan lelah (Andareto, 2015).

2.2 Simplisia

Simplisia adalah bahan alami yang digunakan untuk obat dan belum mengalami perubahan proses apapun dan kecuali dinyatakan lain umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia tumbuhan obat merupakan bahan baku proses pembuatan ekstrak, baik sebagai bahan obat atau produk. Berdasarkan hal tersebut maka simplisia dibagi menjadi tiga golongan yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia mineral (Melinda, 2014).

2.2.1 Jenis Simplisia

2.2.1.1 Simplisia nabati

Simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Yang dimaksud dengan eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya, atau zat-zat nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya (Melinda, 2014).

2.2.1.2 Simplisia hewani

Simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat yang berguna yang dihasilkan oleh hewan (Meilisa, 2009).

2.2.1.3 Simplisia mineral

Simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau yang telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Meilisa, 2009).

2.2.2 Proses Pembuatan Simplisia

Dasar pembuatan simplisia meliputi beberapa tahapan. Adapun tahapan tersebut dimulai dari pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, pengubahan bentuk, pengeringan, sortasi kering, pengepakan dan penyimpanan. Proses awal pembuatan ekstrak adalah tahapan pembuatan serbuk simplisia kering (penyerbukan). Dari simplisia dibuat serbuk simplisia dengan perekatan tertentu sampai derajat kehalusan tertentu. Proses ini dapat mempengaruhi mutu ekstrak dengan dasar beberapa hal yaitu makin halus serbuk simplisia proses ekstraksi makin efektif, efisien namun makin halus serbuk maka makin rumit secara teknologi peralatan untuk tahap filtrasi. Selama penggunaan peralatan penyerbukan dimana ada gerakan atau interaksi dengan benda keras (logam, dll) maka akan timbul panas (kalori) yang dapat berpengaruh pada senyawa kandungan. Namun hal ini dapat dikompersi dengan penggunaan nitrogen cair (Melinda, 2014). Untuk menghasilkan simplisia yang bermutu dan terhindar dari cemaran industri obat tradisional dalam mengelola simplisia sebagai bahan baku pada umumnya melakukan tahapan kegiatan berikut ini:

2.2.2.1 Sortasi basah

Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya dan bahan simplisia. Misalnya simplisia yang dibuat dari akar tanaman obat, bahan-bahan asing seperti tanah, kerikil, rumput, batang, daun, akar yang telah rusak, serta pengotoran lainnya harus dibuang. Tanah yang mengandung bermacam-macam mikroba dalam jumlah yang tinggi. Oleh karena itu pembersihan simplisia dan tanah

yang terikut dapat mengurangi jumlah mikroba awal (Melinda, 2014).

2.2.2.2 Pencucian

Pencucian dilakukan untuk menghilangkan tanah dan pengotor lainnya yang melekat pada bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan air bersih, misalnya air dan mata air, air sumur dan PAM. Bahan simplisia yang mengandung zat mudah larut dalam air yang mengalir, pencucian hendaknya dilakukan dalam waktu yang sesingkat mungkin (Melinda, 2014).

2.2.2.3 Perajangan

Beberapa jenis simpisia perlu mengalami perajangan bahan simplisia dilakukan untuk memperoleh proses pengeringan, pengepakan, dan penggilingan. Semakin tipis bahan yang akan dikeringkan maka semakin cepat penguapan air, sehingga mempercepat waktu pengeringan. Akan tetapi irisan yang terlalu tipis juga menyebabkan berkurangnya atau hilangnya zat yang berkhasiat yang mudah menguap, sehingga mempengaruhi komposisi, bau, rasa yang diinginkan (Melinda, 2014).

2.2.2.4 Pengeringan

Tujuannya untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lama. Dengan mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik akan dicegah penurunan mutu atau perusak simplisia. Air yang masih tersisa pada kadar tertentu dapat merupakan media pertumbuhan kapang dan jasad renik lainnya. Proses pengeringan sudah dapat menghentikan proses enzimatik dalam sel bila kadar airnya dapat mencapai kurang dari 10%. Hal-hal yang perlu diperhatikan dari proses pengeringan adalah suhu pengeringan, kelembaban udara, waktu

pengeringan dan luas permukaan bahan. Suhu yang terbaik pada pengeringan adalah tidak melebihi 60°C, tetapi bahan aktif yang tidak tahan pemanasan atau mudah menguap harus dikeringkan pada suhu serendah mungkin, misalnya 30°C sampai 45°C. Terdapat dua cara pengeringan yaitu pengeringan alamiah (dengan sinar matahari langsung atau dengan diangin-anginkan) dan pengeringan buatan dengan menggunakan instrumen (Melinda, 2014).

2.2.2.5 Sortasi kering

Sortasi setelah pengeringan sebenarnya merupakan tahap akhir pembuatan simplisia. Tujuan sortasi untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan atau pengotoran-pengotoran lainnya yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering (Melinda, 2014).

2.2.2.6 Penyimpanan

Simplisia perlu ditempatkan suatu wadah tersendiri agar tidak saling bercampur dengan simplisia lain. Untuk persyaratan wadah yang akan digunakan sebagai pembungkus simplisia adalah harus Inert, artinya tidak bereaksi dengan bahan lain, tidak beracun, mampu dilindungi bahan simplisia dan cemaran mikroba, kotoran, serangga, penguapan bahan aktif, serta dari pengaruh cahaya, oksigen dan uap air (Melinda, 2014).

2.3 Ekstraksi dan Ekstrak

2.3.1 Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan substansi dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Senyawa aktif yang terdapat dalam simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, tannin, saponin dan lain-lain. Dengan diketahuinya senyawa aktif yang terkandung dalam simplisia akan mempermudah

dalam pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Kristanti *et al.*, 2008).

2.3.2 Macam-macam Ekstraksi

Ekstraksi dapat dibedakan menjadi dua cara berdasarkan wujud bahannya yaitu :

2.3.2.1 Ekstraksi padat cair, digunakan untuk melarutkan zat yang dapat larut dari campurannya dengan zat padat yang tidak dapat larut.

2.3.2.2 Ekstraksi cair-cair, digunakan untuk memisahkan dua zat cair yang saling bercampuran dengan menggunakan pelarut dapat melarutkan salah satu zat (Muhiedin, 2008).

2.3.3 Metode Ekstraksi

Ekstraksi dengan menggunakan pelarut :

2.3.3.1 Cara Dingin

Ekstraksi cara dingin memiliki keuntungan dalam proses ekstraksi total, yaitu memperkecil kemungkinan terjadinya kerusakan pada senyawa termolabil yang terdapat pada sampel. Sebagian besar senyawa dapat terekstraksi dengan ekstraksi cara dingin, walaupun ada beberapa senyawa yang memiliki keterbatasan kelarutan terhadap pelarut pada suhu ruangan (Istiqomah, 2013).

a. Maserasi

Maserasi adalah proses pengestrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperature ruangan (kamar). Maserasi bertujuan untuk menarik zat-zat yang berkhasiat yang tahan pemanasan maupun yang tidak tahan pemanasan (Istiqomah, 2013).

Maserasi berasal dari bahasa latin "*Macerace*" bearti mengairi dan melunakkan. Maserasi merupakan cara yang paling sederhana. Dasar dari maserasi adalah melarutnya bahan kandungan simplisia dari sel yang rusak, yang terbentuk pada saat penghalusan, ekstraksi (difusi) bahan kandungan yang masih utuh. Setelah selesai waktu maserasi, artinya keseimbangan bahan yang diekstraksi pada bagian dalam sel dengan masuk kedalam cairan, telah tercapai maka proses difusi segera berakhir. Selama maserasi proses atau perendaman dilakukan pengocokan berulang-ulang. Upaya ini menjamin keseimbangan konsentrasi bahan ekstraksi yang lebih cepat didalam cairan. Sedangkan keadaan diam selama maserasi menyebabkan turunannya perpindahan bahan aktif. Secara teoritis pada suatu maserasi tidak memungkinkan terjadinya ekstraksi absolut. Semakin besar perbandingan simplisia terhadap cairan pengestraksi, akan semakin banyak hasil yang diperoleh.

Kelebihan dari metode maserasi:

- 1) Peralatan yang digunakan sangat sederhana.
- 2) Teknik pengerjaan relatif sederhana dan mudah dilakukan.
- 3) Biaya operasionalnya relatif rendah.
- 4) Dapat digunakan untuk mengestraksi senyawa yang bersifat termolabil karena maserasi dilakukan tanpa pemanasan.
- 5) Proses ekstraksi lebih hemat penyari.

Kekurangan metode maserasi:

- 1) Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memerlukan banyak waktu.

- 2) Proses penyariannya tidak sempurna, karena zat aktif hanya mampu terekstraksi sebesar 50%.
- 3) Pelarut yang digunakan cukup banyak.
- 4) Kemungkinan besar ada beberapa senyawa yang hilang saat ekstraksi.
- 5) Beberapa senyawa sulit diekstraksi pada suhu kamar (Marjoni, 2016).

b. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru dan sempurna (*Exhaustiva extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Prinsip perkolasi adalah dengan menempatkan serbuk simplisia pada suatu bejana silinder, yang bagian bawahnya diberi sekat berpori. Proses terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan (Istiqomah, 2013).

2.3.3.2 Cara Panas

a. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna (Istiqomah, 2013).

b. Sokletasi

Sokletasi adalah ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru dan pada umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga ekstraksi *kontinyu* dengan jumlah pelarut

relatif konstan dengan adanya pendinginan balik (Istiqomah, 2013).

c. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinyu) pada temperature ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperature $40^{\circ}\text{C} - 50^{\circ}\text{C}$ (Istiqomah, 2013).

d. Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperature terukur $96^{\circ}\text{C} - 98^{\circ}\text{C}$ selama waktu tertentu (15-20 menit) (Istiqomah, 2013).

e. Dekokta

Dekokta adalah infus pada waktu yang lebih lama (≥ 30 menit) dan temperature sampai titik didih air (Istiqomah, 2013).

2.3.4 Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang terisi diperlakukan sehingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Istiqomah, 2013).

Ekstrak dikelompokkan atas dasar sifatnya yaitu:

2.3.4.1 Ekstrak encer adalah sediaan yang memiliki konsistensi semacam madu dan dapat dituang.

2.3.4.2 Estrak kental adalah sediaan yang dilihat dalam keadaan dingin dan dapat dituang. Kandungan airnya berjumlah sampai 30%.

2.3.4.3 Ekstrak kering adalah sediaan yang memiliki konsistensi kering dan mudah dituang, sebaiknya memiliki kandungan lembab tidak lebih dari 5%.

2.3.4.4 Ekstrak cair, ekstrak yang dibuat sedemikiannya sehingga 1 bagian simplisia sesuai dengan 2 bagian ekstrak cair.

Proses ekstraksi dapat melalui tahap: pembuatan serbuk, pembahasan, penyarian, dan pemekatan. Sistem pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus dipilih berdasarkan kemampuannya dalam melarutkan jumlah yang maksimum dari zat aktif dan yang seminimum mungkin bagi unsur yang tidak diinginkan (Istiqomah, 2013).

2.4 Pelarut

Pelarut pada umumnya adalah zat yang berada pada larutan dalam jumlah yang besar, sedangkan zat lainnya dianggap sebagai zat terlarut. Pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi haruslah merupakan pelarut terbaik untuk zat aktif yang terdapat dalam sampel atau simplisia, sehingga zat aktif dapat dipisahkan dari simplisia dan senyawa lainnya yang ada dalam simplisia tersebut (Marjoni, 2016).

2.4.1 Etanol

Pelarut Etanol merupakan suatu cairan mudah menguap yang biasa digunakan sebagai pelarut bagi kebanyakan senyawa organik. Etanol merupakan pelarut yang bersifat semi polar, yang artinya dapat melarutkan senyawa polar maupun non polar. Itu sebabnya etanol juga bisa bercampur dengan air. Kepolaran dari etanol disebabkan adanya gugus $-OH$ yang bersifat polar, sementara gugus etil (CH_3CH_2-) merupakan gugus non polar. Dengan rantai karbon yang pendek menyebabkan etanol akan bersifat semi polar. Pelarut semi polar dapat menginduksi tingkat kepolaran molekul-molekul pelarut non polar. Etanol bertindak sebagai perantara (*intermediate solvent*) untuk mencampurkan pelarut polar dengan non polar. Etanol memiliki sifat selektivitas yang tinggi (pelarut selektif) terhadap reaksi dan sebagainya (Indraswari, 2008).

Pemilihan etanol sebagai pelarut menurut didasarkan beberapa pertimbangan diantaranya selektivitas, kelarutan, kerapatan, reaktivitas, dan titik didih. Etanol memiliki beberapa keunggulan sebagai pelarut yakni memiliki kemampuan melarutkan ekstrak yang besar, beda kerapatan yang signifikan sehingga mudah memisahkan zat yang akan dilarutkan. Etanol tidak bersifat racun, tidak eksplosif bila bercampur dengan udara, tidak korosif, dan mudah didapatkan. Etanol tidak menyebabkan pembengkakan membran sel dan memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut. Keuntungan lain, etanol mampu mengendapkan albumin dan mengiambat kerja enzim. Umumnya yang digunakan sebagai cairan pengestrasi adalah bahan pelarut yang berlainan, khususnya campuran etanol-air. Etanol sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal, dimana bahan pengganggu hanya skala kecil yang turut ke dalam cairan pengestraksi (Indraswari, 2008).

Farmakope Indonesi Edisi III menetapkan bahwa sebagai penyari adalah air, etanol, etanol-air atau eter. Etanol dipertimbangkan sebagai penyari karena lebih selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% keatas, beracun, netral, absorbsinya baik, etanol dapat berampur dengan air pada segala perbandingan dan panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit. Pilihan utama untuk pelarut pada maserasi adalah etanol karena etanol memiliki beberapa keunggulan sebagai pelarut, diantaranya:

2.4.1.1 Etanol bersifat lebih selektif.

2.4.1.2 Dapat menghambat pertumbuhan kapang dan kuman.

2.4.1.3 Bersifat *non toksik* (tidak beracun).

2.4.1.4 Etanol bersifat netral.

2.4.1.5 Memiliki daya absorpsi yang baik.

2.4.1.6 Dapat bercampur dengan air pada bebagai perbandingan.

2.4.1.7 Panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit.

2.4.1.8 Etanol dapat melarutkan berbagai zat aktif dan meminimalisir terlarutnya zat penggunaan seperti lemak.

2.4.2 Air

Air merupakan salah satu pelarut yang mudah, murah dan dipakai secara luas oleh masyarakat. Pada suhu kamar, air merupakan pelarut yang baik untuk melarutkan berbagai macam zat seperti garam-garam alkaloid, glikosida, asam tumbuh-tumbuhan, zat warna dan garam-garam mineral lainnya. Secara umum peningkatan suhu air, dapat meningkatkan kelarutan suatu zat kecuali zat-zat tertentu seperti condurangin, Ca hidrat, garam glauber dan lain-lain. Kekurangan dari air sebagai pelarut diantaranya adalah air merupakan media yang baik untuk pertumbuhan jamur dan bakteri, sehingga zat yang diekstrak dengan air tidak dapat bertahan lama. Selain itu, air dapat mengembangkan simplisia sedemikian rupa, sehingga akan menyulitkan dalam ekstraksi terutama dengan metode perkolasi (Marjoni, 2016).

2.5 Antibakteri

Antibakteri adalah zat yang dapat menghambat pertumbuhan. Dalam penggolongannya antibakteri dikenal dengan antiseptik dan antibiotik. Berbeda dengan antibiotik yang tidak merugikan sel-sel jaringan manusia, daya kerja antiseptik tidak membedakan antara mikroorganisme dan jaringan tubuh. Namun pada dosis normal praktis bersifat merangsang kulit (Tina, 2009). Antibiotik (*Anti* = lawan, *bios* = hidup) adalah zat-zat kimia yang dihasilkan oleh fungi dan bakteri, yang memiliki khasiat mematikan atau menghambat pertumbuhan kuman, sedangkan toksisitasnya bagi manusia relatif kecil. Turunan zat-zat ini yang dibuat secara semi-sintetis, juga termasuk kelompok ini, begitu pula semua senyawa sintesis dengan khasiat antibakteri (Kirana, 2010).

2.5.1 Struktur Kimia

- 2.5.1.1 Antibiotik β -laktam, yang terdiri dari dua kelompok, yaitu kelompok penisilin (amisilin, amoksisilin dan lain-lain).
- 2.5.1.2 Aminoglikosida, terdiri dari streptomisin, kanamisin, neomisin, gentamisin, tobramisin, framisetin, paromomisin.
- 2.5.1.3 Kloramfenikol, terdiri dari kloramfenikol dan tiamfenikol.
- 2.5.1.4 Tetrasiklin, terdiri dari tetrasiklin, oksitetrasiklin, doksisiklin, minoksiklin, klortetrasiklin.
- 2.5.1.5 Makroida, terdiri dari eritromisin, klindamisin, dan sinergistin.
- 2.5.1.6 Polipeptida siklik, yaitu basitrasin.
- 2.5.1.7 Antibiotik polien, terdiri dari nistatin
- 2.5.1.8 Antibiotik lain, terdiri dari griseofulvin dan vankomisin.

2.5.2 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri digunakan untuk mengukur kemampuan suatu agen antibakteri secara *in vitro* sehingga dapat menentukan potensi antibakteri dalam larutan, konsentrasinya dalam cairan tubuh atau jaringan, dan kepekaan mikroorganisme penyebab terhadap obat yang digunakan untuk pengobatan.

Uji aktivitas antibakteri dibedakan menjadi dua :

2.5.2.1 Metode Difusi

Cakram kertas yang berisi sejumlah untuk mengukur kekuatan penghambatan antibakteri terhadap bakteri uji tertentu, diletakkan pada media agar yang telah ditanami bakteri uji. Setelah inkubasi, diameter zona hambat diukur. Metode ini dipengaruhi oleh beberapa faktor fisika dan kimia, selain faktor obat dan organisme misalnya sifat medium dan kemampuan difusi, ukuran *molecular* dan stabilitas obat (Melinda, 2014).

Pembacaan hasil pada metode *Kirby-Bauer* dan modifikasinya adalah:

- a. *Zone radical* yaitu suatu daerah disekitar disk dimana sama sekali tidak ditemukan daya pertumbuhan bakteri. Potensi antibakteri diukur dengan mengukur diameter dari zona radikal (Melinda, 2014).
- b. *Zone irradical* yaitu suatu daerah disekitar disk dimana pertumbuhan bakteri dihambat oleh antibakteri, tetapi tidak dimatikan (Melinda, 2014).

Metode difusi agar merupakan uji antimikroba yang banyak digunakan hingga saat ini, metode ini telah dijelaskan oleh Bauer, Kirby, Sherris dan Truck, umumnya dikenal dengan tes Kirby-Bauer. metode ini menggunakan cakram uji untuk menyerap konsentrasi ekstrak tumbuhan yang diinginkan. Cakram tersebut kemudian diletakkan pada permukaan media agar padat yang cocok seperti *Mueller Hinton Agar*, *Tryptone Soy Agar* atau *Nutrient Agar* setelah media diinokulasi dengan mikroorganisme uji. Cakram kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C untuk bakteri dan 48 jam pada suhu 25°C untuk fungi, setelah diinkubasi diameter zona hambat yang ada disekitar cakram diukur (Das *et al.*, 2010).

2.5.2.2 Metode Dilusi

Antibakteri dibuat seri kadar konsentrasi yang menurun secara bertahap menggunakan media padat atau media cair. Selanjutnya media diinokulasi bakteri uji dan diinkubasi. Kemudian ditentukan KHM (Kadar Hambat Minimum) antibakteri tersebut (Melinda, 2014).

Metode dilusi dibedakan menjadi dua yaitu dilusi cair (*broth dilution*) dan dilusi padat (*solid dilution*).

a. Metode dilusi cair (*broth dilution*). Metode ini mengukur MIC (*minimum inhibitory concentration* atau kadar bunuh minimum, KHM). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji agen antimikroba pada kadar kecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai kadar bunuh minimum (Pratiwi, 2008).

b. Metode Dilusi padat (*solid dilution test*)

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

2.5.3 Ketentuan Daya Hambat Antibakteri

Zona hambat merupakan daerah jernih (bening) di sekitar kertas cakram yang mengandung zat antibakteri yang menunjukkan adanya sensitivitas bakteri terhadap zat antibakteri. Zona hambat tersebut digunakan sebagai dasar penentuan tingkat resistensi. Tingkat resistensi bakteri dibedakan menjadi 3, yaitu: sensitif, intermediet dan resisten. Bakteri bersifat sensitif jika terbentuk zona bening pada saat di uji dengan diameter yang kecil dan bersifat resisten jika tidak terbentuk zona hambat sama sekali pada saat dilakukan pengujian.

Menurut David dan Scout (1971) dalam Fajar (2010), menyatakan bahwa ketentuan kekuatan daya hambat antibakteri yaitu sebagai berikut:

2.5.3.1 Daerah hambatan 20 mm atau lebih termasuk sangat kuat.

2.5.3.2 Daerah hambatan 10-20 mm termasuk kategori kuat.

2.5.3.3 Daerah hambatan 5-10 mm termasuk kategori sedang.

2.5.3.4 Daerah hambatan 5 mm atau kurang termasuk kategori lemah

2.6 Bakteri

Bakteri adalah salah satu golongan prokariotik (tidak mempunyai 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 nukleoid. Pada DNA bakteri tidak mempunyai intron dan hanya tersusun atas ekson saja. Bakteri juga memiliki DNA ekstrakomosomal yang tergabung menjadi plasmid yang berbentuk kecil dan sirkuler (Yulika, 2009).

2.6.1 Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri:

2.6.1.1 Temperatur

Temperatur menentukan aktivitas enzim yang terlibat dalam aktivitas kimia. Peningkatan temperatur sebesar 10°C dapat meningkatkan aktivitas enzim sebesar dua kali lipat. Temperatur yang sangat tinggi akan menyebabkan denaturasi protein yang tidak dapat balik (*irreversible*), sedangkan pada temperatur yang sangat rendah aktivitas enzim akan terhenti (Kamila, 2014).

Berdasarkan kisaran suhu aktivitasnya bakteri dibagi menjadi golongan:

- a. Bakteri psikrofil, yaitu bakteri yang hidup pada daerah suhu antara 0 – 30°C, dengan suhu optimum 15°C.
- b. Bakteri mesofil, yaitu bakteri yang hidup di daerah suhu antara 15° – 55°C dengan suhu optimum 25° – 40°C.

- c. Bakteri termofi, yaitu bakteri yang dapat hidup didaerah suhu tinggi antara 40° – 75°C dengan suhu optimum 25° – 40°C.

2.6.1.2 pH

pH merupakan indikasi konsentrasi ion hidrogen. Peningkatan dan penurunan konsentrasi ion hidrogen dapat menyebabkan ionisasi gugus-gugus dalam protein, amino dan karboksilat. Hal ini dapat menyebabkan denaturasi protein yang mengganggu pertumbuhan sel (Pratiwi, 2008). Membagi mikroorganisme berdasarkan pH optimum untuk pertumbuhan yaitu:

- a. Asidofil yaitu mikroorganisme yang dapat tumbuh pada kisaran pH optimal 1,00 – 5,5.
- b. Neutralofil yaitu mikroorganisme yang dapat tumbuh pada kisaran pH optimal 5,5 – 8,5.
- c. Alkalifil yaitu mikroorganisme yang dapat tumbuh pada kisaran pH optimal 9,0 – 11,0 (Jawetz *et al.*, 2004).

2.6.1.3 Oksigen

Berdasarkan kebutuhan oksigen, dikenal mikroorganisme yang bersifat aerob dan anaerob. Mikroorganisme aerob memerlukan oksigen untuk pertumbuhannya sedangkan mikroorganisme anaerob tidak memerlukan oksigen untuk pertumbuhan (Pratiwi, 2008).

2.6.1.4 Nutrisi

Nutrisi merupakan substansi yang diperlukan untuk biosintesis dan pembentukan energi. Berdasarkan kebutuhannya, nutrisi dapat dibedakan menjadi dua yaitu makroelemen dan mikroelemen. Makroelemen yaitu elemen-elemen nutrisi yang diperlukan dalam jumlah banyak meliputi karbon (C), oksigen (O), hidrogen (H), nitrogen (N), sulfur (S), fosfor (P), kalium

(K), magnesium (Mg), kalsium (Ca), dan besi (Fe). Mikroelemen yaitu elemen-elemen nutrisi yang diperlukan dalam jumlah sedikit (Pratiwi, 2008).

2.6.2 Bakteri *Bacillus subtilis*

Klasifikasi *Bacillus subtilis*

Klasifikasi *Bacillus subtilis* adalah sebagai berikut :

Kingdom : Bacteria

Phylum : Firmicutes

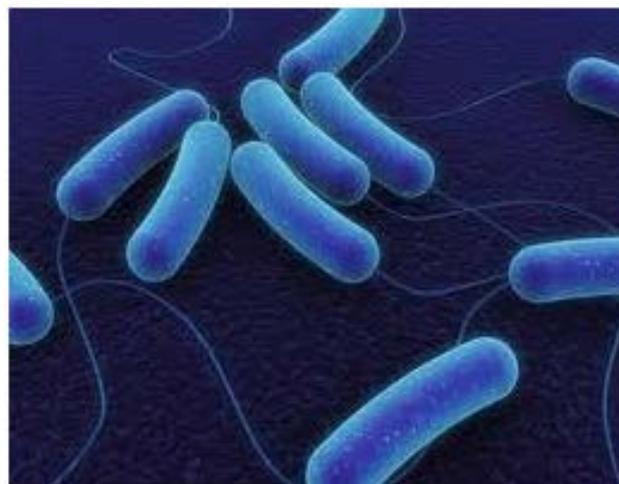
Class : Bacilli

Orde : Bacillales

Family : Bacillaceae

Genus : Bacillus

Spesies : *Bacillus subtilis* (Madigan, 2005).



Gambar 2.1 Bakteri *Bacillus subtilis* (Maulia, 2013)

Bacillus subtilis didistribusikan secara di lingkungan, khususnya di tanah, udara dan sisa tanaman busuk. *Bacillus subtilis* termasuk gram positif, berbentuk batang yang memiliki flagel peritrikus untuk bergerak dan mempunyai kemampuan menghasilkan enzim seperti amilase, protoase dan lipase. Spora yang dihasilkan bertahan pada lingkungan

ekstrim seperti suhu tinggi, alkohol, pengeringan dan lain sebagainya. Pertumbuhan biasanya terjadi pada kondisi aerob, namun dalam media kompleks yang mengandung nitrat bakteri ini dapat tumbuh pada kondisi anaerob (Melinda, 2014).

Karakteristik patogen dan virulensi pada *Bacillus subtilis* lebih rendah daripada *bacillus spp* lainnya. Namun pada kelompok yang memiliki sistem imun rendah dapat menyebabkan iritasi sinus dan mata, sakit tenggorokan, endocarditis, pneumonia, bakterimia, dan spitikia. Selain itu, *Bacillus subtilis* sering mengkontaminasi makanan dengan gejala diare dan muntah. *Bacillus subtilis* menghasilkan toksin ekstraseluler yang subtilisin. Senyawa protein ini mampu menyebabkan reaksi alergi dan hipersensitivitas pada individu yang berulang kali terkena. Antibiotik tetrasiklin dan kloramfenikol dapat digunakan untuk mengobati infeksi yang disebabkan bakteri *Bacillus subtilis*. Selain itu juga dapat menggunakan vankomisin, siprofloksasin, gentamisin, dan klindamisin dengan lama pemberian 7 – 14 hari (Melinda, 2014).

2.6.3 Bakteri *Escherichia coli*

Klasifikasi *Escherichia coli*

Klasifikasi *Escherichia coli* adalah sebagai berikut :

Kingdom : Prokaryoto

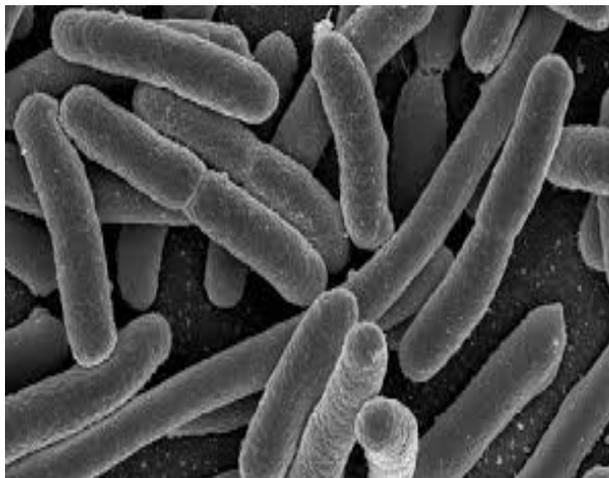
Divisi : Gracilicutes

Ordo : Eubacteriales

Family : Enterobacteriaceae

Genus : *Escherichia*

Spesies : *Escherichia coli* (Juliantina, 2009).

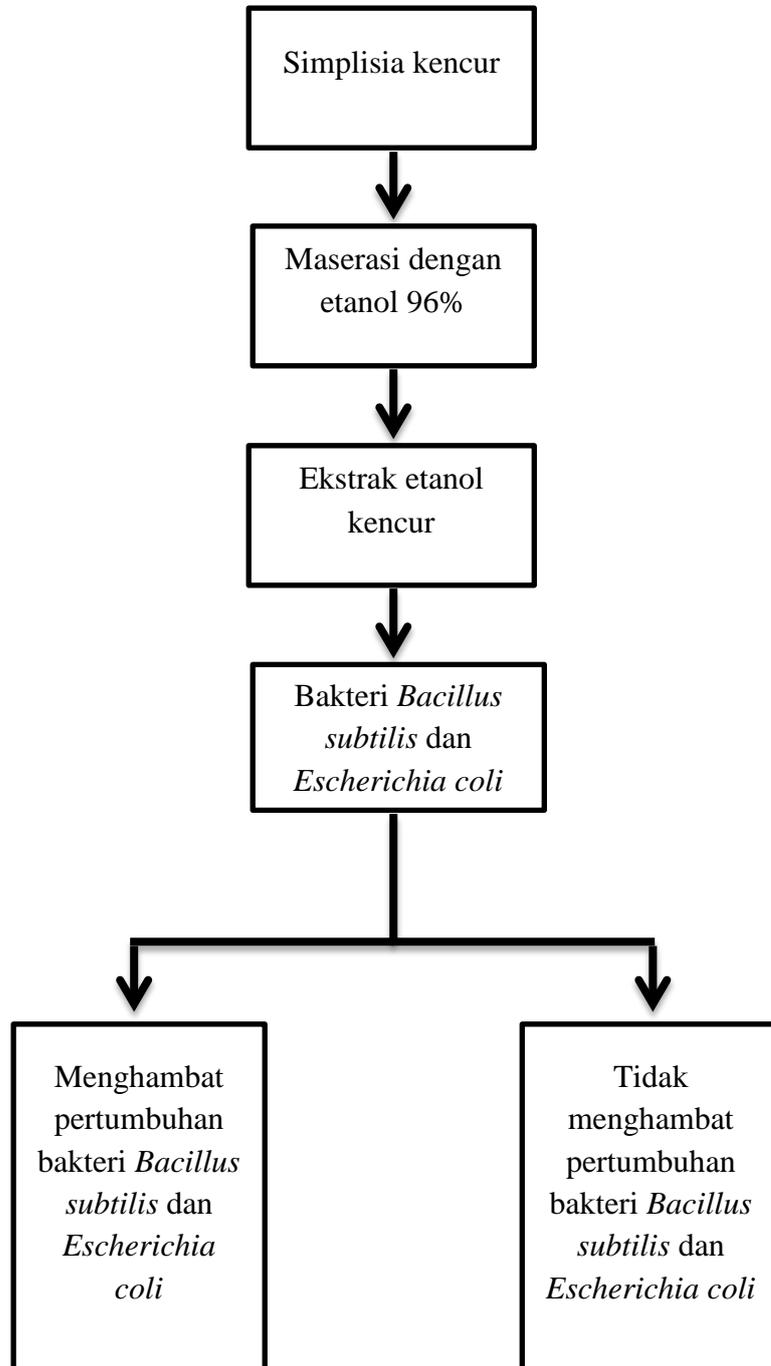


Gambar 2.2 Bakteri *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri gram negatif. Berbentuk batang pendek, motil aktif dan tidak membentuk spora. Pemiakan *Escherichia coli* bersifat aerob atau fakultatif anaerob. Pertumbuhan optimum pada suhu 37°C. *Escherichia coli* adalah kuman yang banyak ditemukan di usus besar manusia sebagai flora normal. Sifatnya unik karena menyebabkan infeksi primer pada usus misalnya diare pada anak. Di dalam usus kuman ini tidak menyebabkan penyakit, malah dapat membantu fungsi normal dan nutrisi. Organisme ini menjadi patogen hanya bila mencapai jaringan diluar saluran pencernaan khususnya saluran kemih, paru-paru dan selaput otak.

Escherichia coli mempunyai beberapa antigen, yaitu antigen O (polisakarida), antigen K (kapsular), antigen H (flagella). Antigen O merupakan antigen somatic berada dibagian terluar dinding sel polisakarida dan terdiri dari unit berulang polisakarida. Antigen K adalah antigen polisakarida yang terletak di kapsul (Juliantina, 2009).

2.7 Kerangka konsep



Skema 2.1 Kerangka konsep