

## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Tanaman Daun Sirih Merah**

Tanaman sirih merah tumbuh menjalar seperti halnya sirih hijau. Batangnya bulat bertangkai berwarna hijau keunguan dan tidak berbunga. Daunnya bertangkai membentuk jantung dengan bagian atas meruncing. Bertepi rata, dan permukaannya mengkilap atau tidak berbulu. Panjang daunnya bisa mencapai 15–20 cm. Warna daun bagian atas hijau bercorak putih keabu-abuan, bagian bawah daun berwarna merah hati cerah. Daunnya berlendir, berasa sangat pahit, dan beraroma wangi khas sirih. Batangnya bersulur dan beruas dengan jarak buku 5–10 cm, disetiap buku tumbuh bakal akar.

Tanaman sirih merah tergolong langka karena tidak tumbuh disetiap tempat atau daerah. Sirih merah tidak dapat tumbuh baik. Jika terlalu banyak terkena sinar matahari langsung pada siang hari secara terus menerus warna merah daunnya bisa menjadi pudar, buram, dan batangnya cepat mengering. Tetapi jika disiram secara berlebihan akar dan batang cepat membusuk. Pada musim hujan banyak tanaman sirih merah yang mati akibat batangnya membusuk dan daun yang rontok. Tanaman sirih merah akan tumbuh dengan baik jika mendapat 60–75% cahaya matahari. Di Indonesia tanaman sirih merah banyak terdapat di daerah bandung dan yogyakarta. Pembibitan dan perbanyakan sirih merah dilakukan secara vegetatif dengan stek, cangkok dan runduk batang (Sudewo, 2005).

### 2.1.1 Klasifikasi Tanaman



Gambar 2.1 Daun Sirih Merah

Secara ilmiah, tanaman salam diklasifikasikan sebagai berikut:

- Kingdom : Plantae
- Divisi : Magnolophyta
- Sub divisi : Spermatophyta
- Kelas : Magnoliopsida
- Sub Kelas : Magnoliidae
- Bangsa : Piperales
- Suku : Piperaceae
- Marga : Piper
- Jenis : *Piper crocatum* Ruitz & Pav (Juliantina *et al.*, 2009)

### 2.1.2 Kandungan Kimia Tumbuhan

Daun sirih merah memiliki kandungan kimia dengan khasiat tertentu yang disebut dengan metabolit sekunder yang menyimpan senyawa aktif seperti flavonoid, alkaloid, terpenoid, cyanogenic, glucoside, isoprenoid, nonprotein amino acid, eugenol. Sedangkan senyawa flavonoid dan pulegone memiliki sifat antioksidan, antidiabetik, antikanker, antiseptik, dan antiinflamasi (Sudewo, 2005). Eugenol dapat digunakan untuk mengurangi rasa sakit, sedangkan tanin dapat

digunakan untuk mengobati sakit perut. Sifat tanin sebagai astrigen dapat dimanfaatkan sebagai antidiare. (Hanani, 2015)

#### 2.1.2.1 Flavonoid

Flavonoid sebagai suatu senyawa fenol dalam dunia tumbuhan dapat ditemukan dalam bentuk glikosida maupun aglikonnya. Aglikon flavonoid mempunyai kerangka dasar struktur  $C_6-C_3-C_6$ . Berdasarkan tingkat oksidasi serta substituenya kerangka flavonoid dibedakan menjadi berbagai jenis seperti flavon, flavonol, khalkon, santon, auron, flavon, antosianidin dan leukoantosianidin (Utami, 2008).

Flavonoid mengandung cincin aromatik yang terkonjugasi dan karena itu menunjukkan pita serapan yang kuat pada daerah spektrum UV (*Ultra Violet*) dan spektrum tampak. Flavonoid umumnya terdapat dalam tumbuhan, terikat pada gula seperti glikosida. Aglikon flavonoid terdapat dalam satu tumbuhan dalam beberapa bentuk kombinasi glikosida (Utami, 2008).

#### 2.1.2.2 Alkaloid

Alkaloid merupakan golongan zat tumbuhan sekunder yang terbesar. Pada umumnya alkaloid mencakup senyawa bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, biasanya dalam gabungan, sebagai bagian dari sistem siklik alkaloid sering kali beracun pada manusia dan banyak yang mempunyai kegiatan fisiologi yang menonjol, jadi digunakan secara luas dalam bidang pengobatan. Umumnya alkaloid tidak berwarna, bersifat optis aktif dan sedikit yang berupa cairan pada suhu kamar (Utami, 2008).

### 2.1.2.3 Terpenoid

Terpenoid merupakan suatu golongan hidrokarbon yang banyak dihasilkan oleh tumbuhan. Pada tumbuhan senyawa-senyawa terpenoid merupakan metabolite sekunder, terpenoid dihasilkan pula oleh sejumlah hewan terutama serangga dan hewan laut. Disamping sebagai metabolite sekunder, terpenoid merupakan kerangka penyusun sejumlah senyawa penting sebagai makhluk hidup. Secara kimia, terpenoid umumnya larut dalam lemak dan terdapat pada sitoplasma sel tumbuhan.

Terpen-terpen adalah suatu golongan senyawa yang sebagian besar terjadi dalam dunia tumbuh-tumbuhan. Hanya sedikit sekali terpen-terpen yang diperoleh dari sumber-sumber lain. Terpenoid adalah merupakan komponen-komponen tumbuhan yang mempunyai bau dan dapat diisolasi dari bahan nabati dengan penyulingan disebut sebagai minyak atsiri. Klasifikasi terpenoid ditentukan dari unit isorpen penyusun senyawa tersebut. Senyawa terpenoid terdapat hampir diseluruh jenis tumbuhan dan penyebarannya juga hampir semua bagian (jaringan) tumbuhan mulai dari akar, batang dan kulit bunga, buah dan yang paling banyak adalah daun (lenny ,2012 ).

### 2.1.2.4 Tanin

Tanin terdapat luas dalam tumbuhan berpembuluh, dalam angiospermae terdapat khusus dalam jaringan kayu. Secara kimia terdapat dua jenis utama tanin, yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Tanin terkondensasi atau flavolan secara biosintesis dapat dianggap terbentuk dengan dengan cara kondensasi katekin tunggal (galokatekin) yang membentuk senyawa dimer dan kemudian oligomer yang lebih tinggi. Ikatan karbon-karbon menghubungkan satu flavon

dengan satuan berikutnya melalui ikatan 4-6 atau 6-8. Kebanyakan flavolan mempunyai 2-20 satuan flavon.

Tanin terhidrolisis terdiri atas dua kelas, yang paling sederhana ialah depsida galoiglukosa. Pada senyawa ini, inti yang berupa glukosa dikelilingi oleh lima atau lebih gugus ester galoil. Pada jenis yang kedua, inti molekul berupa senyawa dimer asam galat yaitu asam heksahidroksidifenat, yang berikatan dengan glukosa. Bila dihidrolisis, elagitanin ini menghasilkan asam elagat (Utami, 2008).

## **2.2 Simplisia**

### **2.2.1 Definisi Simplisia**

Simplisia adalah bahan alami yang digunakan untuk obat dan belum mengalami perubahan apapun, dan kecuali dinyatakan lain umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia tumbuhan obat merupakan bahan baku proses pembuatan ekstrak, baik sebagai 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 pelikan/mineral (Sari, 2015).

#### **2.2.1.1 Simplisia Nabati**

Simplisia nabati adalah simplisia berupa tanaman utuh, bagian tanaman dan eksudat tanaman. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau isi sel tanaman dengan cara tertentu yang belum berupa zat kimia murni (Khoirani, 2013).

#### 2.2.1.2 Simplisia Hewani

Simplisia hewani adalah pengelolaan simplisia hewan utuh, bagian hewan, atau belum berupa zat kimia murni (Nurhayati, 2008).

#### 2.2.1.2 Simplisia Mineral

Simplisia mineral adalah simplisia berasal dari bumi, baik telah diolah atau belum, tidak berupa zat kimia murni (Nurhayati, 2008).

### 2.2.2 Pengelolaan Simplisia

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 dikompresi dengan penggunaan nitrogen cair (Melinda, 2014).

Menurut (Istiqomah 2013), 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 dari bahan simplisia. Misalnya simplisia yang dibuat dari akar tanaman obat,

bahan-bahan asing seperti tanah, kerikil, rumput, serta pengotor lainnya harus dibuang. Tanah yang mengandung bermacam-macam mikroba dalam jumlah yang tinggi. Oleh karena itu pembersihan simplisia dari tanah tanah yang terikat dapat mengurangi jumlah mikroba awal.

#### 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 dari mata air, air sumur dari PDAM. Bahan simplisia yang mengandung zat mudah larut dalam air yang mengalir, pencucian hendaknya dilakukan dalam waktu yang sesingkat mungkin.

#### 2.2.2.3 Perajangan

Beberapa jenis simplisia 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/hilangnya zat yang berkhasiat yang mudah menguap, sehingga mempengaruhi komposisi, bau, rasa yang diinginkan.

#### 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 dalam proses pengeringan adalah suhu pengeringan, kelembapan udara, waktu pengeringan, dan luas permukaan bahan. Suhu yang terbaik pada pengeringan adalah tidak melebihi 60c, tetapi bahan aktif yang tidak tahan pemanasan atau mudah menguap harus dikeringkan pada suhu serendah mungkin, misalnya 30c sampai 45c, terdapat dua cara pengeringan yaitu pengeringan alamiah (dengan sinar matahari langsung atau dengan diangin-anginkan) dan pengeringan buatan (dengan instrumen).

#### 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 pengotor-pengotor lainnya yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering.

#### 2.2.2.6 Penyimpanan

Simplisia perlu ditempatkan suatu wadah tersendiri agar tidak saling bercampur dengan simplisia lain. Untuk persyaratan wadah yang digunakan sebagai pembungkus simplisia adalah harus inert, artinya tidak mudah bereaksi dengan bahan lain, tidak beracun, mampu melindungi bahan simplisia dari cemaran mikroba, kotoran, oksigen dan uap air.

## 2.3 Ekstraksi dan Ekstrak

Ekstraksi adalah suatu cara untuk memperoleh sediaan yang mengandung senyawa aktif dari suatu bahan alam menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi pada dasarnya adalah proses perpindahan massa dari komponen zat padat yang terdapat pada simplisia ke dalam pelarut organik yang digunakan. Ekstraksi dapat dilakukan dengan berbagai metode dan cara yang sesuai dengan sifat dan tujuan ekstraksi itu sendiri (Marjoni, 2016).

### 2.3.1 Metode Ekstraksi

#### 2.3.1.1 Ekstraksi Cara Dingin

Metode ekstraksi secara dingin bertujuan untuk mengekstrak senyawa-senyawa yang terdapat dalam simplisia yang tidak tahan terhadap panas atau bersifat thermolabil. Ekstrak secara dingin dapat dilakukan dengan beberapa cara berikut ini :

##### a. Maserasi

Maserasi adalah proses ekstraksi sederhana yang dilakukan hanya dengan cara merendam simplisia dalam satu atau campuran pelarut selama waktu tertentu pada temperatur kamar dan terlindungi dari cahaya (Marjoni, 2016).

##### b. Perkolasi

Perkolasi adalah proses penyarian zat aktif secara dingin dengan cara mengalirkan pelarut secara kontinu pada simplisia selama waktu tertentu (Marjoni, 2016).

#### 2.3.1.2 Ekstraksi Cara Panas

Metode panas digunakan apabila senyawa-senyawa yang terkandung dalam simplisia sudah dipastikan tahan panas. Metode ekstraksi yang membutuhkan panas diantaranya :

a. Seduhan

Merupakan metode ekstraksi paling sederhana hanya dengan merendam simplisia dengan air panas selama waktu tertentu (5-10 menit) (Marjoni, 2016).

b. Coque (Penggodokan)

Merupakan proses penyarian dengan cara menggodok simplisia menggunakan api langsung dan hasilnya dapat langsung digunakan sebagai obat baik secara keseluruhan termasuk ampasnya atau hanya hasil godokannya saja tanpa ampas. (Marjoni, 2016).

c. Infusa

Infusa merupakan sediaan cair yang dibuat dengan cara menyari simplisia nabati dengan air pada suhu 90°C selama 15 menit. Kecuali dinyatakan lain, infusa dilakukan dengan cara sebagai berikut :

“Simplisia dengan derajat kehalusan tertentu di masukkan ke dalam panci infusa, kemudian ditambahkan air secukupnya. Panaskan campuran di atas penangas air selama 15 menit, dihitung mulai suhu 90°C sambil sekali-akali diaduk. Serkai selagi panas menggunakan kain flanel, tambahkan air panas secukupnya melalui ampas sehingga diperoleh volume infus yang dikehendaki” (Marjoni, 2016)

d. Digesti

Digesti adalah proses ekstraksi yang cara kerjanya hampir sama dengan maserasi, hanya saja digesti menggunakan pemanasan rendah pada suhu 30-40°C. Metode ini biasanya digunakan untuk simplisia yang tersari baik pada suhu biasa (Marjoni, 2016).

e. Dekokta

Proses penyarian secara dekokta hampir sama dengan infusa, perbedaannya hanya terletak pada lamanya waktu pemanasan. Waktu pemanasan pada dekokta lebih lama dibanding metode infusa, yaitu 30 menit dihitung setelah suhu mencapai 90°C. Metode ini sudah sangat jarang digunakan karena selain proses penyariannya yang kurang sempurna dan juga tidak dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang bersifat yang termolabil (Marjoni, 2016).

f. Refluks

Refluks merupakan proses ekstraksi dengan pelarut pada titik didih pelarut selama waktu dan jumlah pelarut tertentu dengan adanya pendingin balik (kondensor). Proses ini umumnya dilakukan 3-5 kali pengulangan pada residu pertama, sehingga termasuk proses ekstraksi yang cukup sempurna. (Marjoni, 2016).

g. Soxhletasi

Proses soxhletasi merupakan proses ekstraksi panas menggunakan alat khusus berupa ekstraktor soxhlet. Suhu yang digunakan lebih rendah di bandingkan dengan suhu pada metode refluks. (Marjoni, 2016).

### 2.3.2 Ekstrak

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

Pembagian ekstrak :

#### 2.3.2.1 Ekstrak cair

Adalah ekstrak hasil penyarian bahan alam dan masih mengandung pelarut (Marjoni, 2016).

#### 2.3.2.2 Ekstrak kental

Adalah ekstrak yang telah mengalami proses penguapan dan sudah tidak mengandung cairan pelarut lagi, tetapi konsistensinya tetap cair pada suhu kamar (Marjoni, 2016).

#### 2.3.2.3 Ekstrak Kering

Adalah ekstrak yang telah mengalami proses penguapan dan tidak lagi mengandung pelarut dan berbentuk padat (kering) (Marjoni, 2016).

### 2.3.3 Proses Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak melalui tahap-tahap sebagai berikut :

#### 2.3.3.1 Pembasahan

Pembasahan serbuk dilakukan pada penyarian, dimaksudkan memberikan kesempatan sebesar-besarnya kepada cairan penyari memasuki pori-pori dalam simplisia sehingga mempermudah penyarian selanjutnya (Istiqoma, 2013).

#### 2.3.3.2 Penyari atau Pelarut

Cairan penyari yang digunakan dalam proses pembuatan ekstrak adalah penyari yang baik untuk senyawa kandungan yang berkhasiat atau aktif. Penyari tersebut dapat dipisahkan dari bahan dan dari senyawa kandungan lainnya. Faktor utama yang menjadi pertimbangan dalam pemilihan cairan penyari adalah selektivitas, ekonomis, kemudahan bekerja, ramah lingkungan dan aman.

Dalam hal keamanan untuk manusia atau hewan coba, cairan pelarut harus memenuhi syarat kefarmasian atau dalam perdagangan dikenal dengan kelompok spesifikasi “*Pharmaceutical grade*”. Sampai saat ini berlaku aturan bahwa pelarut yang diperbolehkan adalah air, alkohol (etanol) atau campuran (air dan alkohol) (Istiqomah, 2013).

#### 2.3.3.3 Pemisahan dan Pemurnian

Tujuannya untuk menghilangkan atau memisahkan senyawa yang tidak dikehendaki semaksimal mungkin tanpa pengaruh pada senyawa kandungan yang dikehendaki, sehingga diperoleh ekstrak yang lebih murni. Proses-proses pada tahap ini adalah pengendapan, pemisahan dua cairan tak bercampur, sentrifugasi, dekantasi, filtrasi, serta proses absorpsi dan penukar ion (Istiqomah, 2013).

#### 2.3.3.4 Pemekatan dan Penguapan

Pemekatan berarti peningkatan jumlah partikel solute (senyawa terlarut) dengan cara penguapan pelarut sampai menjadi kering tetapi ekstrak hanya menjadi kental/pekat (Istiqomah, 2013).

## 2.4 Etanol

Farmakope Indonesia 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, absorpsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan dan panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih baik. Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, kumara antrakinon, flavonoid, steroid, damar dan klorofil. Lemak,

malam, tanin, dan saponin hanya sedikit larut. Dengan demikian zat pengganggu yang terlarut hanya terbatas. Untuk meningkatkan penyarian biasanya menggunakan campuran etanol dan air. Perbandingan jumlah etanol dan air tergantung pada bahan yang disari (Sari, 2015).

## 2.5 Bakteri

Bakteri adalah salah satu golongan prokariotik (tidak mempunyai selubung inti). Bakteri sebagai makhluk hidup tentu memiliki informasi genetik DNA, tapi tidak terlokalisasi dalam tempat khusus (nukleus) dan tidak ada membran inti. Bentuk DNA bakteri adalah sirkuler, panjang dan biasa disebut nukloid. Pada DNA bakteri tidak mempunyai intron dan hanya tersusun atas ekson saja. Bakteri juga memiliki DNA ekstrakromosomal yang bergabung menjadi plasmid yang berbentuk kecil dan sirkuler (Harniza, 2009).

### 2.5.1 Klasifikasi

Untuk memahami beberapa kelompok organisme, diperlukan klasifikasi. Tes biokimia, pewarna gram, merupakan kriteria yang efektif untuk klasifikasi. Hasil pewarnaan mencerminkan perbedaan dasar dan kompleks pada permukaan sel bakteri (struktur dinding sel), sehingga dapat membagi bakteri menjadi dua kelompok, yakni gram positif dan gram negatif (Yulika, 2009).

#### 2.5.1.1 Bakteri gram-negatif

Bakteri gram negatif berbentuk batang (*Enterobacteriaceae*) habitat alaminya berada pada sistem usus manusia dan binatang. Keluarga *enterobacteriaceae* meliputi banyak jenis (*Escherichia*, *shigella*, *salmonella*, *enterobacter*, *klebsiella*, *serratia*, *proteus*, dll). Beberapa organisme, misalnya *escherichia coli* merupakan flora normal dan menyebabkan penyakit, sedangkan yang lain seperti *salmonella* dan *shigella* merupakan patogen yang umum bagi manusia (Yulika, 2009).

### 2.5.1.2 Bakteri gram positif

- a. Bakteri gram positif pembentuk spora: spesies bacillus dan clostridium kedua spesies ini ada dimana-mana, membentuk spora sehingga dapat hidup dilingkungan selama bertahun-tahun, spesies bacillus bersifat aerob sedangkan clostridia bersifat anaerob obligat.
- b. Bakteri gram positif tidak membentuk spora :  
spesies *corynebacterium*, *propionibacterium*, *listeria*, *erysipelothrix*, *actinomycetes*. Beberapa anggota genus *corynebacterium* dan kelompok spesies *propionibacterium* merupakan flora normal pada kulit dan selaput lendir manusia. *Corynebacterium diphteriae* memproduksi oksitosisin yang sangat kuat dan menyebabkan difteria pada manusia. *Listeria monocytogenes* dan *erysipelothrix rhusiophathiae* ditemukan pada binatang dan kadang menyebabkan penyakit yang berat pada manusia. Golongan listeria dan *erysipelothrix* tumbuh dengan baik diudara (Yulika, 2009).

## 2.6 *Bacillus subtilis*

Dapat menyebabkan infeksi makanan, meningitis, endokarditis, infeksi mata dan lain-lain.



Gambar 2.2 *Bacillus subtilis*

Klasifikasi *Bacillus subtilis* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Filum	: <i>Firmicutes</i>
Kelas	: <i>Bacilli</i>
Ordo	: <i>Bacillales</i>
Famili	: <i>Bacillaceae</i>
Genus	: <i>Bacillus</i>
Spesies	: <i>Bacillus subtilis</i> (Madigan, 2005)

*Bacillus subtilis* didistribusiikan secara luas dilingkungan, 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 dari pada *Bacillus sp* lainnya. Namun pada kelompok yang memiliki sistem imun rendah dapat menyebabkan iritasi sinus dan mata, sakit tenggorokan, *endokarditis, pneumonia, bakterimia, dan septikemia*. 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, ciprofloxacin, genramisin, dan klindamicin dengan lama pemberian 7-14 hari (Melinda, 2014).

## 2.7 Antibakteri

Antibakteri adalah zat atau senyawa kimia yang digunakan untuk memusnahkan bakteri, khususnya bakteri yang merugikan manusia. Definisi ini kemudian berkembang menjadi senyawa yang menghambat bahkan membunuh proses kehidupan suatu mikroorganisme (Jawetz, *et al.*, 2005).

### 2.7.1 Mekanisme kerja Antibakteri

Cara kerjanya yang terpenting adalah perintang sintesa protein, sehingga kuman musnah atau berkembang lagi, misalnya kloramfenikol, tetrasiklin, aminoglikosida, makrolida dan linkomisin. Berdasarkan mekanismenya dikelompokkan dalam lima kelompok :

2.7.1.1 Menghambat sintesis dinding sel bakteri, dengan tekanan osmotik yang tinggi di dalam sel dan berfungsi untuk mempertahankan bentuk dan ukuran sel. Kerusakan dinding sel akan menyebabkan lisis. Dinding sel mengandung peptidoglikan. Lapisan peptidoglikan pada dinding sel bakteri

gram positif lebih tebal daripada bakteri gram negative. sehingga menghilangkan kemampuan berkembang biak dan menimbulkan lisis, contoh: penisilin, sefalosporin, vankomisin, basitrasin dan sikloserin (Karlina, *et al.*, 2013).

2.7.1.2 Mengganggu keutuhan membran sel, membran sitoplasma berfungsi dalam perpindahan molekul aktif dan menjaga keseimbangan zat di dalam sel, contoh: polimiksin (Karlina, *et al.*, 2013).

2.7.1.3 Menghambat metabolisme sel bakteri, membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya. Asam folat tersebut harus di sintesis sendiri oleh bakteri dari asam amino benzoate, contoh: sulfonamide dan trimetoprim (Karlina, *et al.*, 2013).

2.7.1.4 Menghambat sintesis protein sel bakteri, berlangsung di dalam ribosom, contoh: tetrasiklin, kloramfenikol dan linkomisin (Karlina, *et al.*, 2013).

2.7.1.5 Menghambat sintesis asam nukleat, rifampisin berikatan dengan enzim polymerase-RNA sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut. Kuinolon menghambat enzim DNA oleh enzim tersebut. contoh : rifampisin dan kuinolon (Karlina, *et al.*, 2013).

2.7.1.6 Aktifitas

Pada umumnya aktifitasnya dinyatakan dengan satuan berat (mg), kecuali zat-zat yang belum dapat diperoleh 100 % murni terdiri dari beberapa campuran zat.

#### 2.7.1.7 Daya Kerja

Berdasarkan daya kerjanya, antibiotik dibagi dalam dua kelompok, yaitu :

- a. Bakteriostatik, adalah zat yang bekerja menghambat pertumbuhan bakteri (Nugraha, 2013).
- b. Bakterisidal, adalah zat yang bekerja mematikan bakteri (Nugraha, 2013)..

#### 2.7.1.8 Spektrum Kerja

Berdasarkan spektrum kerjanya, antibiotik terbagi atas :

- a. Spektrum luas, bekerja terhadap lebih banyak jenis bakteri, baik gram negatif maupun gram positif serta jamur. Contoh : tetrasiklin, ampicillin, sefaslosporin dan kloramfenikol (Bobone *et al.*, 2013).
- b. Spektrum sempit, bekerja terhadap beberapa jenis bakteri saja. Contoh : eritromisin dan klindamisin hanya bekerja terhadap bakteri gram positif. Sedangkan gentamisin hanya bekerja terhadap bakteri gram negatif (Bobone *et al.*, 2013).

Sifat antibiotik sebaiknya menghambat atau membunuh mikroorganisme patogen tanpa merusak inang, bersifat bakterisid, tidak menyebabkan resistensi pada kuman, tidak bersifat alergenik atau menimbulkan efek samping bila dipergunakan dalam jangka waktu yang lama, larut di dalam air serta stabil.

## 2.8 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktifitas 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 penyebabnya terhadap obat yang digunakan untuk pengobatan.

### 2.8.1 Metode Difusi

Metode *disc diffusion (tes kirby & baurer)* untuk menentukan aktifitas agen antimikroba. Cawan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi tersebut. Area jernih mengidentifikasi adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media agar (Pratiwi, 2008).

*Disc diffusion test* atau uji difusi disk dilakukan dengan mengukur diameter *clear zone* (zona bening yang tidak memperlihatkan adanya pertumbuhan bakteri yang terbentuk disekeliling zat antimikroba pada masa inkubasi bakteri) yang merupakan petunjuk adanya respon hambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam ekstrak. Semakin besar zona hambatan yang terbentuk, maka semakin besar pula kemampuan aktivitas zat antimikroba. Syarat jumlah bakteri untuk uji kepekaan atau sensitivitas yaitu 10-10<sup>8</sup> CFU/ml (Pratiwi,2008). Metode difusi dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu cakram kertas, metode parit, dan metode lubang/sumuran.

#### 2.8.1.1 Metode Cakram Kertas

Pada Cakram kertas digunakan suatu kertas cakram saring (*paper disc*) yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antimikroba. Kertas saring yang mengandung zat antimikroba tersebut diletakkan pada lempeng agar yang telah diinokulasi dengan mikroba uji kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu tertentu, sesuai dengan kondisi optimum dari mikroba uji yaitu

pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Ada 2 macam zona hambat yang terbentuk dari cara *kirby bauer*.

- a) *Radical zone* yaitu suatu daerah disekitar disk dimana sama sekali tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri. Potensi antibakteri diukur dengan mengukur diameter dari zona radikal.
- b) *Irradical zone* yaitu suatu daerah sekitar disk dimana pertumbuhan bakteri dihambat oleh antibakteri, tetapi tidak dimatikan.

#### 2.8.1.2 Metode parit/ *Ditch plate technique*

Pada metode ini media agar yang telah ditanamkan bakteri dibuat sebuah parit dengan cara memotong media agar yang berada dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur. Parit yang telah dibuat akan diisi dengan senyawa antimikroba. Hasil yang akan diperoleh adalah ada atau tidaknya penghambatan bakteri di sekitar parit.

#### 2.8.1.3 Metode sumur / *cup plate technique*

Pada metode ini prinsipnya sama dengan metode difusi disk, media agar yang telah ditanami dengan bakteri akan dibuat sumur yang kemudian akan diisi oleh senyawa antimikroba uji.

### 2.8.2 Metode Dilusi

Metode ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi terendah zat antimikroba yang diuji. Hasil pengamatan dapat diukur dengan Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) (Karina, 2013). Terdapat 2 cara metode dilusi, yaitu:

#### 2.8.2.1 Metode Agar Dilusi

Merupakan metode yang cepat tanpa membutuhkan penggunaan alat yang canggih. Pada metode dilusi, bahan

yang diuji digabungkan ke dalam agar dan kemudian ditanamkan bakteri di permukaannya. Beberapa konsentrasi bahan yang diuji dapat dibagi dengan cara membagi permukaan agar menjadi kotak-kotak. Agar tersebut diinkubasi selama 24 jam kemudian pertumbuhan bakteri pada agar dihitung. Metode ini menggunakan sejumlah besar volume bahan yang diuji dibanding dengan metode *discdiffusion* (Karina, 2013).

#### 2.8.2.2 Metode pengenceran (*Broth dilution*)

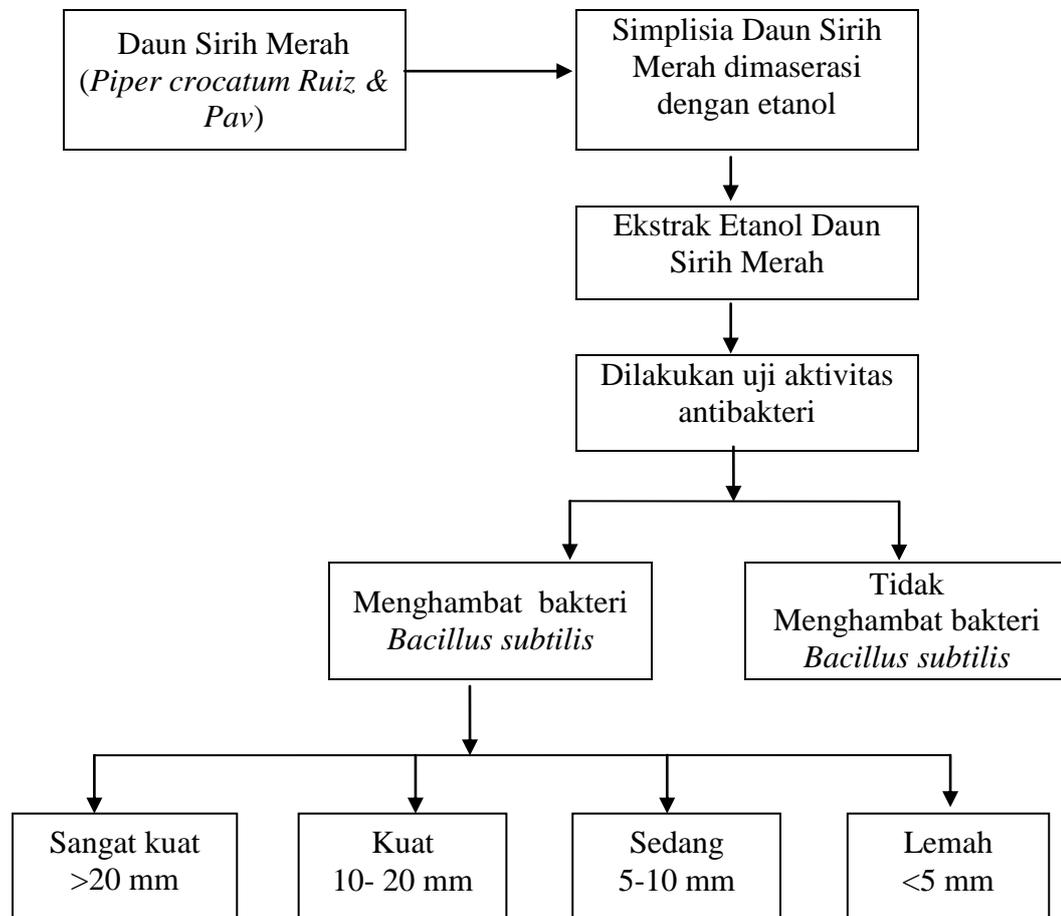
Menggunakan zat antibakteri yang diencerkan beberapa kali terlebih dahulu. Kemudian suspensi bakteri dimasukkan ke dalam berbagai konsentrasi zat antibakteri yang akan diuji pada suatu media cair. Setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35<sup>0</sup>C, dan diamati pertumbuhan bakteri dengan melihat kekeruhan cairan (Karina, 2013).

Efektivitas aktivitas antibakteri didasarkan pada klasifikasi respon penghambatan pertumbuhan bakteri menurut Davis & Stoud (1971) dalam Midun (2012) adalah sebagai berikut:

Tabel 2.1  
Klasifikasi Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri

Diameter Zona Terang	Respon Hambatan Pertumbuhan
>20mm	Sangat Kuat
10-20mm	Kuat
5-10mm	Sedang
<5mm	Lemah

## 2.9 Kerangka Konsep



Gambar 2.3 Kerangka Konsep