

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pare (*Momordica charantia* L)

2.1.1 Definisi

Pare merupakan jenis tanaman semak semusim yang tumbuh menjalar atau merambat dengan menggunakan sulur yang panjang. Sulur tumbuh di samping daun yang sering membentuk spiral. Tanaman ini memiliki aroma atau bau langu yang khas. Akarnya berupa akar tunggal berwarna putih. Struktur batang pare tidak berkayu. Batang tegak berusuk lima dan berwarna hijau. Batang mudanya berambut dan akan menghilang setelah tua (Tati *et al.*, 2004). Pare adalah jenis tanaman merambat dengan buah yang panjang dan runcing pada ujungnya serta permukaan bergerigi. Pare tumbuh baik di dataran rendah dan dapat ditemukan tumbuh liar di tanah terlantar. Tanaman ini tumbuh merambat dan memanjat dengan sulur berbentuk spiral, banyak bercabang, berbau tidak enak. Pare berkhasiat sebagai antiradang, menurunkan kadar glukosa darah, batuk, radang tenggorokan, radang mata merah, rematik, sariawan dan disentri (Steniss, 2006).

2.1.2 Nama Daerah

Sumatra (prieu, peria, foria, pepare, kambah, poria), Jawa (paria, pare pahit, pare, pepareh), Nusa Tenggara (paya, paria, truujuk, paita, paliale, pania, pepule), Sulawesi (paya, padu, bentu, paria, belenggede, palia), Maluku (papariane, papari, kakriane, taparipong, papariano, popare, pappare) (sudarsono *et al.*, 2002).

Sumatra : prine (Gayo), paria (Batak Toba), kambah (Minangkabau);
jawa : papare (Jakarta), paria (Sunda), pepareh (Madura); Bali : paya;

Nusa Tenggara : truwok (Sasak), paria (Bima); Sulawesi : popari, beleng gode (Gorontalo), paria (Bugis), papari (Buru) (Tati *et al*, 2004).

2.1.3 Klasifikasi Pare (*Momordica charantia* L)

Adapun klasifikasi dari tumbuhan pare (*Momordica charantia* L) sebagai berikut, (Tati *et al*, 2004) :

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Super Devisi	: Spermatophyta
Devisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Dilleniidae
Ordo	: Violales
Famili	: Cucurbitaceae
Genus	: Momordica
Spesies	: <i>Momordica charantia</i> L.

2.1.4 Morfologi

Morfologi tanaman Pare menurut, Tati *et al* (2004) :

2.1.4.1. Daun

Daun pare berbentuk bulat telur, berbulu, dan berlikuk. Susunan rulang daunnya menjari. Tangkai daun tumbuh dari ketiak daun. Panjang tangkai daun mencapai 7-12 cm. Daunnya berwarna hijau tua dibagian permukaan atas dan permukaan bawahnya berwarna hijau muda atau kekuningan, letak daun pare berseling dengan panjang tangkai 1,5-5,3 cm. Daun tunggal, berbentuk membulat dengan pangkal bentk jantung, garis tengah 4-7 cm (Gunawan, 2001).

2.1.4.2. Bunga

Bunga pare tumbuh dari ketiak daun dan berwarna kuning menyala. Bunga pare terdiri dari bunga jantan dan bunga betina yang berduri tempel, halus, dan berambut. Kelopak bunga berbentuk lonceng dan berusuk banyak. Panjang tangkai bunga jantan mencapai 2-5.5 cm, sedangkan tangkai bunga betina panjangnya 1-10 cm.

Bunga pare dibedakan menjadi bunga jantan dan bunga betina, bunga jantan memiliki benang sari berjumlah tiga, kepala sari berwarna orange, semua bergandengan menjadi satu kemudian menjadi lepas; ruang sari berbentuk seperti huruf S. Bunga betina berbentuk sisik, bakal buah berparuh panjang, berduri halus, dan berambut panjang; putik berjumlah tiga buah berlekuk dua ke dalam dan satu diantaranya utuh (Gunawan, 2001).

2.1.4.3. Buah

Buah pare berasal dari bunga pare betina yang telah mengalami proses penyerbukan. Buah ini berbentuk bulan memanjang dengan permukaan berbintil-bintil dan berasa pahit. Bagian buah yang masak berwarna jingga. Daging buahnya tebal dan di dalamnya terdapat biji yang banyak.

Buah bulat memanjang, berbintil-bintil tidak beraturan, panjang 8-30 cm, rasa pahit, berwarna hijau, menjadi jingga bila masak (Dalimartha, 2008).

2.1.4.4. Batang

Batang berusuk lima dengan panjang 2-5 cm. Daun tunggal, bertangkai dengan panjang 1,5-5,3 cm, berbentuk bulat

panjang berwarna hijau tua. Berbunga tunggal, berkelamin dua dalam satu pohon, bertangkai panjang dan berwarna kuning. Batang tanaman pare memiliki lima rusuk dengan panjang 2-5 cm, batang yang muda memiliki rambut cukup rapat (Gunawan, 2001).

2.1.4.5. Akar

Akar pada tanaman pare memiliki akar tunggal dan akar berserabut yang sangat lembut. Sehingga tanaman pare ini lebih cocok untuk dibudidayakan pada kondisi lahan/ tanah yang berstruktur keras dan berpasir. Pada tanaman pare ini mempunyai akar yang berwarna putih (Gunawan, 2001).

2.1.5 Macam-macam Pare

Menurut Tati *et al* (2004) macam-macam pare terbagi tiga yaitu :

2.1.5.1. Pare hijau. Sesuai dengan warnanya pare ini berwarna hijau dan rasanya pahit. Jenis pare hijau yang dikenal masyarakat antara lain pare ayam, pare kodok, dan pare alas atau pare gengge. Buah pare hijau ini berbentuk lonjong kecil dan berbintil halus. Ukurannya lebih kecil dibanding dengan pare putih.

2.1.5.2. Pare putih dikenal dengan nama pare gaji atau pare mentega. Buah pare putih berwarna putih kekuningan, berbentuk bulat dengan panjang 30-50 cm, dan berdaging tebal. Berbintil-bintil besar yang arahnya sepanjang buah. Rasa buah pare putih ini tidak terlalu pahit seperti pare hijau.

Pare ular dikenal dengan nama pare belut dan pare alas atau pare leuweung. Permukaan kulit buahnya berwarna hijau keputihan, menyerupai kulit ular. Rasa buah pare ular ini tidak

pahit seperti pare hijau. Bentuk buahnya bulat memanjang. Buah pare ular ini unik karena mudah sekali melengkung.

2.1.6 Kandungan Kimia Pare (*Momordica charantia* L)

Kandungan pare yang telah diketahui adalah *momordisin*, *momordin*, *karantin*, *asam trikosanik*, *asam resinat*, *polifenol*, *saponin*, *flavonoid*, vitamin A dan C, serta minyak lemak terdiri dari *asam oleat*, *asam linoleat*, *asam stearat*, dan *L-oleostarat* (Soeryoko, 2011).

Buah pare mengandung senyawa-senyawa seperti momorkarin, momordenol, momordisilin, momordisinin, momordin, momordolol, karantin, karin, kriptoxantin, diosgenin, asam olaeostearat, eritrodiol, asam galakturonat, asam gentisik, goyaglikosida dan goyasaponin, asam kafeat dan asam ferulat, fisetin dan isoramnetin, 3b,25-dihydroxy-7b-methoxycucurbita-5,23(E)-diene, 3b-hydroxy-7,25-dimehoxycucur-bita-5,23(E)-diene dan 3-(β -D-allopyranosyl-7b,25-dihydroxycucur-bita-5,23(E)-diene-19-al (Shu-jing Wu, 2007)

2.1.7 Khasiat Pare (*Momordica charantia* L)

Pare berkhasiat sebagai obat untuk demam, disentri, diabetes, dan radang tenggorokan. Pare (*Momordica charantia* L) merupakan salah satu tanaman yang mengandung senyawa-senyawa yang berkhasiat dalam pengobatan seperti alkaloid, saponin, flavonoid, triterpenoid, dan asam momordica (Yohana *et al.*, 2005) pare berkhasiat untuk pengoatan disentri dengan menggunakan buah dan akarnya.

Pengguna Pare untuk mengobati disentri menurut Tati *et al* (2004) yaitu:

2.1.7.1 Ambil buah pare segar secukupnya, kemudian diblender dan tambahkan air panas secukupnya, aturan pemakaian jus pare diminum sampai sembuh disentri sembuh.

Ambil daun pare kering secukupnya, kemudian ditumbuk hingga halus sampai jadi serbuk. Sebanyak 3 gram serbuk daun pare dimasukkan dalam 1 gelas air panas dan diaduk hingga rata, aturan pemakaian diminum enam jam sekalisampai disentri sembuh.

2.2 Simplisia

2.2.1. Definisi Simplisia

Simplisia adalah bahan alami yang digunakan untuk obat dan belum mengalami perubahan apapun, dan terkecuali 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 hewan dan simplisia pelikan/ mineral (Melinda, 2014).

Simplisia adalah bahan alami yang digunakan untuk obat dan belum mengalami perubahan proses apapun, dan umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan (Herbie, 2015).

Menurut Herbie (2015), Simplisia terbagi menjadi tiga, yaitu :

2.2.1.1. Simplisia Nabati

Simplisia nabati adalah simplisia yang dapat berupa tanaman utuh, bagian tanaman, eksudat tanaman atau gabungan antara ketiganya. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau dengan cara tertentu sengaja dikeluarkan dari selnya. Eksudat tanaman dapat berupa zat-zat atau bahan-bahan nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan/diisolasi dari tanamannya.

2.2.1.2. Simplisia Hewani

Simplisia hewani adalah simplisia yang dapat berupa hewan utuh, atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia.

2.2.1.3. Simplisia Pelikan atau Mineral

Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa bahan kimia murni.

2.3 Ekstraksi

2.3.1. Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak larut dengan pelarut cair. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloida, flavonoida, dan lain-lain. Dengan diketahuinya senyawa aktif yang dikandung simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Ditijen POM, 2000).

Ekstraksi adalah suatu cara menarik satu atau lebih zat dari bahan asal menggunakan suatu cairan penarik atau pelarut. Umumnya ekstraksi dikerjakan untuk simplisia yang mengandung zat-zat yang berkhasiat atau zat-zat lain untuk keperluan tertentu. Simplisia yang digunakan umumnya sudah dikeringkan, tetapi kadang simplisia segar juga digunakan. Simplisia dihaluskan terlebih dahulu agar proses difusi zat-zat berkhasiatnya lebih cepat (Syamsuni, 2006).

2.3.2. Tujuan Ekstraksi

Tujuan ekstraksi adalah memisahkan suatu komponen dari campurannya dengan menggunakan pelarut (Saptoharjo, 2003).

Tujuan utama ekstraksi ialah mendapatkan atau memisahkan sebanyak mungkin zat-zat yang memiliki khasiat pengobatan (*concentrata*) dari zat-zat yang tidak berfaedah agar lebih mudah dipergunakan (kemudahan diabsorpsi, rasa, pemakaian, dan lain-lain) dan disimpan dibandingkan simplisia asal, dan tujuan pengobatannya lebih terjamin (Syamsuni, 2006).

2.3.3. Macam-macam Ekstraksi

Menurut Depkes RI (2000) macam-macam ekstraksi, yaitu :

2.3.3.1. Ekstraksi Cara Dingin terbagi dua, yaitu :

a. Maserasi

Maserasi adalah proses penyairan simplisia dengan cara perendaman menggunakan pelarut dengan pengadukan pada temperatur kamar. Maserasi yang dilakukan dengan pengadukan secara terus-menerus disebut maserasi kinetik sedangkan yang dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan terhadap maserat pertama dan seterusnya disebut remaserasi.

Maserasi adalah perendaman bahan alam yang dikeringkan (simplisia) dalam suatu pelarut. Metode ini menghasilkan ekstrak dalam jumlah banyak, serta terhindar dari perubahan kimia senyawa-senyawa tertentu karena pemanasan (Pratiwi, 2009).

b. Perkolasi

Perkolasi adalah penyairan simplisia dengan pelarut yang selau baru sampai terjadi penyairan sempurna yang umumnya dilakukan pada temperatur kamar. Proses perkolasi terdiri dari tahap pelembaban bahan, tahap

perendaman, tahap perkolasi sebenarnya (penetasan/ penampungan ekstrak) terus-menerus sampai diperoleh perkolat yang jumlahnya 1-5 kali bahan.

2.3.3.2. Ekstraksi Cara Panas terbagi empat, yaitu :

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.

b. Soxhlet

Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

c. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan, yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C.

d. Infusa

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

2.4 Ekstrak

2.4.1. Pengertian Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau hewani dengan menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua pelarut atau hampir semua

pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian rupa hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI, 2005).

Eksrtrak adalah sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok, di luar pengaruh cahaya matahari langsung (FHI, 2009).

Ekstrak dikelompokan atas dasar sifatnya (FHI, 2009), yaitu :

- 2.4.1.1. Ekstrak encer adalah sediaan yang memiliki konsistensi semacam madu dan dapat dituang.
- 2.4.1.2. Ekstrak kental adalah sediaan yang dilihat dalam keadaan dingin dan dapat dituang. Kandungan airnya berjumlah sampai 30%.
- 2.4.1.3. Ekstrak kering adalah sediaan yang memiliki konsistensi kering dan mudah dituang. Sebaiknya memiliki kandungan lembab tidak lebih dari 5%.
- 2.4.1.4. Ekstrak cair adalah ekstrak yang dibuat sedemikiannya sehingga 1 bagian simplisia sesuai dengan 2 bagian ekstrak cair.

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

Menurut literatur lain, ekstrak ada tiga macam yaitu ekstrak kering (*siccum*), kental (*spissum*) dan cair (*liquidhum*), yang dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang sesuai di luar

pengaruh cahaya matahari langsung. Ekstrak kering harus mudah digerus menjadi serbuk. Cairan penyari yang digunakan air, etanol dan campuran air etanol (Syamsuni, 2006).

2.5 Fraksinasi

Fraksinasi merupakan proses pemisahan antara zat cair dengan zat cair. Fraksinasi dilakukan secara bertingkat berdasarkan tingkat kepolarannya yaitu dari non polar, semi polar, dan polar. Senyawa yang memiliki sifat non polar akan larut dalam pelarut non polar, yang semi polar akan larut dalam pelarut semi polar, dan yang bersifat polar akan larut kedalam pelarut polar (Harborne 1987). Fraksinasi ini umumnya dilakukan dengan menggunakan metode corong pisah atau kromatografi kolom. Kromatografi kolom merupakan salah satu metode pemurnian senyawa dengan menggunakan kolom (Trifany 2012). Corong pisah merupakan peralatan laboratorium yang digunakan untuk memisahkan komponen-komponen dalam campuran antara dua fase pelarut yang memiliki massa jenis berbeda yang tidak tercampur (Haznawati 2012).

Fraksinasi adalah proses pemisahan asam lemak menjadi komponen-komponen asam lemak ringan yang kemudian akan dipisahkan lagi untuk mendapatkan hasil akhir yaitu asam laurat. Proses pemisahan senyawa-senyawa berdasarkan tingkat kepolaran. Jumlah dan senyawa yang dapat dipisahkan menjadi fraksi berbeda-beda tergantung pada jenis tumbuhan. Salah satu fase berupa larutan air dan yang lainnya berupa pelarut organik Lipofilik organik seperti eter, MTBE, diklorometana, kloroform, atau pun etil asetat (Hafil, 2011).

Metode fraksinasi/pemisahan umumnya:

2.5.1. Ekstraksi Cair-cair Ekstraksi cair-cair adalah metode pemisahan dengan menggunakan dua cairan pelarut yang tidak saling bercampur,

sehingga senyawa tertentu terpisahkan menurut kesesuaian sifat dengan cairan pelarut (prinsip solve dissolve like).

2.5.2. Kromatografi Kromatografi adalah teknik pemisahan zat dari campuran berdasarkan perbedaan migrasi komponen-komponen tersebut dari fase diam oleh fase gerak. pemisahan ini dilakukan berdasarkan sifat fisika-kimia umum dari molekul seperti :

2.5.2.1. kecenderungan molekul untuk melarut dalam cairan (kelarutan).

2.5.2.2. kecenderungan molekul untuk melekat pada permukaan serbuk halus (adsorpsi/penjerapan)

2.5.2.3. kecenderungan molekul untuk menguap atau berubah ke keadaan uap (keatsirian).

2.6 Bakteri

Bakteri adalah mikroorganisme bersel tunggal yang hanya dapat dilihat dengan mikroskop. Ukuran bakteri bervariasi, baik penampang maupun panjang, tetapi pada umumnya diameter bakteri adalah sekitar 0,2 – 2,0 mm dan panjang berkisar 2-8 mm (Pratiwi, 2008).

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 eskon saja. Bakteri juga memiliki DNA ekstrakromosom yang tergabung menjadi plasmid yang berbentuk kecil dan sikuler (Harniza, 2009).

2.7 Antibakteri

Antibakteri adalah zat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. 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).

Antibakteri adalah zat kimia yang mempunyai khasiat untuk menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri (Jawetz *et al*, 2008). Berdasarkan mekanisme aksinya, antibakteri bedakan menjadi lima, yaitu :

2.7.1. Penghambatan Sintesis Dinding Sel

Antibakteri mencegah sintesis dinding sel dan merusak dinding sel, menyebabkan tekanan osmotik dalam sel lebih tinggi dari pada di lingkungan luar sel sehingga sel akan mengalami lisis.

2.7.2. Perusakan Membran Sel

Antibakteri merusak atau memperlemah satu atau lebih dari fungsi membran. Sehingga berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri akan keluar yaitu protein, asam nukleat, dan nukleotida.

2.7.3. Penghambatan Sintesis Protein

Beberapa golongan antibiotik memiliki spektrum luas dan bersifat bakterisidal dengan mekanisme penghambatan pada sintesis protein. Antibiotik berikatan pada subunit 30S ribosom bakteri (beberapa terikat juga pada subunit 50S ribosom) dan menghambat translokasi peptidil-tRNA dari situs A ke situs P, dan menyebabkan kesalahan pembaca mRNA dan mengakibatkan bakteri tidak mampu mensintesis protein vital untuk pertumbuhannya.

2.7.4. Penghambatan Sistem Asam Nukleat

Penghambatan sintesis pada asam nukleat berupa penghambatan terhadap transkripsi dan replikasi mikroorganisme. Suatu bakteri dapat mengubah keadaan ini dengan mendenaturasi protein dan asam-asam nukleat sehingga merusak sel tanpa dapat diperbaiki lagi.

2.7.5. Penghambatan Sintesis Metabolit Esensial

Penghambatan antara lain dengan adanya kompetitor berupa antimetabolit, yaitu substansi yang secara kompetitif menghambat metabolit mikroorganisme, karena memiliki struktur yang mirip dengan substrat normal bagi enzim metabolisme (Pratiwi, 2008).

2.8 Uji Daya Hambat Antibakteri

Antibakteri adalah suatu zat yang dapat menghambat pertumbuhan atau bahkan membunuh bakteri. Dalam antibakteri terdapat istilah kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM). KHM merupakan kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Sedangkan KBM merupakan kadar minimal yang diperlukan untuk membunuh bakteri. Uji aktivitas antibakteri merupakan teknik untuk mengukur seberapa besar potensi atau konsentrasi suatu senyawa yang bisa memberikan efek bagi mikroorganisme.

Kegunaan dari uji daya hambat antimikroba adalah diperolehnya suatu sistem pengobatan yang efektif dan efisien. Terdapat bermacam-macam metode uji antimikroba akan dijelaskan di bawah ini.

2.8.1. Metode Difusi

Metode difusi ini terbagi menjadi lima, yaitu *disc diffusion* (tes Kirby & Bauer), *E Test ditch-plate technique*, *gradient-plate technique*, dan *cup-plate technique*. Metode yang umum digunakan ialah metode *disc diffusion* (tes Kirby & Bauer). Piringan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada medium agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan didifusikan pada medium agar tersebut. Media jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan medium agar (Pratiwi, 2008).

2.8.2. Metode Dilusi

Metode ini mengukur MIC (*minimum inhibitory concentration*) atau kadar hambat minimum (KHM), dan MCB (*minimum bactericidal concentration*) atau kadar bunuh minimum (KBM), cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji agen antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada medium cair tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba, dan diinkubasi selama 18-24 jam. Medium cair yang tetap terlihat jernih setelah diinkubasi ditetapkan sebagai KBM (Pratiwi, 2008).

2.8.3. Metode Dilusi Padat (*Solid dilution test*)

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

2.9 Zona Hambat dan Ketentuan Daya Hambat Antibakteri

2.9.1. Zona Hambat

Zona hambat merupakan daerah jernih (bening) di sekitar kertas cakram yang mengandung zat antibakteri yang menunjukkan adanya sensitifitas adanya bakteri terhadap zat antibakteri. Zona hambat tersebut digunakan sebagai dasar penentuan tingkat resistensi. Tingkat resistensi bakteri dibedakan menjadi tiga, yaitu sensitif, intermediet, dan resisten.

2.9.1.1. Bakteri bersifat sensitif jika terbentuk zona bening pada saat pengujian.

2.9.1.2. Bersifat intermediet jika terbentuk zona bening pada saat di uji dengan diameter yang kecil.

2.9.1.3. Bersifat resisten jika tidak terbentuk zona hambat sama sekali pada saat dilakukan pegujian (Pratiwi, 2008).

2.9.2. Ketentuan Daya Hambat Antibakteri

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

2.9.2.1. Daerah hambatan 20 mm atau lebih termasuk sangat kuat.

2.9.2.2. Daerah hambatan 11-20 mm termasuk kategori kuat.

2.9.2.3. Daerah hambatan 6-10 mm termasuk kategori sedang.

2.9.2.4. Daerah hambatan 5mm atau kurang termasuk kategori kurang.

2.10 Bakteri *Bacillus subtilis*

2.10.1. Klasifikasi *Bacillus subtilis*

Klasifikasi *Bacillus subtilis* adalah sebagai berikut :

Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Phylum	: <i>Firmicutes</i>
Class	: <i>Bacilli</i>
Order	: <i>Bacillales</i>
Famili	: <i>Bacillaceae</i>
Genus	: <i>Bacillus</i>
Spesies	: <i>Bacillus subtilis</i> (Madigan, 2005).

2.10.2. Deskripsi *Bacillus subtilis*

Bacillus merupakan bakteri gram positif ini dapat bertahan hidup pada kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan dengan membentuk spora. *Bacillus subtilis* adalah bakteri saprofit dan bakteri tanah yang

memberikan kontribusi pada siklus nutrisi karena kemampuannya untuk menghasilkan berbagai enzim. Bakteri ini telah digunakan di industri untuk menghasilkan protease, amilase, antibiotik, dan bahan kimia. *Bacillus subtilis* tidak patogen pada manusia, namun pada beberapa kasus bakteri ini diisolasi dari infeksi manusia (U.S Environmental Protection Agency, 2007).

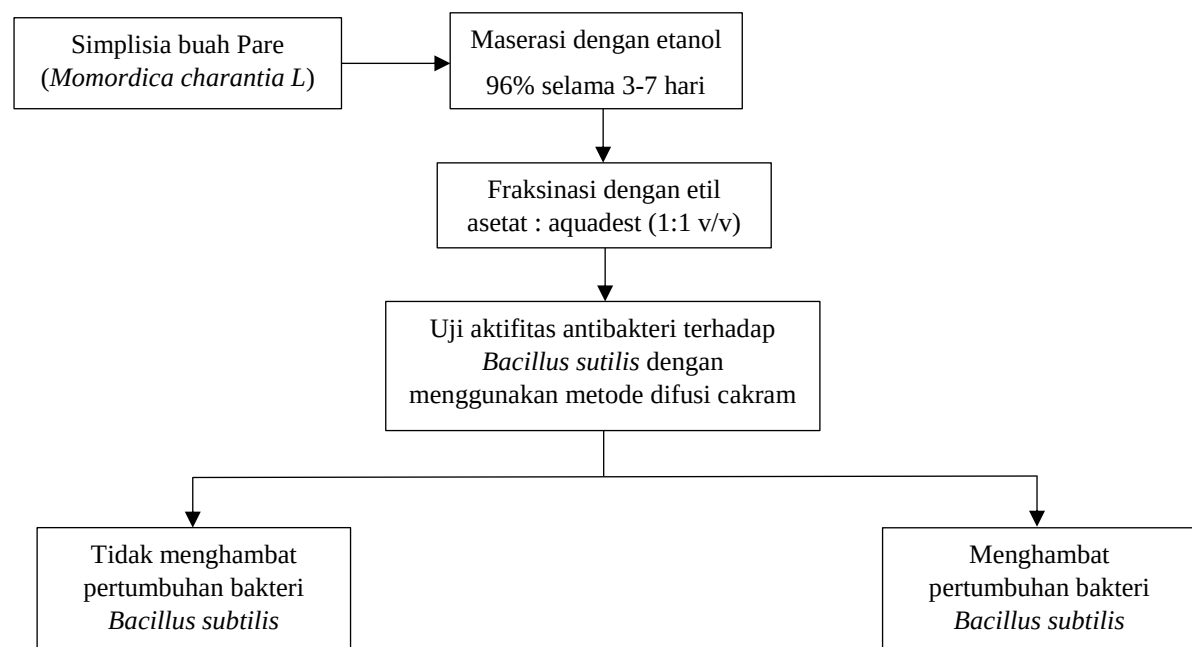
Bacillus subtilis dapat menyebabkan meningitis, endocarditis, infeksi mata dan lain-lain. *Bacillus subtilis* dididistribusikan secara luas di lingkungan, khususnya di tanah, udara, dan sisa tanaman busuk. *Bacillus subtilis* termasuk gram positif, berbentuk batang yang memiliki flagel peritrikus untuk bergerak dan mempunyai kemampuan menghasilkan enzim amylase, protease 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).

Bacillus subtilis mempunyai panjang 2-3 μm dan lebar 0,7-0,8 μm . Bakteri ini dapat tumbuh pada suhu maksimum 45°-55°C, minimum 5°-20°C dan suhu optimum bervariasi antara 25°-37°C. *Bacillus subtilis* menyebabkan penyakit yang membuat fungsi imun seseorang terganggu, misalnya meningitis dan gastroenteritis akut (Jawetz *et al.*, 2008).

Karakteristik patogen dan virulensi pada *Bacillus subtilis* lebih rendah dari pada *Bacillus spp* lainnya. Namun pada kelompok yang memiliki sistem imun rendah dapat menyebabkan iritasi sinus dan mata, sakit tenggorokan, endokarditis, pneumonia, bakterimia, dan septika. Selain itu, *Bacillus subtilis* mengkontaminasi makanan dengan gejala diare

dan muntah. *Bacillus subtilis* menghasilkan toksin ekstraseluler yang subtilisin. Senyawa proteini ini mampu menyebabkan reaksi alergi dan hipersensitivitas pada individu yang berulang kali terkena. Antibiotik tetrasilin dan kloramfenikol dapat digunakan untuk mengobati infeksi yang disebabkan bakteri *Bacillus subtilis*. Selain itu juga dapat menggunakan vankomisin, siproploksasin, gentamisin, dan klindamisin dengan lama pemberian 7-14 hari (Melinda, 2014).

2.11 Kerangka Konsep



Gambar 2.1 Kerangka Konsep