

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Deskripsi Tanaman Binahong

Anredera cordifolia (Tenore) Steenis atau biasa dikenal dengan sebutan binahong merupakan tanaman menjalar dan bersifat perenial (berumur lama), panjang dapat mencapai 5 m. Batan lunak, berbentuk silindris, saling membelit, berwarna merah, bagian dalam solid, permukaan halus, kadang membentuk semacam umbi yang melekat diketiak daun dengan bentuk tak beraturan dan bertekstur kasar. Daun tunggal, bertangkai sangat pendek, tersusun berseling, berwarna hijau, bentuk jantung, panjang 5 – 10 cm, lebar 3 – 7 cm, helaian daun tipis lemas, ujung, ujung runcing, pangkal berlekuk, tepi rata, permukaan licin, bisa dimakan. Bunga majemuk berbentuk tandan, bertangkai panjang, muncul diketiak daun, mahkota berwarna krem keputih-putihan berjumlah lima helai tidak berlekatan, panjang helai mahkota 0,5 – 1 cm, berbau harum, akar berbentuk rimpang, berdaging lunak (Manoi, 2009).



Gambar 2.1 Tanaman binahong

2.2.1 Klasifikasi Tanaman Binahong

Klasifikasi Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) Tanaman Binahong dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
 Subkingdom : Tracheobionta (berpembuluh)
 Superdivisio : Spermatophyta (menghasilkan biji)
 Divisio : Magnoliophyta (berbunga)
 Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
 Subkelas : Hamamelidae
 Ordo : Caryophyllales
 Familia : Basellaceae
 Genus : Anredera
 Species : *Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis
 (Kurniawan, 2009)

2.2.2 Nama Daerah

Anredera cordifolia (Tenore) Steenis di Indonesia disebut dengan nama binahong, sedangkan di Cina disebut dengan nama teng san chi dan di Inggris disebut dengan nama madeira vine (Setaji, 2009).

2.2.3 Morfologi Tanaman

Binahong merupakan tanaman yang diperkirakan berasal dari Amerika Selatan. Binahong mudah tumbuh di dataran rendah maupun dataran tinggi, tanaman binahong dibudidayakan secara generatif (biji), tetapi lebih sering ditanam secara vegetatif dengan akar atau rhizoma (Setiaji, 2009). Morfologi tanaman binahong adalah sebagai berikut :

2.2.3.1 Habitus

Habitus tanaman binahong berupa tumbuhan menjalar, berumur panjang (perennial), dan tanamannya bisa mencapai panjang ± 5 m (Setiaji, 2009).

2.2.3.2 Batang

Tanaman binahong memiliki batang yang lunak, silindris, saling membelit, berwarna merah, bagian dalam solid, permukaan halus, terkadang membentuk semacam umbi yang melekat di ketiak daun dengan bentuk tak beraturan dan bertekstur kasar (Setiaji, 2009).

2.2.3.3 Daun

Tanaman binahong berdaun tunggal, bertangkai sangat pendek (sessile), pertulangan menyirip, tersusun berseling, berwarna hijau muda, berbentuk jantung (cordata), memiliki panjang sekitar 5-10 cm dan lebar sekitar 37 cm, helaian daun tipis lemas, ujung runcing, pangkal berbelah, tepi rata atau bergelombang, dan permukaan halus dan licin (Setiaji, 2009).

2.2.3.4 Bunga

Tanaman binahong memiliki bunga majemuk berbentuk tandan atau malai panjang, bertangkai panjang, muncul di ketiak daun, mahkota berwarna putih sampai krem berjumlah lima helai tidak berlekatan, panjang helai mahkota sekitar 0,5 - 1 cm dan memiliki bau yang harum (Setiaji, 2009).

2.2.3.5 Akar

Tanaman binahong mempunyai akar tunggang yang berdaging lunak dan berwarna coklat kotor (Setiaji, 2009).

2.2.3.6 Rhizoma

Tanaman binahong memiliki rhizoma adalah batang beserta daun yang terdapat didalam tanah, bercabang-cabang dan tumbuh mendatar, dari ujungnya dapat tumbuh tunas yang muncul di atas tanah dan dapat merupakan suatu tumbuhan baru. Bahwasannya rhizoma adalah penjelmaan dari batang dan bukan akar, yang memiliki ciri-ciri sebagai berikut :

- a. Beruas-ruas, berbuku-buku, akar tidak pernah bersifat demikian.
- b. Berdaun, tetapi daunnya telah menjelma menjadi sisik-sisik.
- c. Mempunyai kuncup-kuncup.
- d. Tumbuhnya tidak ke pusat bumi atau air, terkadang tumbuh ke atas, muncul diatas tanah.

Rhizoma berfungsi sebagai alat perkembangbiakan dan tempat penimbunan zat-zat cadangan makanan (Setiaji, 2009).

2.2.4 Kandungan Tanaman Binahong

Hasil uji fitokimia yang dilakukan Khunaifi (2010) ekstrak daun binahong mengandung senyawa polifenol, alkaloid, dan flavonoid. Jenis flavonoid yang diperoleh dari hasil isolasi dan identifikasi serbuk segar dan serbuk kering ekstrak etanol daun binahong adalah flavonol (Selawaet *al.*, 2013), serta mempunyai kapasitas sebagai antioksidan. Daun binahong mengandung flavonoid, saponin, dan steroid/triterpenoid (Garmanaet *al.*, 2014). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Astuti *et al.*, (2011), tanaman binahong mengandung saponin pada semua bagian tanaman, triterpenoid dan steroid, serta tanin (Andreani, 2011). Titis *et al.*, (2013) berhasil melakukan isolasi alkaloid daun binahong. Isolat alkaloid yang telah diisolasi dari daun binahong mengandung senyawa betanidin ($C_{18}H_{16}N_2O_8$) yang bersifat tidak sitotoksik. Golongan senyawa-senyawa tersebut merupakan senyawa bioaktif dalam tanaman, sehingga diduga juga berpotensi sebagai antibakteri.

2.2.5 Khasiat Tanaman Binahong

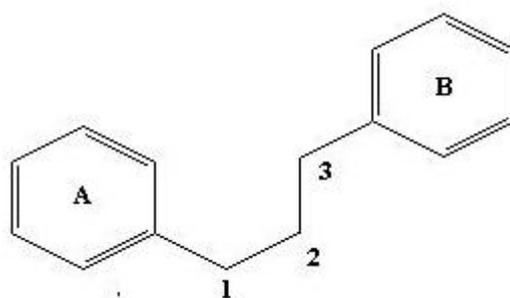
Manfaat tanaman ini sangat besar dalam dunia pengobatan, secara empiris binahong dapat menyembuhkan berbagai jenis penyakit. Dalam pengobatan, bagian tanaman yang digunakan dapat berasal dari akar, batang, daun, dan bunga, maupun umbi yang menempel pada ketiak daun.

Beberapa penyakit yang dapat disembuhkan dengan menggunakan tanaman ini adalah kerusakan ginjal, diabetes, pembengkakan jantung, muntah darah, tifus, stroke, wasir, reumatik, pemulihan pasca operasi, pemulihan pasca melahirkan, menyembuhkan segala luka-luka dalam dan khitanan, radang usus, melancarkan dan menormalkan peredaran dan tekanan darah, sembelit, sesak napas, sariawan berat, pusing-pusing, sakit perut, menurunkan panas tinggi, menyuburkan kandungan, maag, asam urat, keputihan, pembengkakan hati, meningkatkan vitalitas dan daya tahan tubuh (Manoi, 2009), serta sebagai antioksidan (Selawa *et al.*, 2013), antibiotik, antivirus, dan antiinflamasi (Kurniawan & Aryan, 2015).

Screening efek antibakteri pada semua tanaman uji yang dilakukan oleh (Garmana *et al.*, 2014), ekstrak yang paling berpotensi adalah binahong yang dapat menghambat banyak bakteri. Binahong mempunyai efek antimikroba yang merupakan spektrum antimikroba yang luas sejak dapat menghambat bakteri Gram positif, Gram negatif, dan juga jamur. Penemuan ini menunjukkan ekstrak daun binahong bertindak sebagai bakteriostatik dan hanya menghambat pertumbuhan bakteri. Berdasarkan studi akut dan sub kronik yang dilakukan oleh Salasanti *et al.*, (2014), ekstrak etanol daun binahong menunjukkan tidak adanya tanda-tanda toksik (beracun) atau ketidaknormalan sehingga aman untuk digunakan dalam pengobatan.

2.3 Senyawa Flavonoida

Flavonoid adalah senyawa yang terdiri dari $C_6-C_3-C_6$, *flavonoid* umumnya terdapat pada tumbuhan sebagai glikosida. Gugusan gula bersenyawa pada satu atau lebih grup hidroksil fenolik. Gugus hidroksil selalu terdapat pada karbon no.5 dan no.7 pada cincin A. Pada cincin B gugusan hidroksil atau alkoksi terdapat pada karbon no. 3 dan no. 4. *Flavonoid* terdapat pada seluruh bagian tanaman, termasuk pada buah, tepung sari, dan akar (Sirait, 2007).



Gambar 2.2 Kerangka Struktur Flavonoid (Sirait, 2007).

Senyawa – senyawa flavonoida adalah senyawa – senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon, terdiri dari dua cincin benzena yang dihubungkan menjadi satu oleh rantai linier yang terdiri dari tiga atom karbon. Senyawa – senyawa flavonoida adalah senyawa 1,3 diaril propana, senyawa isoflavonoida adalah senyawa 1,2 diaril propana, sedangkan senyawa – senyawa neoflavonoida adalah 1,1 diaril propana (Sirait, 2007).

Istilah flavonoida diberikan pada satu golongan besar senyawa yang berasal dari kelompok senyawa yang paling umum yaitu senyawa flavon yang merupakan suatu jembatan oksigen terdapat diantara cincin A dalam kedudukan orto, dan atom karbon benzil yang terletak disebelah cincin B. Senyawa heterosoklik ini, pada tingkat oksidasi yang berbeda terdapat dalam kebanyakan tumbuhan. Flavon dalam bentuk yang mempunyai cincin C dengan tingkat oksidasi paling rendah dan dianggap sebagai struktur induk dalam nomenklatur kelompok senyawa – senyawa ini (Sirait, 2007).

Senyawa flavonoida sebenarnya terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, bunga, buah dan biji. Kebanyakan flavonoida ini berada didalam tumbuh – tumbuhan, kecuali alga. Namun ada juga flavonoida yang terdapat pada hewan, misalnya dalam kelenjar bau berang – berang dan sekresi lebah. Dalam sayap kupu – kupu dengan anggapan bahwa flavonoida berasal dari tumbuh – tumbuhan yang menjadi makanan hewan tersebut dan tidak dibiosintesis didalam tubuh mereka. Penyebaran jenis flavonoida pada golongan tumbuhan yang tersebar yaitu angiospermae, klorofita, fungi, briofita (Sirait, 2007).

2.3.1 Klasifikasi Senyawa *Flavonoida*

Flavonoida dapat dikelompokkan berdasarkan keragaman pada rantai C₃ yaitu :

2.3.1.1 *Flavonol*

Flavonol paling sering terdapat sebagai glikosida, biasanya 3-glikosida, dan aglikon flavonol yang umum yaitu *kamfer*, *kuersetin*, dan *mirisetin* yang berkhasiat sebagai antioksidan dan anti inflamasi. *Flavonol* lain yang terdapat dialam bebas kebanyakan merupakan variasi struktur sederhana dari *flavonol*. Larutan *flavonol* dalam suasana basa dioksidasi oleh udara tetapi tidak begitu cepat sehingga penggunaan basa pada pengerjaannya masih dapat dilakukan (Sirait, 2007).

2.3.1.2 *Flavon*

Flavon berbeda dengan *flavonol* dimana *flavon* tidak terdapat gugusan 3-*hidroksi*. Hal ini ini mempunyai serapan UV-nya, gerakan kromatografi, serta reaksi warnanya. *Flavon* terdapat juga sebagai glikosida lebih sedikit daripada jenis *glikosida* pada *flavonol*. *Flavon* yang paling umum dijumpai adalah apigenin dan luteolin. *Luteolin* merupakan zat warna yang pertama kali dipakai di eropa.

Jenis yang paling umum adalah *7-glukosida* dan terdapat juga *flavon* yang terikat pada gula melalui karbon-karbon. Contohnya *luteolin 8-C-glikosida*. *Flavon* dianggap sebagai induk dalam nomenklatur kelompok senyawa *flavonoida*. *Flavon* berkhasiat sebagai antioksidan, antimikroba, dan anti inflamasi (Sirait, 2007).

2.3.1.3 *Isoflavon*

Isoflavon merupakan *isomer flavon*, tetapi jumlahnya sangat sedikit dan sebagai *fitoaleksin* yaitu senyawa pelindung yang terbentuk dalam tumbuhan sebagai pertahanan terhadap serangan penyakit. *Isoflavon* sukar dicirikan karena reaksinya tidak khas dengan preaksi warna manapun. Beberapa *isoflavon* (misalnya *daidzen*) memberikan warna biru muda cemerlang dengan sinar UV bila diuapi amonia, tetapi kebanyakan yang lain tampak sebagai bercak lembayung yang pudar dengan amonia berubah menjadi coklat. *Isoflavon* berkhasiat untuk mencegah penyakit tulang dan mencegah kanker (Sirait, 2007).

2.3.1.4 *Flavanon*

Flavanon terdistribusi luas dialam. *Flavon* terdapat di dalam kayu, daun dan bunga. *Flavanon glikosida* merupakan konstituen utama dari tanaman genus prenus dan buah jeruk dua glikosida yang paling lazim adalah *neringenin* dan *hesperitin*, terdapat dalam buah anggur dan jeruk. *Flavanon* berkhasiat sebagai anti kanker (Sirait, 2007).

2.3.1.5 *Flavanonol*

Senyawa ini berkhasiat sebagai antioksidan dan hanya terdapat sedikit sekali jika dibandingkan dengan flavonoida lain. Sebagian besar senyawa ini diabaikan karena

konsentrasinya rendah dan tidak berwarna. *Katekin* terdapat pada seluruh dunia tumbuhan, terutama pada tumbuhan berkayu. Senyawa ini mudah diperoleh dalam jumlah besar dari ekstrak kental *uncaria gambir* dan daun teh kering yang mengandung kira-kira 30% senyawa ini. *Katekin* berkhasiat sebagai antioksidan (Sirait, 2007).

2.3.2 Sifat Flavonoid

2.3.2.1 Sifat Fisika dan Kimia Senyawa *Flavonoid*

Aglikon flavonoid adalah *polifenol* dan karena itu mempunyai sifat kimia senyawa *fenol*, yaitu bersifat agak asam sehingga dapat larut dalam basa. Karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil yang tak tersulih, atau suatu gula, *flavonoid* merupakan senyawa polar dan seperti kata pepatah lama suatu golongan akan melarutkan golongan sendiri, maka umumnya *flavonoid* larut cukup dalam 11 pelarut polar seperti etanol (EtOH), metanol (MeOH), butanol (BuOH), aseton, dimetilsulfoksida (DMSO), dimetilformamida (DMF), air dan lain lain. Sebaliknya, aglikon yang kurang polar seperti *isoflavan*, *flavanon*, dan *flavon* serta *flavonol* yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut seperti eter dan kloroform (Sirait, 2007).

Flavonoid terutama berupa senyawa yang larut dalam air mereka dapat diekstraksi dengan etanol 70 % dan tetap ada dalam lapisan air setelah ekstrak ini dikocok dengan eter minyak bumi. *Flavonoid* berupa senyawa *fenol*, karena itu warnanya berubah bila ditambah basa atau amonia, jadi mereka mudah dideteksi pada kromatogram atau dalam larutan (Sirait, 2007).

Sifat-sifat kimia dari senyawa fenol adalah sama, akan tetapi dari segi biogenetic senyawa senyawa ini dapat dibedakan atas dua jenis utama, yaitu :

- 1 Senyawa *fenol* yang berasal dari asam shikimat atau jalur shikimat
- 2 Senyawa *fenol* yang berasal dari jalur asetat-malonat (Sirait, 2007).

2.3.2.2 Sifat Kelarutan Flavonoid

Aglikon *flavonoid* adalah polifenol dan karena itu mempunyai sifat kimia senyawa *fenol*, yaitu bersifat agak asam sehingga dapat larut dalam basa, tetapi bila dibiarkan dalam larutan basa dan di samping itu terdapat banyak oksigen, banyak yang akan terurai. Karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil yang tak tersulih, atau suatu gula, *flavonoid* merupakan senyawa polar, maka umumnya *flavonoid* cukup larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, *dimetil-sulfoksida*, *dimetilformamida*, air dan lain lain (Sirait, 2007).

2.3.3 Isolasi *Flavonoid*

Isolasi *flavonoid* umumnya dilakukan dengan metode ekstraksi, yakni dengan cara maserasi atau sokletasi menggunakan pelarut yang dapat melarutkan *flavonoid*. *Flavonoid* pada umumnya larut dalam pelarut polar, kecuali *flavonoid* bebas seperti *isoflavan*, *flavon*, *flavanon*, dan *flavanol* termetoksilasi lebih mudah larut dalam semi polar, oleh karena itu pada proses ekstraksinya, untuk tujuan skrining maupun isolasi, umumnya menggunakan pelarut methanol atau etanol. Hal ini disebabkan karena pelarut ini bersifat melarutkan senyawa-senyawa mulai dari yang kurang polar sampai polar. Ekstrak methanol atau yang kental, selanjutnya dipisahkan

kandungan senyawanya dengan teknik fraksinasi, yang biasanya berdasarkan kenaikan polaritas pelarut (Sirait, 2007).

Senyawa *flavonoid* diisolasi dengan teknik maserasi, mempergunakan pelarut metanol teknis. Ekstraksi methanol kental kemudian dilarutkan dalam air. Ekstrak methanol-air kemudian difraksinasi dengan n-heksana dan etil asetat. Masing-masing fraksi yang diperoleh diuapkan, kemudian diuji *flavonoid*. Untuk mendeteksi adanya *flavonoid* dalam tiap fraksi, dilakukan dengan melarutkan sejumlah kecil ekstrak kental setiap fraksi kedalam etanol. Selanjutnya ditambahkan pereaksi *flavonoid*, seperti natrium hidroksida, asam sulfat pekat, buuk magnesium-asam klorida pekat, atau natrium amalgam-asam klorida pekat. Uji positif *flavonoid* ditandai dengan berbagai perubahan warna yang khas setiap jenis *flavonoid* (Sirait, 2007).

Cara lain yang dapat dipakai untuk pemisahan adalah ekstraksi cair-cair, kromatografi kolom, kromatografi lapis tipis dan kromatografi kertas. Isolasi dan permurnian dapat dilakukan dengan kromatografi lapis tipis atau kromatografi kertas preparatif dengan pengembangan yang dapat memisahkan komponen paling baik (Sirait, 2007).

2.3.4 Manfaat *Flavonoid*

Menurut Sirait (2007) flavonoid memiliki manfaat antara lain :

2.3.4.1 Bagi Tumbuhan

- a. Untuk menarik serangga, yang membantu proses penyerbukan.
- b. Untuk menarik perhatian binatang yang membantu penyebaran biji.

2.3.4.2 Bagi Manusia

- a. Dosis kecil, *flavon* bekerja sebagai stimulan pada jantung, hesperidin mempengaruhi pembuluh darah kapiler.
- b. *Flavon* terhidroksilasi bekerja sebagai diuretik dan sebagai antioksidan pada lemak.

Beberapa kemungkinan fungsi *flavonoid* yang lain bagi tumbuhan adalah sebagai zat pengatur tumbuh, pengatur proses fotosintesis, sebagai zat antimikroba, anti virus dan anti insektisida. Beberapa *flavonoid* sengaja dihasilkan oleh jaringan tumbuhan sebagai respon terhadap infeksi atau luka yang kemudian berfungsi menghambat fungsi menyerang (Kristanti *et al.*, 2008).

2.4 Simplisia

2.4.1 Definisi 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 3 golongan yaitu simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan/mineral.

2.4.1.1 Simplisia Nabati

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

2.4.1.2 Simplisia Hewani

Simplisia hewani adalah simplisia hewan utuh, bagian, atau belum berupa zat kimia murni (Istiqomah, 2013).

2.4.1.3 Simplisia Mineral

Simplisia mineral adalah simplisia yang berasal dari bumi, baik telah diolah atau belum, tidak berupa zat kimia murni (Istiqomah, 2013).

2.4.2 Pengelolaan Simplisia

Proses awal pembuatan ekstrak adalah tahapan pembuatan simplisia kering (penyerbukan). Dari simplisia dibuat serbuk simplisia dengan perekatan tertentu sampai dengan 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 dikomperasi dengan penggunaan nitrogen cair. Untuk menghasilkan simplisia yang bermutu yang terhindar dari cemaran industri obat tradisional dalam mengolah simplisia sebagai bahan baku pada umumnya melakukan melakukan tahapan kegiatan sebagai berikut :

2.4.2.1 Sortasi Basah

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

simplisia dari tanah yang terikut dapat mengurangi jumlah mikroba awal (Istiqomah, 2013).

2.4.2.2 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 (Istiqomah, 2013).

2.4.2.3 Perajangan

Beberapa jenis simplisia perlu mengalami perajangan bahan simplisia dilakukan untuk memperoleh pengeringan, pengepakan, dan pengilingan. 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 (Istiqomah, 2013).

2.4.2.4 Pengeringan

Tujuannya untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu lama. Dengan mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik akan dicegah penurunan mutu atau perusak simplisia. Air yang masih tersisa pada akar 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, kelembaban udara, waktu

pengeringan, dan luas permukaan bahan. Suhu yang terbaik pada pengeringan tidak lebih dari 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 instrumen) (Istiqomah, 2013).

2.4.2.5 Sortasi Kering

Sortasi setelah pengeringan sebenarnya tahapan akhir pembuatan simplisia. Tujuan sortasi untuk memisahkan benda-benda asing seperti bahan tanaman yang tidak diinginkan atau kotoran-kotoran lainnya yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering (Istiqomah, 2013).

2.4.2.6 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 mudah bereaksi dengan bahan lain, tidak beracun, mampu melindungi bahan simplisia dari cemaran mikroba, kotoran, serangga, penguapan bahan aktif serta dari pengaruh cahaya, oksigen dan uap air (Istiqomah, 2013).

2.5 Eksrak dan Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Simplisia yang mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan senyawa yang tidak dapat larut seperti serat, karbohidrat, protein dan lain lain. Adapun metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut terdiri dari :

2.5.1 Cara Dingin

2.5.1.1 Maserasi

Maserasi merupakan penyarian secara sederhana karena dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan dan zat aktif di dalam sel dan di luar sel maka larutan didesak keluar. Peristiwa ini berulang-ulang kali terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan diluar dan didalam sel (Agustianto, 2016).

Maserasi merupakan proses perendaman sampel dengan pelarut organik yang digunakan pada temperatur ruangan. Proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi bahan alam karena dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara didalam dan diluar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan. Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam pelarut tersebut. Secara umum pelarut metanol merupakan pelarut yang paling banyak digunakan dalam proses maserasi. Metode maserasi dapat dilakukan modifikasi seperti berikut :

a. Modifikasi maserasi melingkar

Maserasi melingkar adalah penyarian yang dilakukan dengan menggunakan cairan penyari yang selalu bergerak dan menyebar (berkesinambungan) sehingga

kejenuhan cairan penyari merata. Keuntungan cara ini antara lain, aliran cairan penyari mengurangi lapisan bats, cairan penyari akan didistribusi secara seragam, sehingga memperkecil kepekatan setempat, waktu yang diperlukan lebih singkat (Agustianto, 2016).

c. Modifikasi maserasi digesti

Maserasi digesti adalah cara maserasi dengan menggunakan panas lemah, yaitu pada suhu 40-50°C. Cara ini hanya dapat dilakukan untuk simplisia yang zat aktifnya tahan terhadap pemanasan. Dengan pemanasan akan diperoleh keuntungannya lapisan-lapisan batas, daya melarutkan cairan penyari akan meningkat sehingga pemanasan tersebut mempunyai pengaruh yang sama dengan pengadukan, dan koefisien difusi berbanding lurus dengan suhu absolute dan berbanding terbalik dengan kekentalan, hingga kenaikan suhu akan berpengaruh pada kecepatan difusi (Agustianto, 2016).

d. Modifikasi maserasi melingkar bertingkat

Maserasi melingkar bertingkat sama dengan maserasi melingkar tetapi pada maserasi melingkar bertingkat dilengkapi dengan beberapa bejana penampungan sehingga tingkat kejenuhan cairan penyari setiap bejana berbeda-beda (Agustianto, 2016).

2.5.1.2 Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (exhaustive extraction) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetapan / penampungan ekstrak) yang jumlahnya 1-5 bahan (Agustianto, 2016).

2.5.2 Cara Panas

2.5.2.1 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 (Agustianto, 2016).

2.5.2.2 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 (Agustianto, 2016).

2.5.2.3 Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40 – 50°C (Agustianto, 2016).

2.5.2.4 Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam genangan air mendidih, temperatur terukur 96- 98°C) selama waktu tertentu 15-20 menit (Agustianto, 2016).

2.5.2.5 Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama >30°C dan temperatur sampai titik didih air (Agustianto, 2016).

2.5.3 Ekstrak

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

diupkan dari massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi (Agustianto, 2016).

Ekstrak dapat dikelompokan atas dasar sifatnya, antara lain :

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

2.5.3.2 Ekstrak kental adalah sediaan yang dilihat dalam keadaan dingin dan dapat dituang, kandungan airnya berjumlah sampai 30 %.

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

2.5.3.4 Ekstrak cair, ekstrak yang dibuat sedemikiannya sehingga satu bagian simplisia sesuai dengan dua bagian ekstrak cair. Proses ekstraksi dapat melalui tahap menjadi : pembuatan serbuk, pembasahan, penyarian, dan pemekatan. Sistem pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus dipilih berdasarkan kemampuan dalam melarutkan jumlah yang maksimum dari zat aktif dan yang seminimum mungkin bagi unsur yang tidak diinginkan (Istiqomah, 2013).

2.5.4 Etanol C₂H₅OH

Etanol C₂H₅OH disebut juga etil alkohol atau alkohol saja, adalah sejenis cairan yang mudah menguap, mudah terbakar, tak berwarna dan merupakan alkohol yang paling digunakan dalam kehidupan sehari-hari. Senyawa ini merupakan obat psikoaktif dan dapat ditemukan pada minum beralkohol dan termometer modern. Etanol adalah salah satu obat rekreasi yang paling tua (Anonim, 2011).

Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, kumarin, antraknon, 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 (Arista, 2008).

Farmakope Indonesia menetapkan bahwa sebagai cairan penyari adalah air, etanol, etanol-air atau eter. Etanol dipertimbangkan sebagai penyari karena lebih selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% keatas, tidak beracun, netral, absorbsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan dan panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit (Arista, 2008).

2.6 Bakteri

Bakteri adalah makhluk hidup bersel tunggal, meskipun bakteri dapat berpasang-pasang dan tiap sel hidup sendiri-sendiri. Sel tersebut merupakan sitoplasma yang nampak ber dinding tegas, akan tetapi inti selnya tidak nampak jelas. Bakteri terlalu kecil untuk dapat mengatur inti sel, bila dibandingkan dengan protozoa. Pada beberapa bakteri terlihat butir-butir kecil yang tersebar pada sitoplasma (Faradhila, 2015).

2.6.1 Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif

Bakteri gram positif adalah bakteri yang memiliki dinding sel dengan lapisan peptidoglikan yang tebal. Bakteri ini akan berwarna ungu jika diwarnai dengan pewarnaan gram, contohnya *Neisseria gonorrhoeae*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* (Faradhila, 2015).

Bakteri gram negatif adalah bakteri yang memiliki dinding sel dengan lapisan peptidoglikan yang tipis. Bakteri ini akan berwarna merah muda atau merah, jika diwarnai dengan pewarnaan gram, contohnya *streptococcus mutans* dan *Escherchia coli* (Faradhila, 2015).

2.6.2 Klasifikasi Bakteri

Berdasarkan morfologi bakteri dapat dibedakan menjadi tiga bagian yaitu :

2.6.2.1 Bentuk silindris (batang) dibedakan atas :

- a. Basil tunggal berupa batang tunggal
- b. Diplobasil berbentuk batang berganteng dua
- c. Streptobasi berupa batang bergandeng seperti rantai

2.6.2.2 Bentuk bulat (coccus)

- a. Monokokus bentuk bulat satu-satu
- b. Diplokokus bentuk bulat bergandeng dua
- c. Streptokokus bentuk bulat bergandeng seperti rantai
- d. Tetrakokus bentuk bulat terdiri dari 4 sel tersusun dalam bentuk segi 4
- e. Sarkina bentuk bulat terdiri dari atas 8 sel, tersusun dalam bentuk kubus
- f. Stafilokokus bentuk bulat tersusun seperti buah anggur

2.6.2.3 Bentuk Spiral

- a. Berbentuk spiral (tunggal, spirillum, jamak, spirilla) terdapat secara terpisah-pisah (tunggal) tetapi spesies berbeda panjang, jumlah dan amplitude spiralnya.
- b. Bentuk koma atau vibrio adalah bakteri yang ukurannya pendek dengan spiralnya yang tidak lengkap (Pratiwi, 2008).

2.6.3 Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri

2.6.3.1 Nutrisi

Nutrisi dalam media perbenihan harus mengandung seluruh elemen yang penting untuk sumber energi dan pertumbuhan selnya. Unsur-unsur tersebut adalah nitrogen, karbon, fosfor, dan mineral. Kekurangan sumber-sumber nutrisi ini dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroba hingga pada akhirnya dapat menyebabkan kematian (Pratiwi, 2008).

2.6.3.2 Suhu

Seperti halnya makhluk hidup, untuk pertumbuhan bakteri perlu suhu tertentu. Atas dasar suhu yang diperlukan untuk tumbuh, bakteri dapat dibedakan menjadi beberapa golongan yaitu sebagai berikut :

- a. Bakteri psikofil (*cold loving bacteria*) yaitu bakteri yang tumbuh pada suhu 0-20°C, dengan suhu optimum 25°C.
- b. Bakteri mesofil (*moderate temperature loving bacteria*) yaitu bakteri ini tumbuh pada suhu antara 25-40°C dengan suhu optimal 37°C, misalnya golongan bakteri patogen yang dapat menyebabkan infeksi
- c. Bakteri termofil (*heat loving bacteria*) yaitu bakteri yang tumbuh antara suhu 50-60°C.

Suhu terendah dimana bakteri dapat tumbuh disebut minimum *growth temperature* sedangkan yang tertinggi dimana bakteri dapat tumbuh dengan baik disebut *maximum growth temperature*. Suhu dimana bakteri dapat tumbuh dengan sempurna diantara kedua suhu tersebut disebut suhu optimum (Pratiwi, 2008).

2.6.3.3 pH

Untuk pertumbuhan bakteri juga memerlukan pH tertentu, namun pada umumnya bakteri memiliki jarak pH yang sempit yaitu sekitar 6,5-7,5 atau pH netral. Beberapa bakteri hidup dibawah pH 4, tetapi juga ada bakteri yang dapat hidup atau tumbuh pada pH alkalis (Pratiwi, 2008).

2.5.3.4 Tekanan osmosis

Medium yang paling cocok bagi kehidupan bakteri yaitu medium yang isotonik terhadap isi sel bakteri. Jika bakteri ditempatkan dalam suatu larutan yang hipertonic terhadap isi sel maka bakteri akan mengalami plasmolisis. Sebaliknya jika bakteri ditempatkan dalam suatu larutan yang hipotonis maka dapat menyebabkan pecahnya sel bakteri akibat cairan yang masuk kedalam bakteri tersebut (Pratiwi, 2008).

2.5.3.5 Oksigen

Berdasarkan kebutuhan terhadap oksigen, bakteri dapat dibagi beberapa golongan yaitu :

- a. Bakteri *aerob*, yaitu bakteri yang untuk pertumbuhannya membutuhkan oksigen.
- b. Bakteri *anaerob*, yaitu bakteri yang hidup bila tidak ada oksigen.
- c. Bakteri *anaerob fakultatif*, yaitu bakteri yang hidup bila ada maupun tidak ada oksigen.
- e. Bakteri *mikroaerofilik*, yaitu bakteri yang dapat tumbuh apabila ada oksigen dalam jumlah kecil (Pratiwi, 2008).

2.5.4 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri patogen yang bersifat gram positif. Klasifikasi bakteri ini adalah sebagai berikut :

Kingdom : Prokaryota

Filum	: Bacteria
Kelas	: Schizomyces
Ordo	: Eubacteriales
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: Staphylococcus aureus (Arini, 2015).

Staphylococcus aureus dapat menimbulkan penyakit pada manusia. Setiap jaringan ataupun alat tubuh dapat diinfeksi olehnya dan menyebabkan timbulnya penyakit dengan tanda-tanda yang khas, yaitu peradangan, nekrosis, dan pembentuk abses. Kuman ini berbentuk sferis, bila bergerombol dalam susunan yang tidak teratur mungkin sisinya agak rata karena tertekan. Diameter kuman antara 0,8- 1,0 mikron. Kuman ini tidak beregerak, tidak berspora dan gram positif. Jenis-jenis staphylococcus di laboratorium tumbuh dengan baik dalam kaldu biasanya pada suhu 37°C. Batas-batas suhu untuk pertumbuhan ialah 15°C dan 40°C, sedangkan suhu pertumbuhan optimum ialah 35°C. Pertumbuhan terbaik dan khas ialah pada suasana aerob, kuman ini pun bersifat anaerob fakultatif dan dapat tumbuh dalam udara yang hanya mengandung hidrogen dan pH optimum untuk pertumbuhan ialah 7,4. Pada lempeng agar, koloninya berbentuk bulat, diameter 1-2 mm, cembung, buram, mengkilat, dan konsistensinya lunak. Warna khas ialah kuning keemasan, hanya intensitas warnanya dapat bervariasi (Arini, 2015).

2.6 Antibakteri

Pada awalnya istilah yang digunakan adalah antibiosis, yang berarti substansi yang menghambat pertumbuhan hidup lain, dan berasal dari mikroorganisme. Namun pada perkembangannya, antibiosis ini disebut antibiotik dan istilah ini tidak hanya terbatas untuk substansi yang berasal dari mikroorganisme, melainkan semua substansi yang diketahui memiliki

kemampuan untuk menghalangi pertumbuhan organisme lain khususnya mikroorganisme (Pratiwi, 2008).

Antibakteri adalah obat pembasmi bakteri, khususnya bakteri yang merugikan manusia. Obat yang digunakan untuk membasmi bakteri penyebab infeksi pada manusia harus memiliki sifat toksisitas selektif mungkin. Artinya obat tersebut haruslah bersifat sangat toksik untuk bakteri, tetapi relatif tidak toksik untuk hospes. Sifat toksisitas yang absolut belum atau mungkin tidak akan diperoleh. Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibiotik dibedakan menjadi (Pratiwi, 2008) :

2.6.1 Antibiotik yang menghambat sintesis dinding sel

Antibiotik ini adalah antibiotik yang merusak lapisan peptidoglikan yang menyusun dinding sel bakteri gram positif maupun gram negatif. Contohnya penisilin, sefalosporin dan basitrasin.

2.6.2 Antibiotik yang merusak membran plasma

Membran plasma bersifat semipermeabel dan mengendalikan transpor berbagai metabolit ke dalam dan ke luar sel. Antibiotik golongan polipeptida yang berkerja dengan mengubah permeabilitas membran plasma sel bakteri. Contohnya polimiksin B dan amfoterisin B.

2.6.3 Antibiotik yang menghambat sintesis protein

Antibiotik ini 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 pembacaan mRNA dan mengakibatkan bakteri tidak mampu menyintesis protein vital untuk pertumbuhan. Contohnya eritromisin, neomisin, dan streptomisin.

2.6.4 Antibiotik yang menghambat sintesis asam nukleat (DNA/RNA)

Penghambatan pada sintesis asam nukleat berupa penghambatan terhadap transkripsi dan replikasi mikroorganisme. Contohnya rifampisin dan kuinolon.

2.6.5 Antibiotik yang menghambat sintesis metabolit esensial

Penghambatan terhadap sintesis metabolit esensial 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. Contohnya trimetoprim dan sulfametoksazol.

2.6.6 Golongan Antibiotik

Antibiotik digolongkan menjadi beberapa golongan. Penggolongan ini didasarkan pada mekanisme kerjanya dan masa kerja antibiotik. Antibiotik yang mempunyai masa kerja yang lama inilah yang mempunyai waktu paruh yang lebih lama. Beberapa golongan antibiotik tersebut antara lain :

2.6.6.1 Antibiotik Beta-Laktam

Antibiotik beta-laktam terdiri dari berbagai golongan obat yang mempunyai struktur cincin beta-laktam, yaitu penisilin, sefalosporin, monobaktam, karbapenem, dan inhibitor beta-laktamase. Obat-obat antibiotik beta-laktam umumnya bersifat bakterisid, dan sebagian besar efektif terhadap organisme gram positif dan negatif. Antibiotik beta-laktam mengganggu sintesis dinding sel bakteri, dengan menghambat langkah terakhir dalam sintesis peptidoglikan, yaitu heteropolimer yang memberikan stabilitas mekanik pada dinding sel bakteri (Misriana, 2013).

Amoksisilin adalah antibiotik yang termasuk golongan penisilin. Penisilin merupakan salah satu bakterisid yang mekanisme kerjanya menghambat pembentukan dinding dan permeabilitas membran sel. Pengguna penisilin tergantung pada berat ringanya penyakit dan preparat yang digunakan. Daerah kerjanya yaitu mencakup kokus gram positif serta *Staphylococcus*, *Streptococcus* sedang basil gram negatif yakni, *Basil Clostridium*, *Basil Anthrak* (Pratiwi, 2008).

Amoksisilin merupakan penisilin semisintetik yang stabil terhadap asam atau amidase tetapi tidak tahan terhadap enzim β -lactamase. Amoksisilin stabil terhadap asam karena itu dapat digunakan secara oral. Amoksisilin mempunyai keaktifan melawan gram positif dan bakteri gram negatif dan merupakan antibiotika spektrum luas (Pratiwi, 2008).

2.6.6.2 Tetrasiklin

Tetrasiklin mempunyai spektrum antibakteri yang luas, efektif terhadap kuman gram positif maupun gram negatif, mencakup spektrum *penisilin*, *streptomisin* dan *kloramfenikol*. Selain itu juga dapat menghambat pertumbuhan riketsia, amuba, mikroplasma dan klamidia. Tetrasiklin termasuk antibiotik yang terutama bersifat bakteriostatik. Bakteri yang sensitif terhadap tetrasiklin antara lain : *β -hemolitik Streptolocci*, *non hemolytic Streptolocci*, *Clostridia*, *Brucella* dan *haemophylus*. Sedangkan untuk *Escherichia coli*, *Pasteurella*, *Salmonella* dan *Corynebacterium* bersifat agak atau cukup sensitif terhadap tetrasiklin.

Mekanisme kerja dari tetrasiklin yaitu dengan cara menghambat sintesis protein ribosom sub unit 70s dan ribosom sub unit 80s. Efek tetrasiklin mempengaruhi tRNA-ribosom terlihat dengan terhambatnya ikatan aminosial-tRNA pada reseptor penerima pada ribosom. Tetrasiklin tidak langsung menghambat penyusunan peptida atau tahap translokasi, tetapi menghambat terminasi rantai peptida pada kodon terminasi (Pratiwi, 2008).

Golongan tetrasiklin termasuk antibiotik yang terutama bersifat bakteriostatik dan bekerja dengan jalan menghambat sintesis protein kuman. Tetrasiklin memperlihatkan spektrum antibakteri luas meliputi kuman gram positif dan gram negatif, *aerobik* dan *anerobik*. Resistensi terhadap satu jenis tetrasiklin biasanya disertai resistensi terhadap semua tetrasiklin lainnya, kecuali minosklin pada resistensi *Staphylococcus aureus* dan doksisisiklin pada resistensi *β. Fragilis* (Pratiwi, 2008).

Sifat kimia yang dimiliki tetrasiklin yaitu, semua tetrasiklin berwarna kuning dan bersifat amfoter, garamnya dengan klorida/fosfat paling banyak digunakan. Larutan garam tersebut hanya stabil pada pH < 2 dan terrain pada pH lebih tinggi. Begitu pula kapsul yang disimpan ditempat panas dan lembab mudah terurai, terutama dibawah pengaruh cahaya. Produk pengurainya epi- dan anhidrotetrasiklin bersifat sangat toksis bagi ginjal. Oleh karena itu, suspensi atau kapsul tetrasiklin yang sudah tersimpan lama atau sudah berwarna kuning tua sampai coklat tidak boleh diminum lagi (Tjay & Rahardja, 2010).

2.6.6.3 Aminoglikosida

Aminoglikosida dihasilkan oleh jenis-jenis fungi *Streptomyces* dan *Micromonospora* semua senyawa dan turunan semi-sintesisnya mengandung dua atau tiga gula amino di dalam molekulnya yang saling terikat secara 26 glukosidis. Dengan adanya gugusan-amino, zat-zat ini bersifat basa lemah dan garam sulfatnya yang digunakan dalam terapi mudah larut dalam air (Tjay & Rahardja, 2010).

Gentamisin merupakan antibiotika golongan amino glikosida. Mekanisme kerja gentamisin adalah dengan mengikat secara inersibel sb unit ribosom 30s dari kuman, yaitu dengan menghambat sintesis protein dan menyebabkan kesalahan translokasi kode genetik. Gentamisin bersifat bakterisidal. Gentamisin efektif terhadap berbagai strain kuman gram negatif termasuk spesies *Brucella*, *alymmatobaterium*, *ompulobacter*, *Citribacter*, *Escherichia Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Providencia*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Vibrio* dan *Yersinia* (Wasitaningrum, 2009).

Terhadap mikroorganisme gram positif, gentamisin juga efektif terutama terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Listeria monocytogenes* serta beberapa strain *Staphylococcus epidermis*, tetapi gentamisin tidak efektif terhadap *enterococcus* dan *Streptococcus* (Pratiwi, 2008).

2.6.6.4 Sefalosporin

Aktivitas antibiotik ini bersifat bakterisid dengan spektrum kerja luas terhadap banyak kuman gram positif dan gram negatif, termasuk *E. Coli*, *Klebsiella* dan *Poteus*. Terhadap *Pseudomonas* dan *Bacterosides* hanya derivat-derivat baru

berdaya, sedangkan *Streptococcus fecalis* adalah resisten terhadap semua sefalosporin. Mekanisme kerjanya berdasarkan perintangannya sintesis dinding sel (Pratiwi, 2008).

Berdasarkan khasiat antimikrobanya dan resistensinya terhadap β -laktamase dapat digolongkan dalam dua golongan. Golongan pertama aktif terhadap cocci gram positif, tidak berdaya pada *Pseudomonas*. Resistensi terhadap β -laktamase bervariasi dan agak ringan. Golongan kedua, lebih aktif terhadap *E. Coli*, *Klebsiella* dan *Proteus mirabilis*. Juga berdaya pada gonococci termasuk yang resisten untuk amoksisilin (lebih kuat tahan laktamase). Khasiatnya terhadap gram negatif, lebih rendah, terutama sefuroksim (Pratiwi, 2008).

Obat ini berguna untuk mengobati penyakit karena gangguan saluran kemih dan saluran nafas, pada *gonorrhoe* (kencing nanah) terutama *sefuroksim*, pada infeksi ginekologi oleh bakteri *anaerob* (sefektisin) dan infeksi akibat *Pseudomonas* pada umumnya (Pratiwi, 2008).

2.6.6.5 Kloramfenikol

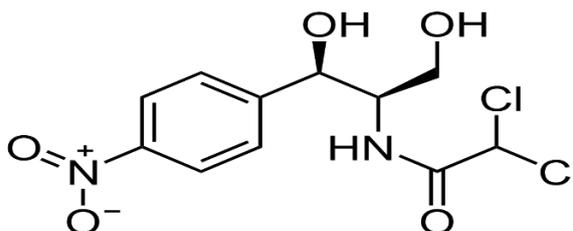
Kloramfenikol berupa serbuk hablur halus berbentuk jarum atau lempeng memanjang putih hingga putih kelabu atau putih kekuningan. Kloramfenikol sukar larut pada air tapi mudah larut pada etanol, propilen glikol, aseton dan etil asetat kloramfenikol adalah zat kimia yang mula-mula dihasilkan oleh biakan *streptomyces venezuelae* sekarang telah dapat dihasilkan secara sintetik. Kristal kloramfenikol merupakan senyawa stabil yang dengan cepat diserap oleh dinding saluran pencernaan dan disebarkan ke jaringan serta cairan tubuh, termasuk susunan saraf pusat dan cairan

cerebrospinal obat ini dapat menembus ke dalam sel dengan baik, sebagian besar obat ini dinonaktifkan didalam hati dengan cara konjugasi dengan asam glukuronat atau direduksi menjadi arilamin yang tidak aktif (Pratiwi, 2008). Kloramfenikol merupakan penghambat sintesis protein yang kuat pada mikroorganisme . Obat ini menghalangi pelekatan asam amino pada rantai peptide yang baru timbul pada unit 50s pada ribosom, dengan mengganggu daya kerja peptidil transferase. Kloramfenikol pada dasar bersifat bakteriostatik spectrum dosis serta kadarnya dalam darah mirip dengan tetrasiklin. Resisntensi kloramfenikol merupakan akibat dari perusakan obat oleh suatu enzim yang dikendalikan oleh plasmid (Pratiwi, 2008).

Kloramfenikol merupakan obat pilihan pada infeksi *Staphylococcus*, *Salmonella simtomatik*, misal demam tifoid, infeksi *H. Influeza* oleh strain penghasil β -laktamase, infeksi meningokokus pada penderita yang hipersensitif terhadap penisilin, infeksi *anaerob* atau gabungan pada sistem saraf pusat, infeksi riketsia berat, penggantian tetrasiklin (Pratiwi, 2008).

2.6.7 Antibiotik Pemanding

Antibiotik yang di gunakan sebagai pemanding adalah Kloramfenikol



Gambar 2.3 Struktur Kloramfenikol

Pemerian	:	hablur halus berbentuk jarum atau Lempengan memanjang, putih hingga putih kelabu atau putih kekuningan, larutan praktis netral atau larutan agak asam (Rahmadani, 2015).
Kelarutan:		sukar larut dalam air, mudah larut dalam etanol, dalam propilenglikol, dalam aseton dan dalam etil asetat (Rahmadani, 2015).
Mekanisme aksi:		kloramfenikol berkerja menghambat sintesis protein pada sel bakteri. Kloramfenikol mengikatkan secara reversibel dengan unit ribosom 50s, sehingga mencegah ikatan secara spesifik dengan akseptor (tempat ikatan awal dari amino asil t-RNA) atau pada bagian peptidil, yang merupakan tempat ikatan kritis untuk perpanjangan rantai peptida (Rahmadani, 2015).

2.7 Media

Media pertumbuhan mikroorganisme adalah suatu bahan yang terdiri atas campuran nutrisi (nutrient) yang digunakan oleh suatu mikroorganisme untuk tumbuh dan berkembang biak pada media tersebut. Mikroorganisme memanfaatkan nutrisi pada media berupa molekul-molekul kecil yang dirakit untuk menyusun komponen sel-nya dengan media pertumbuhan juga bisa digunakan untuk mengisolasi mikroorganisme, identifikasi dan membuat kultur murni. Komposisi media pertumbuhan dapat dimanipulasi untuk tujuan isolasi dan identifikasi mikroorganisme tertentu sesuai dengan tujuan masing-masing pembuatan suatu media. Media adalah suatu bahan yang terdiri dari campuran zat-zat hara (nutrient) yang berguna untuk membiakan mikroba. Berbagai macam media dapat dilakukan isolasi,

perbanyak, pengujian sifat-sifat fisiologis dan perhitungan jumlah mikroba (Porang, 2014).

2.7.1 Macam-macam media

Media untuk kultur bakteri dalam mikrobiologi ada banyak jenisnya dan dapat menjadi tiga kelompok besar berdasarkan bentuk, komposisi/susunannya.

2.7.1.1 Berdasarkan Bentuk

Bentuk media ada tiga macam yang dapat dibedakan dari ada atau tidaknya bahan tambahan berupa bahan pematat seperti agar-agar atau gelatin. Bentuk media tersebut yaitu :

a. Media padat

Media padat merupakan media yang mengandung banyak agar atau zat pematat kurang lebih 15 % agar sehingga media menjadi padat. Media ini dapat dibedakan menjadi tiga jenis menurut bentuk dan wadahnya yaitu, media tegak, media miring, dan media lempeng. Media tegak menggunakan tabung reaksi yang ditegakkan sebagai wadahnya, media miring menggunakan tabung reaksi yang dimiringkan, sedangkan media lempeng menggunakan petridish (plate) sebagai wadahnya. Media ini umumnya digunakan untuk pertumbuhan koloni bakteri atau kapang. Kalau ke dalam media ditambahkan antara 10-15 gram tepung agar-agar per 1000 ml media. Jumlah tepung agar-agar yang ditambahkan tergantung kepada jenis atau kelompok mikroba yang dipelihara. Kalau kedalam media tidak ditambahkan zat pematat, umumnya dipergunakan untuk pembiakan mikroalga tetapi juga mikroba lain, terutama bakteri dan ragi. Ada yang memerlukan kadar air tinggi sehingga jumlah

tepung agar-agar rendah. Tetapi ada pula yang memerlukan kandungan air rendah sehingga penambahan tepung agar-agar harus sedikit. Media padat umumnya dipergunakan untuk bakteri, ragi, jamur dan kadang-kadang juga mikroalga (Porang, 2014).

b. Media Semi Padat

Media semi padat atau semi cair merupakan media yang mengandung agar kurang dari yang seharusnya kurang lebih 0,3 %-0,4 % sehingga media menjadi kenyal, tidak padat dan tidak begitu cair. Umumnya digunakan untuk pertumbuhan mikroba yang banyak memerlukan air dan hidup anaerobik dan untuk melihat pergerakan mikroba. Kalau penambahan zat pematid hanya 50 % atau kurang dari yang seharusnya. Ini umumnya diperlukan untuk pertumbuhan mikroba yang banyak memerlukan kandungan air dan hidup anaerobik atau fakultatif (Porang, 2014).

c. Media cair

Media cair merupakan media yang tidak ditambahi bahan pematid, umumnya digunakan untuk pertumbuhan mikroalga. Kalau ke dalam media tidak ditambahkan zat pematid, umumnya dipergunakan untuk pembiakkan mikroalga tetapi juga mikroba lain, terutama bakteri dan ragi (Porang, 2014).

2.7.1.2 Berdasarkan Komposisi/Susunannya

Berdasarkan komposisi media di bagi atas :

- a. Media alami/non sintesis merupakan media yang disusun dari bahan-bahan alami dimana komposisinya yang tidak dapat diketahui secara pasti dan biasanya langsung diekstrak dari bahan dasarnya seperti :

kentang, tepung, daging, telur, ikan, sayur, dsb.
Contohnya: *Tomato juice* agar (Porang, 2014).

- b. Media semi sintesis merupakan media yang disusun dari bahan-bahan alami dan bahan-bahan sintesis. Contohnya: kaldu nutrisi disusun dari pepton 10,0 g, ekstrak daging 10,0 g, NaCl 5,0 g, dan aquadest 1000 ml (Porang, 2014).
- c. Media sintesis, yaitu media yang disusun dari senyawa kimia yang jenis dan takarannya diketahui secara pasti. Contohnya : *Mac Conkey* agar (Porang, 2014).

2.7.1.3 Media yang sering digunakan secara umumnya dalam mikrobiologi

a. *Lactose Broth*

Lactose broth digunakan sebagai media untuk mendeteksi kehadiran koliform dalam air, makanan, dan produk susu, sebagai kaldu pemer kaya (*pre-enrichment broth*) untuk *Salmonellae* dan dalam mempelajari fermentasi laktosa oleh bakteri pada umumnya. Pepton dan ekstrak beef menyediakan nutrisi esensial untuk metabolisme bakteri. Laktosa menyediakan sumber karbohidrat yang dapat difermentasi untuk organisme koliform (Porang, 2014).

b. EMBA (*Eosin Methylene Blue Agar*)

Media *Eosin methylene blue* mempunyai keistimewaan mengandung laktosa dan berfungsi untuk memilah mikroba yang memfermentasikan laktosa seperti *S. Aureus*, *P. Aeruginosa*, dan *Salmonella*. Mikroba yang memfermentasi laktosa menghasilkan koloni dengan inti berwarna gelap dengan kilap logam. Sedangkan mikroba lain yang dapat tumbuh koloninya tidak berwarna (Porang, 2014).

c. *Nutrient Agar*

Nutrient agar adalah medium umum untuk uji air dan produk dairy. NA juga digunakan untuk pertumbuhan mayoritas dari mikroorganisme yang tidak selektif, dalam artian mikroorganisme heterotof. Media ini merupakan sederhana yang dibuat dari ekstrak beef, pepton, dan agar. Na merupakan salah satu media yang umum digunakan dalam prosedur bakteriologi seperti uji biasa dari air, sewage, produk pangan, untuk membawa stok kultur, untuk pertumbuhan sampel pada uji bakteri, dan untuk mengisolasi organisme dalam kultur murni (Porang, 2014).

d. *Nutrient Broth*

Nutrient broth merupakan media untuk mikroorganisme yang berbentuk cair. Intinya sama dengan nutrient aga (Porang, 2014).

e. *MRSA (deMann Rogosa Sharpe Agar)*

MRSA merupakan media yang diperkenalkan oleh De Mann, Rogosa, dan Shape (1960) untuk memperkaya, menumbuhkan, dan mengisolasi jenis *Lactobacillus* dari seluruh jenis bahan. MRS agar mengandung polysorbat, asetat, magnesium, dan mangan yang diketahui untuk beraksi/bertindak sebagai faktor pertumbuhan bagi *lactobacillus*, sebaik nutrien diperkaya (Porang, 2014).

f. *Trypticase Soy Broth (TSB)*

TSB adalah media broth diperkaya untuk tujuan umum, untuk isolasi, dan penumbuhan bermacam mikroorganisme. Media ini banyak digunakan untuk isolasi bakteri dari spesimen laboratorium dan akan mendukung pertumbuhan mayoritas bakteri patogen.

Media TSB mengandung kasein dan pepton kedelai yang menyediakan asam amino dan substansi nitrogen lainnya yang membuatnya menjadi media bernutrisi untuk bermacam mikroorganisme (Porang, 2014).

g. *Plate Count Agar (PCA)*

PCA digunakan sebagai medium untuk mikroba aerobik dengan inokulasi di atas permukaan. Media PCA ini baik untuk pertumbuhan total mikroba (semua jenis mikroba) karena dalamnya mengandung komposisi *casein enzymic hydrolysate* yang menyediakan asam amino dan substansi nitrogen kompleks lainnya serta ekstrak yeast mensuplai vitamin B kompleks (Porang, 2014).

h. *Potato Dextrose Agar (PDA)*

PDA digunakan untuk menumbuhkan atau meidentifikasi yeast dan kapang. Dapat juga digunakan untuk enumerasi yeast dan kapang dalam suatu sampel atau produk makana. PDA cocok untuk pertumbuhan jamur. PDA mengandung sumber karbohidrat dalam jumlah cukup yaitu terdiri dari 20 % ekstrak kentang dan 2% glukosa sehingga baik untuk pertumbuhan kapang dan khamir tetapi kurang baik untuk pertumbuhan bakteri (Porang, 2014).

2.7.2 Jenis-jenis Media

Menurut Sulastris Porang (2014) Berdasarkan fungsinya, media dapat dibedakan menjadi 10 yaitu :

2.7.2.1 Media Basal (media dasar) adalah media yang digunakan sebagai bahan dasar untuk membuat media lain yang lebih kompleks. Media ini dapat mendukung pertumbuhan

hampir semua jenis mikroba, contohnya adalah nutrient broth, kaldu pepton.

- 2.7.2.2 Media diferensial adalah media yang bila ditumbuhi oleh mikroba yang berbeda, mikroba tersebut akan tumbuh dengan ciri khusus sehingga dapat dibedakan. Contohnya : Media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), Media *Sulfit Indol Motility* (SIM). Dan media diefferensial merupakan media yang di tambahkan bahan-bahan kimia atau reagenesia tertentu yang menyebabkan mikroba yang tumbuh memperlihatkan perubahan-perubahan spesifik sehingga dapat dibedakan dengan jenis lainnya.
- 2.7.2.3 Media selektif adalah media yang memungkinkan suatu jenis mikroba tumbuh dengan pesat, sementara jenis mikroba yang lain terhambat. Contohnya Media *Salmonella Shigella Agar* (SSA), *Thiosulphate CitrateBile Salt* (TCBS). Dan media selektif, merupakan media yang ditambahkan bahan-bahan tertentu yang akan menghambat pertumbuhan mikroba yang tidak diinginkan yang ada dalam suatu spesimen. Inhibitor yang digunakan berupa antibiotik, garam dan bahan-bahan kimia lainnya.
- 2.7.2.4 Media diperkaya (enrichment) adalah media yang dirancang untuk mendukung pertumbuhan mikroorganisme. Media tersebut memiliki konstituen nutrisi yang mendorong pertumbuhan mikroba tertentu. Contohnya : kaldu selenit, atau tetrationsat untuk memisahkan bakteri *Salmonella thyposa* dari tinja. Dan media diperkaya (enrichement media), media yang ditambahkan bahan-bahan tertentu untuk menstimulasi pertumbuhan mikroba yang jumlahnya sedikit dalam suatu campuran berbagai mikroba contoh chocolate media dan Yeast-Extract-poptasium Nitrat Agar.

- 2.7.2.5 Pengkayaan adalah media ini umumnya mengandung bahan-bahan tertentu yang disatu pihak dapat menghambat pertumbuhan bakteri tertentu, tetapi dilain pihak sebaliknya dapat menunjang pertumbuhan bakteri tertentu lainnya, misalnya media muller-kauffman mengandung natrium tetrationsat yang menunjang pertumbuhan Salmonella tetapi menghambat pertumbuhan Escherichia.
- 2.7.2.6 Media uji (identifikasi) adalah media yang digunakan untuk identifikasi mikroba, medium litmus milk. Umumnya ditambah dengan substansi tertentu yang menjadi indikator.
- 2.7.2.7 Medium umum, media yang ditambahkan bahan-bahan yang bertujuan menstimulasi pertumbuhan mikroba secara umum. Contoh Nutrien Agar (NA) untuk menstimulasi pertumbuhan bakteri, Potato Dextose Agar (PDA) untuk menstimular pertumbuhan fungi.
- 2.7.2.8 Medium khusus (Spesifik), merupakan medium untuk menentukan tipe pertumbuhan mikroba dan kemampuannya untuk mengadakan perubahan-perubahan kimia tertentu misalya, medium tetes tebu untuk *Saccharomyces cerevisiae*.
- 2.7.2.9 Medium penguji (Assay medium), yaitu medium dengan susunan tertentu yang digunakan untuk pengujian senyawa-senyawa tertentu dengan bantuan bakteri misalnya medium untuk menguji vitamin-vitamin, antibiotika dan lain-lain.
- 2.7.2.10 Medium perhitungan jumlah mikroba yaitu medium spesifik yang digunakan untuk menghitung jumlah mikroba dalam suatu bahan, misalnya medium untuk menghitung jumlah bakteri *E. Coli* air sumur.

2.8 Metode Uji Bakteri

2.8.1 Metode difusi

2.8.1.1 Metode *disc diffusion*

Metode *disc diffusion* untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Piringan yang berisi agen antimikroba diletakan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media agar (Pratiwi, 2008).

2.8.1.2 *E-test*

Metode *E-test* digunakan untuk mengestimasi MIC (*minimum inhibitory concentration*) atau KHM (*kadar hambat minimum*), yaitu konsentrasi minimal suatu agen antimikroba untuk dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Pada metode ini digunakan strip plastik yang mengandung agen antimikroba dari kadar terendah hingga tertinggi dan diletakan pada permukaan media agar yang telah ditanami mikroorganisme. Pengamatan dilakukan pada area jernih yang ditimbulkannya yang menunjukkan kadar agen mikroba yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme (Pratiwi, 2008).

2.8.1.3 *Ditch-plate technique*

Pada metode ini sampel uji berupa agen antimikroba yang diletakan pada parit yang dibuat dengan cara memotong media agar dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur dan mikroba uji (maksimum 6 macam) digoreskan kearah parit yang berisi aen antimikroba (Pratiwi, 2008).

2.8.1.4 *Cup-plate technique*

Metode ini serupa dengan disc diffusion, dimana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antimikroba yang akan diuji (Pratiwi, 2008).

2.8.1.5 *Gradient-plate technique*

Pada metode ini konsentrasi agen antimikroba pada media agar secara teroretis bervariasi dari 0 hingga maksimal. Media agar dicairkan dan larutan uji ditambahkan. Campuran kemudian dituang ke dalam cawan petri dan diletakan dalam posisi miring. Nutrisi kedua selanjutnya dituang di atasnya. Plate diinkubasi selama 24 jam untuk memungkinkan agen antimikroba berdifusi dan permukaan media mengering. Mikroba uji (maksimal 6 macam) digoreskan pada arah mulai dari arah mulai konsentrasi tinggi ke rendah. Hasil diperhitungkan sebagai panjang total pertumbuhan mikroorganisme maksimum yang mungkin dibandingkan dengan panjang pertumbuhan hasil goresan.

Bila :

X = Panjangtotal pertumbuhan mikroorganismen
yang mungkin

Y = Panjang pertumbuhan actual

C = Panjang pertumbuhan actual

Maka konsentrasi hambatan adalah : [(X.Y)]: C mg/mL atau $\mu\text{g}/\text{Ml}$ yang perlu diperhatikan adalah dari hasil perbandingan yang didapat dari lingkungan padat dan cair, faktor difusi agen antimikroba dapat mempengaruhi keseluruhan hasil pada media padat (Pratiwi, 2008).

2.8.2 Metode dilusi

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

2.8.2.1 Metode dilusi cair/ *broth dilution test (serial dilution)*

Metode ini mengukur MIC (*minimum inhibitory concentration* atau *kadar hambat minimum*, KHM) dan MBC (*minimum bactericidal concentration* atau *kadar bunuh minimum* KBM). Cara 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 kultur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba, dan dinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai KBM (Pratiwi, 2008).

2.8.2.2 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 mikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Pratiwi, 2008).

2.9 Metode Disc Diffusion

Metode *disc diffusion* untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Piringan yang berisi agen antimikroba diletakan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media agar (Pratiwi, 2008).

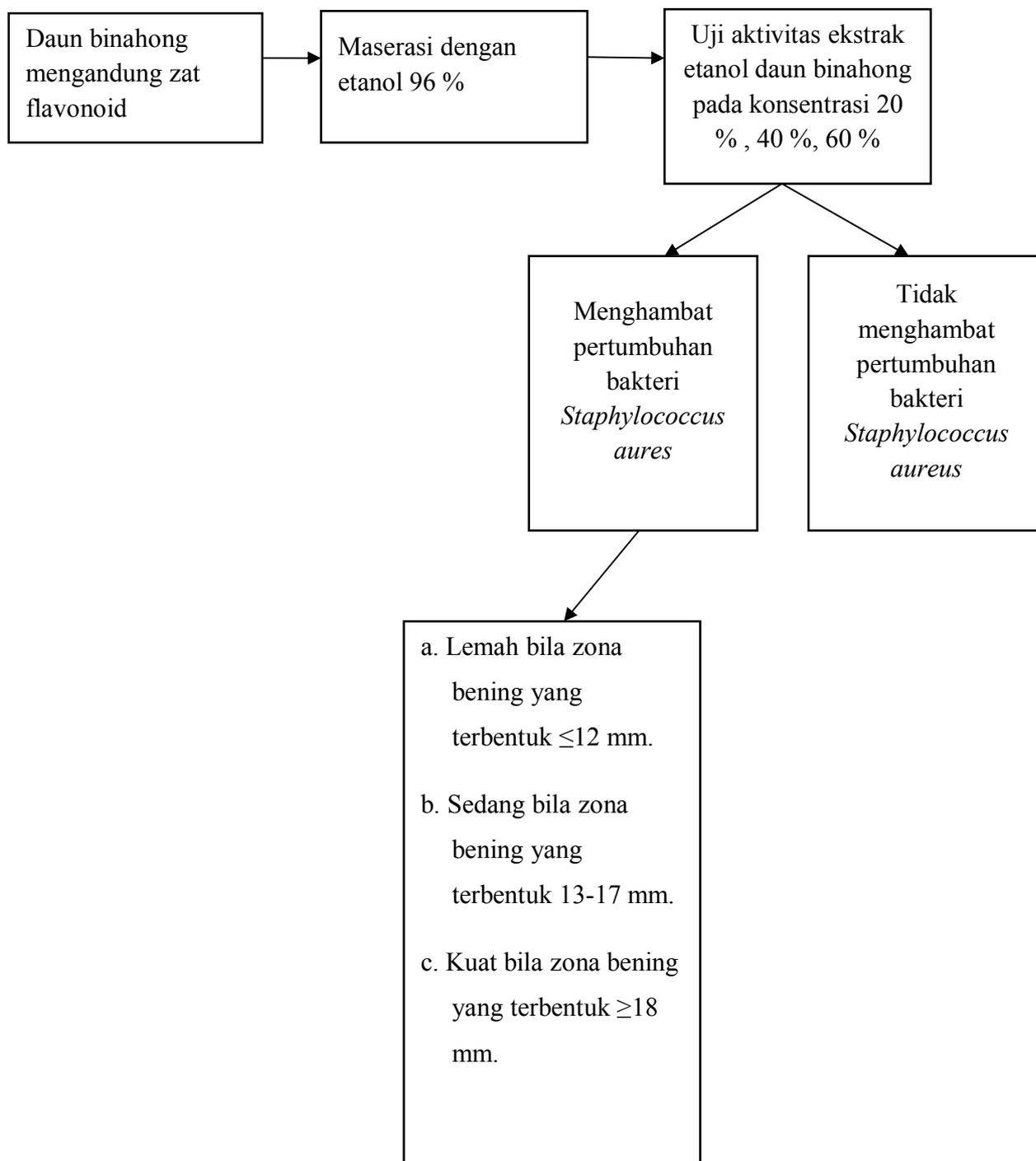
Cara ini merupakan cara yang paling sering digunakan untuk menentukan kepekaan kuman terhadap berbagai macam obat – obatan. Pada cara ini, digunakan suatu cakram kertas saring (paper disc) yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antimikroba. Kertas saring tersebut kemudian diletakkan pada lempeng agar yang telah diinkubasi pada waktu tertentu dan suhu tertentu, sesuai dengan kondisi optimum dan mikroba uji. Pada umumnya, hasil yang didapat bisa diamati setelah inkubasi selama 18 – 24 jam dengan suhu 37°C. Hasil pengamatan yang diperoleh berupa ada atau tidak nya daerah bening yang terbentuk disekeliling kertas cakram yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri (Prayoga, 2013).

Tabel 2.1 Menjelaskan efektivitas daya hambat suatu golongan antibiotik menurut CLSI (*Clinical and Laboratory Standard Institute*) (2017).

Tabel 2.1 Daya Hambat Antibakteri

Diameter Zona Hambat	Respon Hambatan Pertumbuhan
≤12 mm	Lemah
13-17 mm	Sedang
≥18 mm	Kuat

2.10 Kerangka konsep penelitian



Gambar 2.3 Kerangka konsep