

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Jerawat

1. Definisi dan klasifikasi jerawat

Jerawat adalah keadaan kulit yang tak normal dan diakibatkan karena folikel rambut dan pori-pori kulit tersumbat dengan kelenjar minyak. Jerawat bisa timbul di area wajah, dada, dan lengan atas. Sebagian besar remaja mengalami masalah jerawat. Jerawat ringan (*acne minor*) merupakan wujud dari jerawat ringan dan menyerang hingga 85% remaja. 15% remaja mengalami jerawat parah (*acne mayor*), sangat parah sehingga perlu ke dokter. Pada perempuan, jerawat cenderung muncul paling sering antara usia 14 dan 17 tahun, sementara pada laki-laki, biasanya terjadi antara usia 16 dan 19 tahun. Selama masa pubertas, hormon androgen mengalami peningkatan dalam sirkulasi darah, hal tersebut mengakibatkan hiperplasia dan pembesaran kelenjar sebacea (Narulita, 2017).

Berdasarkan tingkat keparahannya, jerawat dibedakan menjadi 3 jenis yaitu (Hidayah D, 2016)

a. Ringan, meliputi :

1) *Whitehead*

Merupakan kondisi di mana bintil kecil muncul, kadang-kadang dengan pori-pori terbuka atau tertutup, akibat dari penumpukan sebum dan bakteri di folikel kulit.

2) *Blackhead*

Kondisi di mana komedo tertutup berkembang saat folikel terbuka di permukaan kulit, mengalami oksidasi pigmen kulit yang bercampur dengan sebum, sehingga berubah menjadi warna coklat atau hitam.

b. Sedang, meliputi:

1) *Papule*

Ini terjadi ketika lapisan folikel rambut mengalami kelainan, yang menyebabkan leukosit bocor dan peradangan terjadi pada lapisan kulit yang lebih dalam. Papula adalah benjolan lunak berwarna merah tanpa adanya kepala.

2) *Pustule*

Kondisi ini terjadi saat leukosit bergerak ke permukaan kulit. Pustula adalah benjolan merah dengan pus yang berwarna putih atau kuning di tengahnya, berisi leukosit.

3) *Nodule*

Kondisi ini terjadi ketika folikel rambut pecah di bagian pangkalnya dan membentuk benjolan radang yang besar, yang dapat terasa nyeri jika disentuh. Benjolan ini sering kali muncul dari serpihan rambut yang mengalami peradangan berulang.

c. Berat, meliputi

1) Abses

Kondisi ini terjadi saat papula atau pustula bersatu dan terbentuk abses yang meradang, kemerahan, dan terasa sakit. Abses ini cenderung mengeluarkan zat seperti darah, nanah, dan sebum. Proses penyembuhannya dapat membentuk bekas luka yang signifikan.

2) Sinus

Merupakan jerawat yang parah, sering dijumpai pada area rahang, sisi hidung, dan leher. Gejalanya berupa garis linier sepanjang 10 cm dengan beberapa segmen sinus yang menghubungkan permukaan kulit dengan lapisan dalam. Perawatannya memerlukan waktu bertahun-tahun dan dapat kambuh jika terjadi peradangan. Penyembuhannya biasanya melibatkan prosedur pembedahan.

2. Penyebab

Ada tiga penyebab timbulnya jerawat (Miratunnisa et al., 2015):

a. Sekresi kelenjar sebaseus yang hiperaktif

Lemak diproduksi oleh kelenjar sebasea di dalam kulit, kemudian dibawa ke permukaan kulit melewati saluran sebaceous dan memasuki pori-pori kulit. Sintesis lemak yang berlebihan diakibatkan oleh aktivitas berlebihan kelenjar sebasea, yang mengakibatkan peningkatan kadar lemak di kulit dan membuat kulit menjadi berminyak. Ketika sintesis lipid tidak sejalan dengan pengeluaran yang memadai, akibatnya terjadi penumpukan dan penyumbatan pori-pori. Penyumbatan sebum menyebabkan inflamasi dan pembentukan jerawat.

b. Hiperkeratosis pada infundibulum rambut

Hiperkeratosis terjadi ketika keratinosit menumpuk di dasar folikel rambut, menyebabkan peningkatan ketebalan dan penyumbatan, yang dapat menyebabkan pembentukan komedo. Penyumbatan pori-pori oleh folikel rambut yang tersumbat menghambat pengeluaran sebum, yang mengakibatkan pertumbuhan bakteri jerawat dan peradangan. Di samping itu, paparan sinar UV dapat memperburuk jerawat dengan meningkatkan proses keratinisasi karena efek langsung dari sinar matahari.

c. Infeksi bakteri

Sekresi berlebihan dan hiperkeratosis rambut menyebabkan akumulasi sebum. Sebum yang menumpuk menjadi sumber nutrisi bagi perkembangan asam Propionibacteria. Bakteri ini menghasilkan enzim lipase yang menguraikan trigliserida dalam sebum jadi asam lemak bebas, yang kemudian memicu inflamasi dan pembentukan jerawat. Infeksi sekunder dapat terjadi akibat bakteri *Staphylococcus cholermidis* dan *Staphylococcus aureus*, namun kondisinya akan lebih serius jika sudah terinfeksi sebelumnya.

Hal itu bisa menyebabkan jerawat secara individual, tetapi bisa juga saling berkaitan dalam proses perkembangan jerawat. Faktor lain yang memperburuk jerawat adalah:

1) Hormon

Produksi berlebih hormon testosteron merangsang aktivitas tinggi kelenjar sebaceous, yang pada masa pubertas dapat menyebabkan jerawat muncul di area seperti punggung, leher, dan dada. Pada perempuan, selain pengaruh hormon androgen, peningkatan hormon luteinizing menjelang menstruasi juga bisa menjadi penyebab timbulnya kondisi ini (Rufah, 2020).

2) Makanan

Kemunculan jerawat pada seseorang dapat dipengaruhi oleh makanan tinggi lemak atau makanan cepat saji. Hal tersebut dapat meningkatkan risiko terjadinya jerawat (Syahputra et al., 2021).

3) Obat-obatan

Penggunaan kortikosteroid dapat mengakibatkan kelenjar sebaceous memproduksi secara berlebihan sehingga menimbulkan jerawat. (Rufah, 2020).

4) Psikis

Stres secara tidak langsung bisa menimbulkan jerawat karena meningkatkan rangsangan pada kelenjar sebaceous (Rufah, 2020).

5) Kosmetik

Beberapa produk kecantikan bisa mengakibatkan jerawat, seperti alas bedak, pelembap, tabir surya, dan krim malam, terutama jika berisi bahan-bahan yang dapat menyebabkan jerawat. Bahan-bahan seperti lanolin, petrolatum, minyak atsiri, asam oleat, butil stearat, lauril alkohol, dan pewarna seringkali ditemukan dalam krim wajah (Arifiyanti, 2015).

3. Pengobatan

Memperbaiki masalah folikel, mengontrol produksi sebum, mencegah koloni *Propionibacterium acnes* berkembang banyak atau produk metabolismenya, serta mengurangi inflamasi kulit adalah strategi untuk mencegah jerawat. Penggunaan antibiotik seperti eritromisin, klindamisin, dan tetrasiklin dapat mengurangi *Propionibacterium acnes*, akan tetapi dapat menyebabkan peningkatan resistensi bakteri terhadap antibiotik (Hafsari et al., 2015).

B. Tanaman Anggur

1. Taksonomi

Berikut adalah taksonomi dari tanaman anggur (Santoso et al., 2020):

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Subdivisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Subkelas	: <i>Rosidae</i>

Ordo : *Rhamnales*
Famili : *Vitaceae*
Genus : *Vitis*
Spesies : *Vitis vinifera L*



Sumber: (Sudarminto, 2015)

Gambar 1 Tanaman Anggur

2. Daerah tumbuh

Anggur merupakan tanaman merambat yang memiliki ciri khas dalam produksi buah yang melimpah melalui ranting-rantingnya. Tanaman ini dapat tumbuh dan dikembangkan baik di daerah beriklim dingin, subtropis, maupun tropis. Awalnya, anggur tumbuh di daerah Eropa, Amerika Utara, Islandia, dan wilayah dingin lain yang dekat dengan Kutub Utara serta Greenland, kemudian menyebar ke berbagai wilayah Asia termasuk Indonesia. Di Indonesia, varietas anggur lokal dianggap memiliki nilai komersial yang penting (Mukhriani, dkk. 2019).

3. Morfologi

Anggur adalah tumbuhan buah yang tumbuh sebagai semak merambat dan termasuk dalam keluarga *Vitaceae*. Tanaman ini memiliki batang berkayu berbentuk silindris dengan permukaan kasar berwarna coklat. Pertumbuhan

batangnya cenderung memanjat, sementara cabangnya melilit. Benih anggur bisa diperoleh melalui proses generatif maupun vegetatif.

Daun anggur memiliki bentuk menyerupai jantung dengan tepi bergerigi, berlekuk, atau bercangap. Daun ini memiliki tulang daun menjari, ujungnya runcing, dan bisa berbentuk bulat hingga lonjong. Misalnya, jenis *Vitis vinifera* memiliki daun yang tipis, berwarna hijau kemerahan, dan tidak berbulu.

Batang anggur bisa tumbuh dengan diameter lebih dari 10 cm. Pada awal pertumbuhannya, batang selalu mencari penopang, baik itu tanaman hidup maupun benda mati. Anggur menggunakan sulur atau cabang pembelit untuk membantu dalam pertumbuhan memanjat. Sulur ini tumbuh dengan membentuk lilitan.

Akar anggur bisa berkembang dengan cepat di tanah yang gembur. Saat musim hujan, akar anggur dapat muncul di akar ranting, memungkinkannya untuk berkembang biak dengan cara setek atau cangkok, yang lebih efektif daripada perbanyakan melalui biji.

Bunganya berbentuk malai yang padat. Malai ini terdiri dari sekelompok bunga yang muncul rapat. Pada satu ranting bisa muncul lebih dari satu malai. Setelah bunga di malai mekar, buah berbentuk bulatan kecil akan tumbuh. Warna bulatan ini akan berubah sesuai dengan jenis tanaman anggur (Mukhriani, dkk. 2019).

4. Kandungan metabolit sekunder tanaman anggur

Senyawa yang diproduksi selama sintesis alami dari tumbuhan, bakteri atau hewan disebut metabolit sekunder. Karakterisasi metabolit sekunder berhubungan secara tidak langsung dengan kehidupan, tidak esensial, terbagi dalam kelompok tertentu, berfungsi sebagai pertahanan, dengan berat molekul 50-1500 dalton, dapat

digunakan sebagai obat, parfum, pewangi, bumbu dan relaksasi (Syahwiranto dan Theresih, 2018).

Tanaman anggur berisi beragam senyawa metabolit sekunder, termasuk flavonoid seperti flavonol, antosianin, dan proantosianidin (Cortell dan Kennedy, 2006). Buah anggur dikenal memiliki kandungan polifenol dan antosianin yang cukup tinggi (Tarmizi, 2010). Polifenol dalam anggur, pada dasarnya, dapat dibagi menjadi dua kelas, yaitu flavonoid dan non-flavonoid. Non-flavonoid tersebut mencakup asam fenol dan resveratrol (Ivanova dkk, 2010).

Kulit anggur mengandung senyawa flavonoid. Sudah umum diketahui bahwa flavonoid memiliki beragam sifat, termasuk antivirus, anti-alergi, antiplatelet, anti-inflamasi, antitumor, dan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi daripada vitamin C, seperti yang dijelaskan oleh Tapas et al. (2008). Selain itu, Krithika et al. (2015) menyatakan bahwa biji anggur memiliki kandungan senyawa fenolik, seperti golongan flavonoid, polifenol, dan asam galat.

Tidak hanya itu, daun anggur juga memiliki kandungan fitokimia yang nyaris sama dengan bagian bijinya. Bersumber pada penapisan fitokimia yang dilakukan oleh Tita Nofianti dkk (2022) terkait uji senyawa kimia ekstrak daun anggur diperoleh hasil positif yakni memiliki senyawa flavonoid, polifenol, kuinon, steroid serta triterpenoid.

Adapun senyawa utama yang terkandung pada daun anggur yaitu senyawa fenolik dan flavonoid. Penelitian yang dilakukan oleh Mukhriani dkk (2019) menyatakan bahwa ekstrak etanol daun anggur mengandung senyawa fenolik dan flavonoid dengan kadar masing-masing sebesar 95,227 mg GAE/g dan 4,069 mg QE/g.

Senyawa metabolit sekunder yang ada pada tanaman anggur mampu bekerja sebagai antibakteri dengan mekanismenya masing-masing yaitu:

a. Mekanisme kerja kuinon

Kuinon bertindak sebagai antibakteri dengan cara menghentikan pertumbuhan bakteri melalui pembentukan kompleks senyawa yang bersifat permanen dengan residu asam amino nukleofilik pada protein transmembran, polipeptida, dinding sel, dan enzim yang ada di permukaan membran sel. Hal ini mengakibatkan gangguan pada fungsi sel bakteri (Hadi, dkk. 2019).

b. Mekanisme kerja flavonoid

Flavonoid memiliki tiga mekanisme kerja sebagai antibakteri yang meliputi penghambatan sintesis asam nukleat, fungsi membran sel, dan metabolisme energi. Dalam penghambatan sintesis asam nukleat, cincin A dan B flavonoid berperan dalam interaksi dengan basa asam nukleat, mengganggu pembentukan DNA dan RNA dengan cara interkalasi. Interaksi flavonoid dengan DNA bakteri dapat menyebabkan kerusakan pada permeabilitas dinding sel, mikrosom, dan lisosom.

Dalam menghambat fungsi membran sel, flavonoid membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler, merusak membran sel bakteri, dan dapat mengakibatkan keluarnya senyawa intraseluler. Selain itu, flavonoid mengganggu permeabilitas membran sel dan menghambat aktivitas enzim seperti ATPase dan fosfolipase. Dalam mekanisme metabolisme energi, flavonoid menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri. Mereka dapat mengganggu fungsi sitokrom C reduktase, yang mengakibatkan terhambatnya metabolisme bakteri (Rijayanti, 2014).

c. Mekanisme kerja fenol

Senyawa fenol sebagai senyawa antibakteri memiliki mekanisme dengan cara mendenaturasi protein dan merusak membran sel. Fenol memiliki kemampuan untuk merusak membran sel, menginaktivasi enzim, dan menyebabkan denaturasi protein. Akibatnya, terjadi kerusakan pada dinding sel karena menurunnya permeabilitasnya. Perubahan permeabilitas membran sitoplasma dapat mengganggu transportasi ion-ion organik yang penting ke dalam sel, yang pada akhirnya dapat menghambat pertumbuhan bahkan menyebabkan kematian sel (Dwicahyani, dkk. 2019).

d. Mekanisme kerja steroid

Steroid memiliki sifat antibakteri karena dapat berinteraksi dengan membran lipid yang sensitif dengan bagian steroid, yang menyebabkan kerusakan pada liposom. Steroid berinteraksi dengan membran fosfolipid sel meningkatkan permeabilitas terhadap senyawa lipofilik, yang pada akhirnya mengurangi integritas membran. Akibatnya, terjadi perubahan bentuk pada membran sel yang membuat sel menjadi rapuh dan berpotensi mengalami lisis (Rijayanti, 2014).

e. Mekanisme kerja triterpenoid

Mekanisme kerja terpenoid sebagai agen antibakteri melibatkan kerusakan pada membran sel bakteri. Terpenoid dapat meningkatkan permeabilitas membran, memungkinkan senyawa antibakteri untuk masuk ke dalam sel bakteri. Akibatnya, membran sel mengalami lisis, menyebabkan kehilangan sitoplasma dari sel bakteri, dan pada akhirnya mengakibatkan kematian sel (Fiana dkk, 2020).

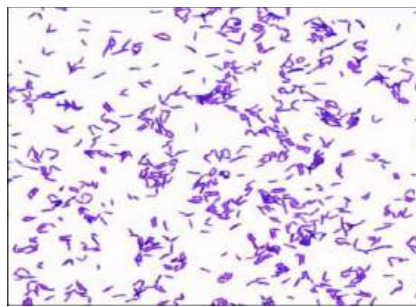
C. Bakteri *Propionibacterium Acnes*

1. Klasifikasi

Kerajaan : *Bacteria*

Filum : *Actinobacteria*
Kelas : *Actinobacteria*
Ordo : *Actinomycetales*
Familia : *Propionibacteraceae*
Genus : *Propionibacterium*
Spesies : *Propionibacterium acnes*

(Miratunnisa dkk., 2015)



Sumber: www.researchgate.net

Gambar 2 *Propionibacterium acnes*

2. Morfologi dan karakteristik

Bakteri *Propionibacterium acnes* adalah bakteri gram positif, dapat hidup baik secara anaerob (tanpa oksigen) maupun aerob (memerlukan oksigen). Bentuknya berupa batang dengan ujung yang meruncing atau bulat, dengan lebar antara 0,5 hingga 0,8 μm dan panjang sekitar 3 hingga 4 μm (Damayanti, 2014). Bakteri ini berkembang dengan optimal pada suhu antara 30 dan 37°C. Ketika ditanam pada agar-agar, koloni *Propionibacterium acnes* biasanya berwarna kuning muda hingga merah muda dengan bentuk yang khas (Miratunnisa et al., 2015).

Dalam media agar darah, koloni bakteri *Propionibacterium acnes* cenderung kecil, berwarna putih, memiliki permukaan yang *smooth*, dan konsistensi kental. Ketika diperiksa dengan pewarnaan Gram, bakteri ini berbentuk

batang yang tidak teratur dan berwarna ungu. Dalam uji biokimia, *Propionibacterium acnes* menunjukkan hasil positif pada uji seperti TSIA (Triple Sugar Iron Agar), indol, simon sitrat, dan katalase (Lestari et al., 2015).

Bakteri *Propionibacterium acnes* merupakan bagian dari flora bakteri normal yang ada di kulit, sering ditemukan di folikel sebaceous. Bakteri ini juga dijumpai di berbagai jaringan manusia, seperti paru-paru, prostat, rongga mulut, saluran pernapasan atas, saluran telinga bagian luar, usus besar, konjungtiva mata, vagina, dan uretra (Damayanti, 2014).

3. Patogenitas

Pada kondisi jerawat, penimbunan sebum di unit pilosebacea akan menciptakan lingkungan yang mendukung pertumbuhan *Propionibacterium acnes*. Enzim lipase yang dihasilkan oleh *Propionibacterium acnes* akan mengubah trigliserida yang terdapat dalam sebum menjadi monogliserida, digliserida, dan asam lemak bebas. Zat-zat ini kemudian diproses menjadi gliserol, yang digunakan oleh *Propionibacterium acnes* untuk metabolisme. Infeksi pada unit rambut sebacea oleh *Propionibacterium acnes* menyebabkan peradangan yang berujung pada pembentukan lesi kulit seperti papula, pustula, nodul, dan kista.

Selain jerawat, *Propionibacterium acnes* juga terlibat dalam sejumlah penyakit seperti osteomielitis, peritonitis, infeksi gigi, rheumatoid arthritis, abses otak, empiema subdural, keratitis, ulkus kornea, endophthalmitis, sarkoidosis dan prostatitis. Untuk penyakit yang berhubungan dengan infeksi *Propionibacterium acnes* terkait alat kesehatan (kateter, prostesis, alat implan dan lain-lain) yaitu konjungtivitis lensa kontak, nefritis *shunt*, Infeksi sistem saraf pusat yang berhubungan dengan artritis anaerobik dan *shunt* (Damayanti, 2014).

D. Antibakteri

1. Definisi

Senyawa yang digunakan untuk mengontrol pertumbuhan bakteri berbahaya disebut antibakteri. Tujuan pengendalian ini adalah untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, menghilangkan mikroorganisme pada inang yang terjangkit, serta menghindari pembusukan dan kerusakan bahan oleh mikroorganisme (Sari & Auliya, 2018).

2. Mekanisme kerja antibakteri

Adapun mekanisme kerja dari antibakteri menurut Moulia dkk, (2018) yaitu:

a. Mencegah pembentukan dinding sel

Bentuk dinding sel dihancurkan dengan mencegah pembentukannya atau dengan memodifikasinya setelah pembentukannya selesai.

b. Mengubah permeabilitas sel

Membran sitoplasma berfungsi sebagai penghalang perlindungan bagi materi dalam sel serta mengatur regulasi masuk dan keluarnya materi lainnya. Membran sel bertanggung jawab dalam menjaga keutuhan komponen-komponen seluler. Gangguan pada membran ini dapat mengacaukan proses pertumbuhan sel.

c. Mengubah molekul dan asam nukleat

Kehidupan sel dalam keadaan aslinya sangat bergantung pada peran vital protein dan asam nukleat. Namun, ketika kondisi tertentu mengubah lingkungan sel, denaturasi protein dan asam nukleat dapat mengakibatkan kerusakan pada sel, meskipun beberapa kerusakan tersebut dapat diperbaiki. Suhu yang tinggi dan konsentrasi zat kimia yang tinggi dapat menyebabkan perubahan tak terbalik

(denaturasi) pada komponen sel penting ini, yang menyebabkan koagulasi atau penggumpalan.

d. Menghambat kerja enzim

Setiap jenis enzim yang ada di dalam sel memiliki potensi sebagai target bagi inhibitor. Banyak senyawa kimia yang diketahui mengganggu berbagai reaksi biokimia dalam tubuh. Gangguan ini dapat menyebabkan terganggunya proses metabolisme seluler.

e. Mencegah sintesis asam nukleat dan protein

Asam nukleat dan protein memiliki peran krusial dalam fungsi sel. Terjadinya gangguan dalam pembentukan atau fungsi molekul-molekul ini dapat mengakibatkan kerusakan yang signifikan pada sel secara keseluruhan.

E. Uji Aktivitas Antibakteri

1. Definisi

Pengujian aktivitas antibakteri adalah metode yang digunakan untuk menilai respons bakteri terhadap zat antibakteri tertentu dan untuk mengidentifikasi senyawa murni yang memiliki efek antibakteri. Tujuan dari pengujian ini adalah untuk menemukan pengobatan yang efektif dan efisien dalam menangani infeksi bakteri (Anjarsari et al., 2022).

2. Metode pengujian

a. Metode difusi

1) Cara cakram (*disc*)

Metode cakram digunakan untuk mengukur aktivitas zat antibakteri. Proses ini melibatkan peletakan cakram kertas yang mengandung zat antibakteri pada lempengan agar, sehingga zat tersebut dapat berdifusi ke dalam agar. Selanjutnya,

lempengan tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 hingga 24 jam. Pembentukan zona jernih menunjukkan bahwa zat antibakteri berhasil menghambat pertumbuhan mikroba (Pratiwi, 2019). Metode ini umum dipakai untuk mengukur aktivitas antibakteri dan memiliki beberapa kelebihan, yaitu: jumlah reagen dapat diukur, beberapa pengujian dapat dilakukan dalam satu eksperimen, serta cepat, mudah, dan murah karena tidak memerlukan peralatan khusus (Artanti et al., 2020).

2) Cara parit (*ditch*)

Metode ini melibatkan penempatan zat antimikroba sebagai benda uji pada alur yang telah dibuat dengan cara mengiris media agar dalam cawan petri secara vertikal di tengahnya. Setelah itu, bakteri ditanam pada alur yang mengandung zat antimikroba tersebut. Cawan Petri selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 hingga 24 jam. Pembentukan zona jernih di sekitar alur menunjukkan bahwa zat antibakteri berhasil menghambat pertumbuhan mikroba (Pratiwi, 2019).

3) Cara sumur

Metode ini mirip dengan teknik parit, di mana sumuran dibuat pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme, dan zat antibakteri dimasukkan ke dalam sumuran tersebut. Setelah itu, cawan Petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Pembentukan zona jernih di sekitar sumuran menandakan bahwa pertumbuhan mikroba terhambat oleh zat antibakteri (Pratiwi, 2019).

Menurut Davis dan Stout (1971) dalam Ifora dkk, (2022), kategori zona hambat dapat antibakteri dapat dikelompokkan menjadi empat yaitu:

Tabel 1
Tabel Kategori Zona Hambat

Kategori Zona Hambat	Diameter Zona Hambat
Lemah	< 5 mm
Sedang	5-<10 mm
Kuat	10-20 mm
Sangat kuat	>20 mm

Sumber: (Ifora dkk., 2022)

b. Metode dilusi

1) Dilusi cair

Cara ini memiliki tujuan untuk menilai kadar hambat minimum (KHM) dan kadar bunuh minimum (KBM). Pengukuran dilakukan dengan mencampurkan zat antibakteri dalam media cair yang telah diberi bakteri. KHM ditentukan oleh konsentrasi terkecil zat antimikroba yang menghasilkan zona transparan tanpa pertumbuhan mikroba. Selain itu, bakteri dibiakkan dalam media cair tanpa zat antibakteri dan diinkubasi selama 18-24 jam. KBM terlihat sebagai area bening dalam media cair setelah periode inkubasi (Pratiwi, 2019).

2) Dilusi padat

Cara ini menyerupai metode dilusi cair, namun dengan perbedaan bahwa dalam metode ini menggunakan media padat (Pratiwi, 2019). Keunggulan dari metode ini terletak pada kemudahan pelaksanaannya tanpa memerlukan langkah pencampuran suspensi bakteri ke dalam media. Namun, kelemahan metode ini meliputi kebutuhan akan jumlah media yang lebih besar dan bakteri hanya tumbuh di permukaan media saja (Wachty, 2017).

3. Faktor yang mempengaruhi

Ada beberapa hal yang perlu diperhatikan yang dapat mempengaruhi aktivitas antibakteri secara in vitro, termasuk (Jawetz et al., 2019):

a. pH media

Nitrofurantoin lebih efektif pada lingkungan pH asam, sementara aminoglikosida dan sulfonamid lebih efektif pada lingkungan pH basa.

b. Komponen media

Sodium polyanethol sulfonate yang terdapat dalam *blood agar*, bersama dengan deterjen anionik lainnya, dapat menimbulkan hambatan terhadap aminoglikosida. PABA (p-aminobenzoat) yang terdapat dalam ekstrak jaringan memiliki sifat antagonis terhadap sulfonamid. Protein serum memiliki kemampuan berikatan dengan penisilin pada berbagai tingkatan, mulai dari sekitar 40% untuk methicillin hingga sekitar 98% untuk dikloksasilin. Peningkatan konsentrasi NaCl dalam media pertumbuhan bakteri dapat meningkatkan kemampuan deteksi resistensi methicillin pada *Staphylococcus aureus*.

c. Stabilitas senyawa antibiotik

Pada suhu inkubasi tertentu, sebagian antibiotik mengalami penurunan aktivitasnya. Penisilin cenderung kehilangan aktivitasnya secara bertahap seiring berjalannya waktu, sementara aminoglikosida dan ciprofloxacin tetap mempertahankan stabilitas aktivitasnya dalam jangka waktu yang lebih lama.

d. Besar inokulum

Secara umum, semakin besar inokulum suatu bakteri, semakin rendah kerentanan organisme tersebut terhadap penghambatan oleh zat antimikroba. Populasi bakteri yang besar cenderung memiliki pertumbuhan yang lebih lambat dan memiliki kemungkinan yang lebih rendah untuk sepenuhnya dihambat dibandingkan dengan populasi yang lebih kecil. Pada populasi bakteri yang besar,

terdapat kemungkinan yang lebih tinggi bagi mutan yang menyebabkan resistensi terhadap zat antimikroba.

e. Lama inkubasi

Dalam beberapa kondisi, mikroorganisme tidak sepenuhnya dimusnahkan tetapi hanya dihambat pertumbuhannya oleh paparan singkat terhadap agen antibakteri. Dalam hal ini, semakin lama masa inkubasi, risiko terjadinya mutasi yang menyebabkan resistensi semakin meningkat atau kemungkinan mikroorganisme yang kurang responsif terhadap antibiotik dapat tumbuh dan berkembang biak lebih besar.

F. Ekstrak dan Ekstraksi

1. Ekstrak

Ekstrak merupakan bentuk konsentrat yang dihasilkan melalui proses ekstraksi senyawa aktif dari tumbuhan atau hewan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ini diikuti dengan penghapusan sebagian besar atau seluruh pelarut melalui penguapan, dan sisa massa atau bubuk diolah lebih lanjut agar sesuai dengan standar yang telah ditetapkan (Illing et al., 2017).

2. Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pengambilan bahan kimia dari suatu bahan dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Secara prinsip, proses ekstraksi didasarkan pada perpindahan komponen zat dari bahan awal ke dalam pelarut. Proses perpindahan ini umumnya terjadi pada antarmuka antara kedua fase, yang kemudian difusi ke dalam pelarut (Illing et al., 2017).

3. Ekstraksi cara dingin

a. Maserasi

Proses ekstraksi yang melibatkan perendaman dalam pelarut yang sesuai untuk mengekstrak senyawa aktif tanpa pemanasan atau dengan pemanasan pada suhu rendah disebut metode maserasi. Salah satu keuntungan dari metode perendaman adalah bahwa zat kimia yang diekstrak tidak akan mengalami kerusakan. Selama proses perendaman, terjadi gangguan pada dinding sel dan membran karena perbedaan tekanan antara bagian luar dan dalam sel, menyebabkan degradasi metabolit sekunder yang terdapat dalam sitoplasma dan larut dalam larutan ekstraksi (Yuniwati et al., 2021). Akan tetapi, metode ini memiliki kelemahan seperti waktu ekstraksi yang cukup lama, bahkan bisa mencapai 2 minggu, serta proses ekstraksi yang lambat dan memerlukan jumlah pelarut yang cukup banyak (Rasul, 2018).

b. Perkolasi

Perkolasi merupakan metode ekstraksi dingin di mana pelarut diganti secara terus-menerus hingga diperoleh ekstrak yang transparan. Dalam metode ini, bahan yang diekstraksi direndam dalam pelarut dalam suatu wadah yang disebut perkolator, dan pelarut yang digunakan kemudian dialirkan atau disalurkan melalui bahan tersebut secara perlahan-lahan. Proses ini berlangsung bertahap untuk memastikan bahwa senyawa-senyawa yang diinginkan terlarut secara efisien ke dalam pelarut. Selama perjalanan pelarut melalui bahan yang diekstraksi, senyawa-senyawa aktif larut dan terkumpul dalam pelarut, membentuk ekstrak yang diinginkan. Teknik perkolasi umumnya membutuhkan waktu yang lebih lama daripada metode ekstraksi panas lainnya, tetapi sering kali menghasilkan ekstrak

yang lebih murni karena penggunaan suhu yang lebih rendah dan penghindaran terhadap dekomposisi termal (Safitri et al., 2018). Keuntungan dari metode ini adalah sampel selalu diisi dengan pelarut segar untuk ekstraksi maksimal dan menghindari kerusakan senyawa non-termal (Wigati et al., 2018). Namun proses osmosis mempunyai kelemahan yaitu memerlukan banyak pelarut. Dalam proses ini harus memperhatikan ukuran butiran material dan memerlukan keahlian khusus (Rasul, 2018).

4. Ekstraksi cara panas

a. Soxhlet

Dalam teknik ini, sampel yang sudah dihaluskan ditempatkan dalam kantong berpori yang berisi kertas saring yang kuat atau selulosa, yang kemudian ditempatkan di dalam selongsong di atas labu dan di bawah kondensor. Selanjutnya, pelarut ditambahkan ke dalam labu, dan suhu pemanasan diatur di bawah titik didih pelarut untuk menghindari penguapan berlebihan atau refluks (Azwanida, 2015). Metode ini memiliki kelebihan dalam mengekstraksi simplisia dalam jumlah besar secara bersamaan, pelarut yang dapat digunakan secara berulang, dan tidak memerlukan penyaringan setelah ekstraksi. Namun, kekurangannya adalah senyawa yang sensitif terhadap panas dapat mengalami kerusakan jika sampel dipanaskan pada suhu tinggi dalam periode waktu yang cukup lama (Rasul, 2018).

b. Refluks

Refluks adalah metode ekstraksi yang melibatkan penggunaan pelarut pada titik didihnya untuk jangka waktu tertentu, dengan jumlah pelarut yang relatif tetap dan terbatas. Prinsipnya adalah bahwa pelarut akan menguap pada suhu tinggi, kemudian mengembun kembali menjadi cairan di dalam kondensor, dan jatuh

kembali ke dalam reaktor, meninggalkan sampel simplisia untuk diekstraksi (Susanty & Bachmid, 2016). Salah satu keunggulan metode ini dibandingkan dengan metode Soxhlet adalah penggunaan pelarut yang lebih efisien, serta memerlukan waktu ekstraksi yang lebih singkat daripada metode perendaman (Putra, A.A.B et al., 2014).

c. Infundasi

Infundasi adalah teknik ekstraksi untuk mengekstrak bahan aktif yang larut dalam air dari bahan tanaman pada suhu 90°C selama 15 menit. Metode ini memiliki keunggulan dalam hal kemudahan penggunaan peralatan sederhana dan pencarian pelarut berbasis air dengan cepat. (Yanti, 2017). Namun, menggunakan air sebagai pelarut dalam metode infundasi memiliki kekurangan, seperti kemungkinan endapan sebagian dari zat aktif jika kelarutannya terlalu jenuh, yang dapat mengakibatkan kehilangan zat esensial. Selain itu, simplisia yang mengandung albumin (protein) dapat menggumpal dan membentuk zat-zat pengganggu yang sulit dihilangkan dari bahan simplisia (Widyastuti et al., 2016).

d. Dekoksi

Dekoksi adalah metode ekstraksi berbasis air yang digunakan untuk mengekstrak senyawa aktif secara sederhana. Dalam metode ini, simplisia direbus dengan air untuk membuat sediaan cair. Dekoksi menjadi pilihan utama untuk mengekstrak simplisia yang keras, berserat, kulit kayu, akar, dan simplisia yang mengandung bahan kimia yang larut dalam air. Keuntungan dari metode ini adalah kemudahan penerapannya, tanpa memerlukan peralatan atau bahan yang mahal, tidak membutuhkan keterampilan khusus, dan sesuai untuk mengekstrak senyawa yang tahan panas (Rasul, 2018).