

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Daun Serai (*Cymbopogon nardus*) dan Daun Pepaya (*Carica papaya* L.)

1. Klasifikasi Daun Serai (*Cymbopogon nardus*)

Menurut Santoso (2007) klasifikasi ilmiah sereh wangi adalah sebagai berikut :

Kingdom : *Plantae*
Subkingdom : *Trachebionta*
Divisi : *Spermatophyta*
Sub Divisi : *Angiospermae*
Kelas : *Monocotyledonae*
Sub Kelas : *Commelinidae*
Ordo : *Poales*
Famili : *Graminae/Poaceae*
Genus : *Cymbopogon*
Species : *Cymbopogon nardus* L. Rendle

Indonesia memiliki berbagai jenis tanaman atsiri yang berpotensi untuk dikembangkan salah satunya adalah serai wangi. Tanaman yang dikenal sebagai “*Citronella Oil of Java*” ini merupakan tanaman tahunan dari famili Poaceae (Munda et al., 2020). Sereh wangi dengan nama latin *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle yang di Indonesia dikenal dengan nama lain sereh sitronella dan sudah lama dibudidayakan dan mudah tumbuh pada berbagai kondisi lingkungan dan memiliki aroma daun yang tajam atau aromatic (Susilowati dan Cheppy, 2022).

2. Klasifikasi Daun Pepaya (*Carica papaya L.*)

Menurut Suprpti (2005) klasifikasi ilmiah daun pepaya adalah sebagai berikut :

Kerajaan : *Plantae*
Divisi : *Spermatophyta*
Kelas : *Angiospermae*
Bangsa : *Caricales*
Suku : *Caricaceae*
Marga : *Carica*
Jenis : *Carica papaya L.*

Pepaya (*Carica papaya L.*) merupakan tumbuhan perdu yang berbatang tegak dan basah. Semua bagian tanaman pepaya dapat dimanfaatkan, termasuk daun, batang, buah, dan akarnya. Pepaya adalah salah satu tanaman yang paling sering digunakan dalam pengobatan tradisional, dan bagian yang paling sering digunakan adalah daunnya karena mengandung enzim papain (Tim Karya Tani Mandiri, 2011).

3. Habitat Umum Daun Serai (*Cymbopogon nardus*) dan Daun Pepaya (*Carica papaya L.*)

Tanaman serai wangi adalah tanaman aromatik yang relatif mudah dibudidayakan dan dapat tumbuh dalam berbagai lingkungan. Keterbatasan varietas unggul adalah kendala yang dihadapi Indonesia saat mengembangkan serai wangi. Hal ini menyebabkan produksi minyak atsiri yang tidak efektif, yang mengakibatkan ketidakkonsistenan dalam rendemen dan kualitas. Sampai tahun 2022, baru ada 3 varietas unggul serai wangi yang dilepas oleh Kementerian

Pertanian yaitu Sitrona 1 Agribun, Sitrona 2 Agribun, dan Serai wangi 1 (Syukur dan Trisilawati, 2019). Sereh wangi memiliki jenis akar serabut berimpang pendek dan besar. Batang sereh wangi bergerombol, berumbi, lunak, berongga, bersifat kaku, mudah patah, dan tumbuh secara tegak lurus di atas tanah. Batangnya berisi pelepah umbi yang berwarna kuning kemerahan. Daun sereh wangi memiliki panjang 1 meter dan lebar 1,5-2 cm, berwarna hijau, panjang meruncing pada bagian ujungnya, tidak bertangkai dan berbau citrus ketika daunnya diremas. Sereh wangi memiliki bunga yang tidak memiliki mahkota dan berbentuk bulir yang jarang ditemukan (Utomo, 2015)

Pepaya ialah tumbuhan yang berasal dari negara tropis, tanaman pepaya ini memiliki batang yang tumbuh lurus keatas dengan tinggi batang tinggi 3-8 m, Daun pepaya memiliki bentuk daun yang menjari dan memiliki tangkai panjang yang berongga di bagian tengah. Bentuk buah dari tanaman pepaya ini lonjong, dengan ujung yang lancip. Warna buah saat masih muda berwarna hijau gelap, dan sesudahbuah matang berwarna hijau muda sampai kekuningan. Daging pepaya berasal dari carpela yang tebal, memiliki warna kuning sampai jingga. Bagian tengahnya memiliki rongga. Biji pepaya memiliki warna hitam yang diselimuti lapisan berlendir untuk mencegah dari kekeringan (Rukmana, 2003).

3. Manfaat Daun Serai (*Cymbopogon nardus*) dan Daun Pepaya (*Carica papaya* L.)

Beberapa tahun terakhir ini, pemanfaatan tanaman serai wangi berkembang sangat luas dalam berbagai industri farmasi, kosmetik, parfum, hingga industri pestisida. Tanaman serai wangi berbeda dengan tanaman sereh dapur baik secara morfologi maupun biokimia (Kaur et al., 2021; Susilowati dan Syukur, 2022).

Tanaman sereh wangi digunakan sebagai bahan baku pembuatan minyak atsiri. Minyak atsiri dapat digunakan sebagai antijamur terhadap *Trichopyton rubrum*, *Trichopyton mentangrophyton* dan antibakteri *Candida albicans* (Lely, 2018). Dalam dunia perdagangan sebagai bahan dasar kosmetik, pembuatan parfum, obat-obatan, antiseptik, perisa makanan atau minuman serta pencampuran rokok kretek dan beberapa digunakan sebagai aerosol dan pembersih lantai, detergen, pewangi sabun sebagai antidepresi (Sulaswatty et al., 2019). Secara tradisional sereh wangi banyak digunakan masyarakat sebagai obat bisul dan jerawat (Rinaldi et al., 2021).

Secara tradisional daun pepaya dimanfaatkan oleh masyarakat dalam mengatasi penyakit diare dan mengobati penyakit kulit seperti jerawat. Penyakit diare dapat disebabkan oleh bakteri, diantaranya bakteri *Escherichia coli*, sedangkan penyakit kulit seperti jerawat dapat disebabkan oleh bakteri *Stapylococcus aureus*. Bakteri *Escherichia coli* dan *Stapylococcus aureus* merupakan bakteri pathogen yang sering menginfeksi manusia.

4. Kandungan Daun Serai (*Cymbopogon nardus*) dan Daun Pepaya (*Carica papaya* L.)

Salah satu kandungan utama dari serai wangi adalah minyak atsiri. Minyak atsiri yang terkandung di dalam serai sebanyak 0.7%. Minyak atsiri dari serai memiliki kemampuan untuk mengontrol pertumbuhan bakteri dan jamur serta memiliki aktivitas antioksidan. Secara umum kandungan serai wangi terdiri kariofilen bersifat antibakteri, antifungi, antiinflamasi, antitumor, dan dapat digunakan sebagai obat bius. Sitral bersifat antihistamin dan antiseptik. Sitronelal bersifat antiseptik dan antimikrobia. Menurut hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Burdock (2002) komponen senyawa utama minyak serai wangi terdiri dari

citronelal, *citronellol*, dan *geraniol*. Menurut Lulangnarulmitchai *et al.* (2007), kandungan citronellal, geraniol, dan citronellol dalam minyak selai wangi juga mampu menghambat fungsi bakteri.

Daun pepaya (*Carica papaya L.*) mengandung alkaloid karpainin, karpain, pseudokarpain, vitamin C dan E, kolin, dan karposid. Daun pepaya mengandung suatu glukosinolat yang disebut benzil isotiosianat. Daun pepaya juga mengandung mineral seperti kalium, kalsium, magnesium, tembaga, zat besi, zink, dan mangan. Selain itu, daun pepaya mengandung senyawa alkaloid karpain, karikaksantin, violaksantin, papain, saponin, flavonoid, dan tannin (Milind dan Gurdita, 2011). Daun pepaya mengandung senyawa- senyawa kimia yang bersifat antiseptik, antiinflamasi, antifungal, dan antibakteri. Senyawa antibakteri yang terdapat dalam daun pepaya diantaranya tanin, alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan saponin (Duke, 2009). Selain itu daun pepaya mengandung zat aktif seperti alkaloid carpaine, asam-asam organik seperti lauric acid, caffeic acid, gentisic acid, dan asorbic acid, serta terdapat juga β - sitosterol, flavanoid, saponin, tannin, dan polifenol (Duke, 2009).

Zat antibakteri adalah zat yang dapat mengganggu pertumbuhan atau bahkan mematikan bakteri dengan cara mengganggu metabolisme bakteri. Antibakteri hanya dapat digunakan jika mempunyai sifat toksik selektif, artinya dapat membunuh bakteri yang menyebabkan penyakit tetapi tidak beracun bagi penderitanya. Faktor-faktor yang berpengaruh pada aktivitas zat antibakteri adalah pH, suhu stabilitas senyawa, jumlah bakteri yang ada, lamanya inkubasi, dan aktivitas metabolisme bakteri (Jawetz, 2008)

4. Sifat-sifat senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam Daun Serai (*Cymbopogon nardus*) dan daun pepaya (*Carica papaya L.*)

Skrining fitokimia daun sereh wangi mengandung senyawa metabolit sekunder tanin, alkaloid, saponin, triterpenoid/ steroid, fenolik dan flavonoid (Najmah, dkk., 2023). Uji kandungan senyawa metabolit sekunder pada daun pepaya (*Carica Papaya L.*) yang dilakukan adalah berupa uji kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, dan saponin yang dilakukan secara kualitatif. Sehingga didapatkan hasil berdasarkan uji kandungan senyawa yang telah dilakukan, sampel daun pepaya (*Carica papaya L.*) positif mengandung senyawa golongan alkaloid, flavonoid dan saponin (Sri Royani, dkk., 2023)

Bahan alam memiliki senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai zat antibakteri (Wilson et al., 2011). Metabolit sekunder merupakan metabolit yang dihasilkan dari proses metabolisme sekunder (Silalahi, 2017). Setiap organisme biasanya menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang berbeda- beda, bahkan mungkin satu jenis senyawa metabolit sekunder hanya ditemukan pada satu spesies dalam suatu kingdom. Senyawa ini juga tidak selalu dihasilkan, tetapi hanya pada saat dibutuhkan saja atau pada fase-fase tertentu (Reo, Berhimpon dan Montolalu, 2017).

Tumbuhan memanfaatkan metabolit sekunder yang disintesisnya untuk pertahanan terhadap lingkungan yang kurang menguntungkan. Jumlah dan jenis metabolit sekunder yang disintesis oleh tumbuhan bervariasi baik kadar maupun jenisnya. Manusia memanfaatkan metabolit sekunder untuk berbagai tujuan, namun paling banyak dimanfaatkan untuk tujuan pengobatan (Silalahi, 2017). Adapun sifat-sifat senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan yaitu:

a) Alkaloid

Alkaloid merupakan golongan senyawa organik yang banyak ditemukan di alam. Ciri khas dari alkaloid yaitu, semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom N yang bersifat basa dan pada umumnya merupakan bagian dari cincin heterosiklik. Namun batasan ini tidak terlalu tepat karena banyak senyawa heterosiklik nitrogen lain yang ditemukan di alam yang bukan tergolong alkaloid (Kristanti dkk., 2019).

Metode ekstraksi dapat digunakan untuk mengekstraksi alkaloid dari tumbuhan. Meskipun alkaloid sulit larut dalam air, mereka dapat larut dalam pelarut organik yang umum seperti kloroform, alkohol, benzene, dan eter (Sulmardjo, 2009). Tanaman yang mengandung alkaloid memiliki efek toksik, rasa pahit, dan bau yang kuat (Reece et al., 2011).

Senyawa alkaloid memiliki aktivitas antibakteri. Mekanisme yang diduga adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh. Terganggunya sintesis peptidoglikan menyebabkan pembentukan sel tidak sempurna karena tidak mengandung peptidoglikan dan dinding selnya hanya meliputi membran sel, sehingga menyebabkan kematian sel (Retnowati, Bialangi dan Posangi, 2011; Jati, 2016).

b) Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Banyaknya senyawa flavonoid ini bukan disebabkan karena banyaknya variasi struktur, akan tetapi lebih disebabkan oleh berbagai tingkat hidroksilasi, alkoksilasi atau glikosilasi pada struktur tersebut. Beberapa fungsi

flavonoid bagi tumbuhan adalah sebagai zat pengatur tumbuh, pengatur proses fotosintesis, sebagai zat antimikroba, antivirus dan anti insektisida. Beberapa flavonoid sengaja dihasilkan oleh jaringan tumbuhan sebagai respons terhadap infeksi atau luka yang kemudian berfungsi untuk menghambat fungi yang menyerang tumbuhan tersebut (Kristanti dkk., 2019).

Flavonoid merupakan golongan fenol. Golongan senyawa flavonoid bersifat tidak tahan panas, selain itu senyawa flavonoid mudah teroksidasi pada suhu yang tinggi. Salah satu fungsi flavonoid adalah sebagai antimikroba yang bersifat bakteriostatik. Senyawa fenol yang dikenal sebagai zat antiseptik dapat membunuh sejumlah bakteri. Sifat senyawa fenol yaitu mudah larut dalam air, cepat membentuk kompleks dengan protein dan sangat peka pada oksidasi enzim (Retnowati, Bialangi dan Posangi, 2011; Sujatmiko, 2014). Fenol juga memiliki kemampuan mendenaturasi protein dan merusak dinding sel bakteri (Kurniawan dan Aryana, 2015).

c) Saponin

Saponin ada pada seluruh tanaman dan ditemukan dengan konsentrasi tinggi pada bagian-bagian tertentu yang dipengaruhi oleh varietas tanaman dan pertumbuhan (Illing, Safitri dan Erfiana, 2017). Saponin merupakan glikosida kompleks atau metabolit sekunder yang banyak terdapat pada tanaman yang bersifat kompleks dan memiliki sifat berbuih. Dimana ketika saponin direaksikan dengan air dan dikocok maka akan membentuk buih (Gunawan, 2018).

Saponin yang tergolong kedalam steroid aglikon terdiri dari satu atau lebih gugus gula yang berikatan dengan aglikon atau sapogenin, gugus ini dapat membentuk kristal berwarna kuning dan amorf, serta berbau menyengat. Rasa

saponin sangat ekstrim, dari sangat pahit hingga sangat manis. Saponin biasa dikenal sebagai senyawa nonvolatile dan sangat larut dalam air (dingin maupun panas) dan alkohol, namun membentuk busa koloidal dalam air dan memiliki sifat detergen yang baik (Illing, Safitri dan Erfiana, 2017). Aktivitas antibakteri senyawa saponin yaitu dengan mengubah tegangan permukaan dan mengikat lipid pada sel bakteri yang menyebabkan lipid terekskresi dari dinding sel sehingga permeabilitas membran bakteri terganggu (Wardhani dan Sulistyani, 2012).

d) Tanin

Senyawa tanin adalah senyawa astringen dengan rasa pahit karena gugus polifenolnya yang dapat mengikat, mengendapkan dan menyusutkan protein (Zaenudin dan Riza Trihaditia, 2022). Mekanisme antimikroba tanin berkaitan dengan kemampuan tanin membentuk kompleks dengan protein polipeptida dinding sel bakteri sehingga terjadi gangguan pada dinding bakteri dan bakteri lisis. Tanin juga memiliki sifat dapat menginaktifkan adhesin sehingga bakteri tidak dapat melekat pada sel inang dan menginaktifkan enzim protease. Selain itu, tanin juga dapat menghancurkan materi genetik pada bakteri sehingga dapat menambah toksisitasnya pada bakteri (Sujatmiko, 2014).

e) Minyak atsiri

Sebagai antibakteri minyak atsiri mengganggu proses terbentuknya membran atau dinding sel sehingga tidak terbentuk (Kurniawan dan Aryana, 2015). Minyak atsiri terdiri dari berbagai macam molekul senyawa, aromanya khas, memiliki rasa pahit, mudah terurai, dibiarkan diatas kertas saring maka akan teroksidasi, tidak meninggalkan jejak, tidak larut dalam air, mudah larut dalam etanol, memiliki nilai indeks bias yang besar, apabila terkena kullit akan terasa terbakar, maupun sejuk,

dapat rusak apabila terpapar sekelilingnya, seperti terpapar oksigen, sinar matahari, dan radiasi sinar UV (Endarini, 2016).

Aktivitasnya yang menghambat bakteri dimungkinkan karena kemampuannya untuk berikatan dengan protein ekstraseluler dan dinding sel bakteri. Semakin bersifat lipofilik, maka semakin dia melakukan disrupsi terhadap membran sel bakteri. Mekanisme penghambatannya diduga melalui kerusakan lipid bilayer membran sel akibat gugus hidrofobik yang dimilikinya (Diastri, 2015).

Minyak atsiri termasuk kedalam turunan fenol. Turunan fenol berinteraksi dengan sel bakteri melalui proses adsorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen. Pada kadar rendah terbentuk kompleks protein fenol dengan ikatan yang lemah dan segera mengalami penguraian, diikuti penetrasi fenol ke dalam sel dan menyebabkan presipitasi serta denaturasi protein. Pada kadar tinggi fenol menyebabkan koagulasi protein dan sel membran mengalami lisis (Parwata dan Dewi, 2008).

Sifat daya hambat senyawa fenol terhadap mikroba disebabkan karena gugus hidroksil yang dimilikinya dapat berinteraksi dengan protein membran sel mikroba melalui ikatan hidrogen sehingga protein tersebut kehilangan fungsinya. Gugus hidroksil dapat menjadi donor hidrogen yang sangat baik untuk membentuk ikatan hidrogen dengan gugus karbonil pada protein. Protein dan fosfolipid merupakan senyawa penting yang menyusun membran sel mikroba, yang mana protein di sini berfungsi sebagai pengatur keluar-masuknya material dari dan ke dalam sel (Diastri, 2015).

g) Terpenoid

Terpena merupakan persenyawaan hidrokarbon alifatik atau hidrokarbon siklik yang memiliki rumus perbandingan (C_5H_8). Terpena dapat dianggap sebagai hasil kondensasi 2-metil-1,3 butadiena atau isoprene. Terpenoid merupakan turunan terpena atau senyawa-senyawa yang strukturnya mirip terpena. Molekul terpenoid dapat mengandung gugus karboksil, hidrosil, formil, atau gugus yang lain. Terpena dan turunannya dikenal sebagai terpenoid yang merupakan komponen dari minyak yang terdapat didalam bunga-bunga, daun-daun, dan akar- akar berbagai jenis tanaman. Senyawa terpena dan turunannya juga terdapat didalam kayu, misalnya dalam kayu kapur barus, dan kayu cendana atau dalam getah dammar pohon pinus (Sumardjo, 2009).

Berbagai cara telah dipakai untuk mengekstraksi minyak-minyak esensial dari jaringan tanaman, seperti cara distilasi uap, digesti dengan pelarut, adsorpsi dengan bahan kimia, atau dengan cara penekanan. Diantara cara tersebut, cara distilasi uap yang sering digunakan. Minyak-minyak esensial yang diperoleh dengan cara-cara tersebut mengandung beberapa jenis komponen. Komponen- komponen tersebut dipisahkan dengan cara distilasi fraksional atau dengan cara kromatografi. Didalam tubuh seara biologis, beberapa terpena atau turunannya mempunyai peranan penting (Sumardjo, 2009).

B. Simplisia

Simplisia adalah bahan alami yang digunakan untuk obat dan belum mengalami perubahan proses apapun dan umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan (Herbie, 2015). Menurut (Wahyuni, Guswandi & Rivai, 2014) ; (Utami, Widiawati & Hidayah, 2013), simplisia dibagi menjadi tiga golongan yaitu:

1. Simplisia nabati

Simplisia berupa tanaman utuh dan eksudat tanaman, bagian tanaman berisi sel yang keluar secara spontan dari sel ataupun zat-zat nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya dan belum berupa zat kimia murni. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau dengan cara tertentu sengaja dikeluarkan dari selnya. Eksudat tanaman dapat berupa zat atau bahan nabati lainnya yang dipisahkan/diisolasi dari tanamannya (Ulfah, Priyanto dan Prabowo, 2022).

2. Simplisia hewani

Simplisia hewan dapat berupa hewan utuh, zat-zat bermanfaat yang dihasilkan oleh hewan tetapi tidak berupa bahan kimia murni, seperti minyak ikan (*Oleum iecoris asseli*) dan madu (*Mel depuratum*) (Evifania, Apridamayanti dan Sari, 2020).

3. Simplisia pelikan atau mineral

Simplisia dalam bentuk pelikan atau mineral yang belum diproses atau diproses secara sederhana belum berupa bahan kimia murni seperti bubuk seng dan tembaga (Evifania dkk., 2020).

C. Ekstrak dan Metode Ekstraksi

1. Pengertian ekstrak

Ekstrak adalah suatu produk hasil pengambilan zat aktif melalui proses ekstraksi menggunakan pelarut, dimana pelarut yang digunakan diuapkan kembali sehingga zat aktif pada ekstrak menjadi pekat. Bentuk dari ekstrak yang dihasilkan dapat berupa ekstrak kental atau ekstrak kering tergantung jumlah pelarut yang diuapkan (Marjoni, 2016). Sebagian besar ekstrak dibuat dengan mengekstraksi

bahan baku obat dengan cara perkolasi. Seluruh perkolat dipekatkan dengan distilasi dengan cara pengurangan tekanan, sehingga bahan utama obat sesedikit mungkin terkena panas (Nuraida, Hutagaol & Hariani, 2022).

2. Metode ekstraksi

Ekstraksi adalah salah satu teknik pemisahan kimia yang digunakan untuk memisahkan atau menarik satu atau lebih komponen maupun senyawa-senyawa (analit) dari suatu sampel dengan menggunakan pelarut tertentu (Leba, 2017). Pada proses ekstraksi massa dari komponen zat padat pada simplisia akan berpindah kedalam pelarut organik. Pelarut organik akan menembus dinding sel dan selanjutnya akan masuk kedalam rongga sel tumbuhan yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut kedalam pelarut organik pada bagian luar sel untuk selanjutnya akan berdifusi masuk kedalam pelarut (Marjoni, 2016).

Ekstraksi dapat dilakukan dengan berbagai metode dan cara, sesuai dengan sifat dan tujuan ekstraksi itu sendiri. Sampel yang akan diekstraksi dapat berbentuk sampel segar maupun sampel yang telah dikeringkan. Sampel yang umum digunakan untuk ekstraksi adalah sampel segar, karena penetrasi pelarut akan berlangsung lebih cepat. Selain itu, menggunakan sampel segar dalam ekstraksi dapat mengurangi kemungkinan terbentuknya polimer resin atau artefak lain yang dapat terbentuk selama proses pengeringan. Penggunaan sampel kering dalam ekstraksi juga memiliki kelebihan, yaitu dapat mengurangi kadar air yang terdapat di dalam sampel, sehingga dapat mencegah kemungkinan rusaknya senyawa akibat dari aktivitas anti mikroba (Marjoni, 2022).

Menurut (Prayoga dan Lisnawati, 2020) adapun beberapa jenis-jenis ekstraksi antara lain:

a. Berdasarkan bentuk substansi dalam campuran

1) Ekstraksi padat-cair

Proses ekstraksi padat-cair (*leaching*) adalah proses pengambilan komponen terlarut atau adanya kemampuan senyawa dalam suatu matriks yang kompleks dari suatu padatan, yang dapat larut oleh suatu pelarut tertentu (Masud dan Puspitasari, 2017)

2) Ekstraksi cair-cair

Suatu proses pemisahan substansi dari campuran berbentuk cair dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Kuswandi dan Purwanto, 2021).

b. Berdasarkan penggunaan panas

1) Metode ekstraksi suhu dingin

a) Maserasi

Maserasi adalah proses ekstraksi simplisia yang menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada suhu ruang. Maserasi berarti pengadukan terus-menerus, dan remaserasi berarti menambah pelarut lagi setelah penyaringan maserat pertama dan kedua (Prayoga & Lisnawati, 2020).

Proses ekstraksi dari sampel biasanya menggunakan pelarut metanol atau etanol. Kelebihan pelarut methanol adalah memiliki titik didih yang lebih rendah sehingga mudah diuapkan pada suhu yang lebih rendah, tetapi bersifat lebih toksik. Sedangkan etanol memiliki kelemahan memiliki titik didih yang relatif tinggi sehingga lebih sulit diuapkan, tetapi relative tidak toksik dibanding methanol (Atun, 2014).

b) Perkolasi

Perkolasi merupakan proses ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang dialirkan melalui kolom perkolator yang sudah diisi dengan serbuk bahan atau sampel, dan ekstraknya dikeluarkan melalui keran secara perlahan. Secara umum proses perkolasi dilakukan pada temperatur ruang (Atun, 2014).

2) Ekstraksi metode panas

a) Refluks

Salah satu metode ekstraksi yang menggunakan pelarut pada suhu dan titik didih tertentu adalah refluks. Karena proses pendinginan balik, waktu yang telah ditetapkan dan penggunaan jumlah pelarut yang terbatas hampir sama. Proses pada residu biasanya dilakukan tiga hingga lima kali pada residu pertama, sehingga dianggap sebagai proses ekstraksi yang lengkap (Atun, 2014).

b) Sokletasi

Proses ekstraksi panas dengan alat ekstraktor soklet dikenal sebagai sokletasi. Suhu yang digunakan tidak sama dengan suhu metode refluks (Marjoni, 2016).

c) Digesti

Digesti merupakan maserasi kinetik yang dilakukan dengan pengadukan terus-menerus pada temperatur yang lebih tinggi dari suhu kamar, dilakukan pada temperatur 40-50°C (Lisnawati & Prayoga, 2020).

d) Infusdasi

Infusdasi merupakan metode ekstraksi dengan pelarut air. Pada waktu proses infusdasi berlangsung, temperatur pelarut air harus mencapai suhu 90°C

selama 15 menit. Rasio berat bahan dan air adalah 1 : 10, artinya jika berat bahan 100 gr maka volume air sebagai pelarut adalah 1000 ml (Atun, 2014).

e) Dekokta

Dekoksi merupakan proses ekstraksi yang mirip dengan proses infudasi, perbedaannya adalah waktu pemanasan yang diperlukan lebih lama yaitu ≥ 30 menit dan suhu pelarut sama dengan titik didih air (Atun, 2014). Waktu 30 menit ini dihitung setelah suhu mencapai 90°C . Metode ini sudah jarang digunakan karena selain proses penyarian yang kurang sempurna dan juga tidak dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang bersifat termolabil (Marjoni, 2016).

f) Refluks

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

3. Hal-hal yang perlu diperhatikan dalam melakukan ekstraksi

Menurut Marjoni (2016 dan Masud dan Puspitasari, (2017) terdapat beberapa hal yang harus diperhatikan dalam suatu proses ekstraksi yaitu:

a. Jumlah simplisia yang akan diekstrak

Jumlah simplisia yang akan diekstrak terkait erat dengan jumlah pelarut yang akan digunakan. Semakin banyak simplisia yang digunakan, semakin banyak pelarut yang digunakan.

b. Derajat kehalusan simplisia

Sebuah simplisia yang lebih halus memiliki kontak permukaan yang lebih besar dengan pelarut, yang memungkinkan proses ekstraksi yang lebih efisien.

c. Temperatur operasi

Temperatur operasi semakin tinggi temperatur, laju pelarutan zat terlarut oleh pelarut semakin tinggi dan laju difusi pelarut ke dalam serta ke luar padatan semakin tinggi pula.

d. Waktu ekstraksi

Waktu ekstraksi lamanya waktu ekstraksi mempengaruhi volume ekstrak yang diperoleh, semakin lama waktu ekstraksi semakin lama juga waktu kontak antara pelarut dengan bahan sebagai padatan, sehingga semakin banyak zat terlarut yang terkandung di dalam padatan yang terlarut didalam pelarut.

e. Jenis pelarut

Jenis pelarut hal ini terkait dengan kepolaran pelarut.

f. Jumlah pelarut

Jumlah pelarut semakin banyak jumlah pelarut semakin banyak pula jumlah produk yang akan diperoleh, hal ini dikarenakan distribusi partikel dalam pelarut semakin menyebar, sehingga memperluas permukaan kontak, dan perbedaan konsentrasi *solute* dalam pelarut dan padatan semakin besar.

D. Gel Dari Ekstrak Bahan Alam

1. Pengertian Gel

Merupakan sediaan semipadat yang terdiri dari suspensi yang dibuat dari partikel anorganik kecil atau molekul organik besar, yang terpenetrasi oleh suatu cairan (Widodo, 2012). Zat-zat pembentuk gel digunakan sebagai pengikat dalam

granulasi, koloid pelindung dalam suspense, pengental untuk sediaan oral dan sebagai basis supositoria. Sediaan gel secara luas banyak digunakan pada produk obat-obatan, kosmetik dan makanan juga pada beberapa proses industri. Kosmetik yaitu sebagai sediaan untuk perawatan kulit, shampo, sediaan pewangi dan pasta gigi (Herdiana, 2012).

Gel dalam penelitian ini dilakukan dengan mengencerkan stok sampel yang sudah ditimbang dengan formulasi pelarut *hydroxy propyl methyl cellulosa* (HPMC), metil paraben, propilenglikol, dan add akuades (Salsabilla, dkk., 2023). Pembuatan variasi konsentrasi gel dilakukan dalam labu ukur dengan volume total 100mL. Komposisi variasi konsentrasi gel kombinasi ekstrak etanol daun serai dan daun pepaya dapat dilakukan dengan cara yang dirangkum dalam tabel 1 berikut:

Tabel 1
Formula Sediaan Gel Kombinasi Ekstrak Etanol
Daun Serai Dan Daun Pepaya

Komposisi	Fungsi	Satuan	K-	2%	4%	5%	8%	10%
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Ekstrak	Bahan aktif	g	-	2	4	5	8	10
HPMC	Bahan dasar	g	1,35	1,35	1,35	1,35	1,35	1,35
Metil Paraben	Pengawet	g	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Propilenglikol	Kosolven	mL	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5
Akuades	Pelarut	mL	add 100	add 100	add 100	add 100	add 100	add 100

Kelebihan sediaan gel adalah efek pendinginan pada kulit saat digunakan, pada pemakaian di kulit setelah kering meninggalkan film tembus pandang, elastis, mempunyai daya lekat tinggi yang tidak menyumbat pori sehingga pernapasan pori tidak terganggu, mudah dicuci dengan air, pelepasan obat baik, kemampuan penyebaran pada kulit baik (Wardiyah, 2015).

Kekurangan sediaan gel untuk hydrogel, harus menggunakan zat aktif yang larut dalam air sehingga diperlukan penggunaan peningkat kelarutan seperti surfaktan agar gel tetap jernih pada berbagai perubahan temperatur, mudah dicuci atau hilang ketika berkeringat, kandungan surfaktan yang tinggi dapat menyebabkan iritasi dan harga lebih mahal. Penggunaan emolien golongan ester harus diminimalkan atau dihilangkan untuk mencapai kejernihan yang tinggi (Wardiyah, 2015).

2. Syarat Gel

Gel baik harus memenuhi persyaratan seperti homogen yaitu bahan obat dan dasar gel yang harus mudah larut dan terdispersi dalam air atau pelarut yang cocok sehingga pembagian dosis sesuai dengan tujuan terapi yang diharapkan, memiliki viskositas dan daya lekat tinggi, mudah merata biladioleskan, mudah tercucikan dengan air dan memberikan rasa lembut saat digunakan (Sari, 2017)

Menurut Riski, dkk. (2023) terdapat beberapa uji untuk mengetahui kualitas sediaan gel, diantaranya sebagai berikut:

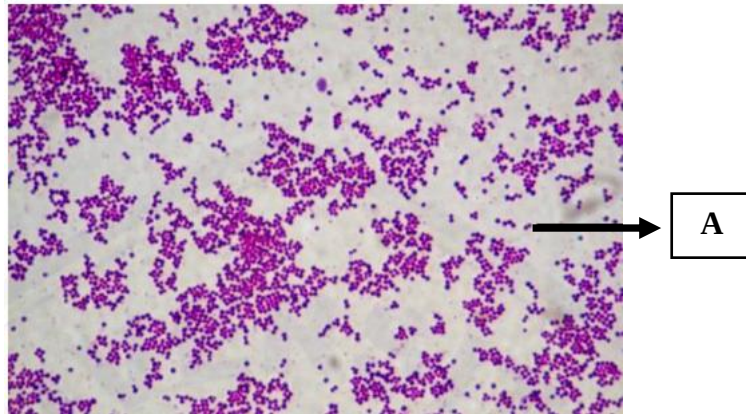
- a. Uji organoleptik, uji ini meliputi pemeriksaan perubahan warna, bau, dan bentuk sediaan gel. Sediaan gel yang baik yaitu jernih dengan konsistensi setengah padat (Nurwaini & Saputri, 2018).
- b. Uji homogenitas, uji ini dilakukan dengan cara mengoleskan gel pada gelas obyektif. Gel dikatakan homogen jika tidak terlihat adanya butiran kasar.
- c. Uji pH, uji ini dilakukan dengan tujuan agar sediaan memiliki pH yang sesuai dengan pH kulit yang berada pada kisaran 4,5 - 6,5. Uji ini dilakukan menggunakan pH meter yang telah dikalibrasi (Yuniarsih & Sari, 2021).

- d. Uji viskositas, uji ini dilakukan dengan cara sediaan gel dimasukkan kedalam wadah gelas kemudian diukur viskositasnya dengan menggunakan Viskometer Brookfield dengan Spindle 64 rpm.
- e. Uji daya sebar, uji ini dilakukan dengan cara sediaan gel sebanyak 0,5 gram diletakkan pada kaca bulat beralaskan kertas grafik, kaca lainnya diletakkan diatasnya dan dibiarkan selama 1 menit. Setelah itu, ditambahkan beban seberat 50 gram, 10 gram, 150 gram, 200 gram, dan 250 gram, diamkan selama 1 menit lalu diukur diameter konstan.
- f. Uji daya lekat, uji ini dilakukan dengan cara sediaan gel sebanyak 0,25 gram diletakkan di gelas objek dan ditutup dengan gelas objek lainnya pada alat uji daya lekat, lalu ditekan dengan beban 250 gram selama 5 menit. Setelah itu beban diangkat dan diberikan lagi beban 50 gram pada alat tersebut dan dicatat waktunya hingga kedua gelas objek terlepas.

E. *Staphylococcus aureus*

1. Morfologi dan fisiologi

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif berbentuk bulat atau kokus dengan diameter kurang lebih 1 μm , tersusun dalam kelompok tidak beraturan (seperti buah anggur), dapat pula tersusun empat-empat (tetrad), membentuk rantai (3 hingga 4 sel), berpasangan atau satu-satu. *Staphylococcus aureus* bersifat non-motil, nonspora, anaerob fakultatif, katalase positif dan oksidase negatif. *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh pada suhu 6,5 hingga 46°C dan pada pH 4,2 hingga 9,3 (Dewi, 2013).



Gambar 1. Morfologi bakteri *Staphylococcus aureus* (Sumber Kurniah, 2016)

Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* menurut Soedarto (2015) diuraikan sebagai berikut:

Domain : *Bacteria*
 Kingdom : *Eubacteria*
 Filum : *Firmicutes*
 Kelas : *Bacilli*
 Ordo : *Bacillales*
 Famili : *Staphylococcaceae*
 Genus : *Staphylococcus*
 Spesies : *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2 μm , yang tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak (Kristiani, 2018). *Staphylococcus aureus* pada pewarnaan Gram bersifat gram positif dan jika diamati di bawah mikroskop akan terlihat bentuk bulat-bulat bergerombol seperti anggur (Soedarto, 2015).

Berdasarkan bakteri yang tidak membentuk spora, maka *Staphylococcus aureus* termasuk jenis bakteri yang paling kuat daya tahannya. Pada agar miring tetap hidup sampai berbulan-bulan, baik dalam lemari es maupun pada suhu kamar. Dalam keadaan kering pada benang, kertas kain dan dalam nanah tetap hidup selama 6-14 minggu (Syahrurahman et al., 2010).

Morfologi koloni *Staphylococcus aureus* pada agar gizi yang telah diinkubasi selama 24 jam didapatkan koloni berukuran 2-4 mm, bulat, cembung, licin, berkilat, keruh, memiliki tepi yang rata, mudah diemulsikan dan membentuk pigmen berwarna kuning emas. Penambahan susu atau 1% gliserol monoasetat dapat meningkatkan pembentukan pigmen. Bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki pigmen *staphyloxanthin* yang berfungsi sebagai faktor virulensi, sehingga koloni bakteri berwarna kuning (Soedarto, 2015).

Staphylococcus aureus pada tes koagulasi menunjukkan hasil positif. Bakteri ini melindungi diri terhadap fagositosis dan respon imun hospes dengan cara menggumpalkan fibrinogen di dalam plasma menggunakan faktor koagulasi darah yang dimilikinya. Koagulasi merupakan salah satu faktor virulensi bakteri *Staphylococcus aureus*. Bakteri ini juga menghasilkan eksotoksin sitolitik, leukosidin dan exfoliatin yang dapat merusak sel hospes (Soedarto, 2015).

2. Patogenitas *Staphylococcus aureus*

Kemampuan patogenik dari *Staphylococcus aureus* disebabkan oleh efek gabungan dari faktor ekstra selular dan toksin, serta karakter invasif strain seperti adhesi, pembentukan biofilm, dan resistensi fagositosis (Purbowati, Rianti dan Ama, 2017). Kolonisasi dari *Staphylococcus aureus* 30% berada pada lubang hidung orang sehat, dapat pula ditemukan pada permukaan kulit. Infeksi dari

Staphylococcus aureus dapat terjadi apabila dijumpai sisi lemah dari penjamu, seperti kulit yang terluka misalnya infeksi pada luka operasi. *Staphylococcus aureus* juga dapat masuk melalui membran mukosa misalnya pada pneumonia akibat penggunaan ventilator (Utaminingsih, 2015).

Staphylococcus aureus mampu bertahan hidup dan mengakibatkan berbagai manifestasi klinis karena memiliki banyak faktor virulensi. *Staphylococcus aureus* menghasilkan peptidoglikan yang merupakan polimer pembentuk dinding sel bakteri, peptidoglikan berfungsi menghambat respon inflamasi dan memiliki *endotoxin-like activity*. Bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki protein sel permukaan atau *Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules* (MSCRAMMs), seperti *clumping factors* yang berikatan dengan fibrinogen, *fibronectin-binding proteins* yang berikatan dengan fibronektin, kolagen, dan *bone sialoprotein-binding proteins*. Protein permukaan tersebut bersama-sama memperantarai perlekatan bakteri ke jaringan inang. Keberadaan faktor tersebut dihubungkan dengan terjadinya endokarditis, osteomielitis, septik arthritis, dan infeksi akibat penggunaan alat prostetik serta kateter (Utaminingsih, 2015).

Staphylococcus aureus dapat membentuk barisan perlindungan dengan memproduksi koagulase yang mengkatalisis perubahan fibrinogen menjadi fibrin. Bakteri ini juga memiliki reseptor terhadap permukaan sel penjamu dan protein matriks seperti fibronektin dan kolagen yang membantu proses adhesi. Bakteri ini mempunyai enzim litik ekstraseluler seperti lipase, yang memecah jaringan penjamu dan membantu invasi. Karena sifat destruktif lokalnya, *Staphylococcus*

aureus dapat menimbulkan peradangan piogenik yang khas, baik lesi di kulit, tulang, atau katup jantung (Husna, 2018).

Eksotoksin kuat yang dihasilkan oleh beberapa strain menyebabkan sindrom syok toksik. Selain itu, enterotoksin yang diproduksi juga dapat menyebabkan diare. Dengan antibodi yang cukup, *Staphylococcus aureus* dapat dengan cepat difagositosis, namun sebagian besar bakteri tetap bertahan dan sangat sulit untuk dimusnahkan seluruhnya (Husna, 2018).

3. Penyakit yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*

Menurut Warsa (1994) dalam Sri Agung. F.K. (2009), sebagian bakteri *Staphylococcus* merupakan flora normal pada kulit, saluran pernapasan, dan saluran pencernaan makanan pada manusia. Selain itu, bakteri ini juga ditemukan di udara dan lingkungan sekitar. *Staphylococcus aureus* yang patogen bersifat invasif, menyebabkan hemolisis, membentuk koagulasi, dan mampu meragikan mannitol.

Menurut Sri Agung. F.K. (2009), Infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* ditandai dengan kerusakan jaringan yang disertai abses bernanah. Beberapa penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* di antaranya adalah bisul, jerawat, impetigo, dan infeksi luka. Infeksi yang lebih berat di antaranya pneumonia, mastitis, flebitis, meningitis, infeksi saluran kemih, osteomyelitis, dan endocarditis. *Staphylococcus aureus* juga merupakan penyebab utama infeksi nosokomial, keracunan makanan, dan sindrom syok toksik (Ryan, et. al., 1994; Warsa, 1994).

Keracunan makanan yang disebabkan oleh kontaminasi enterotoksin dari *Staphylococcus aureus*, waktu onset dari gejala keracunan biasanya cepat dan akut, tergantung pada daya tahan tubuh dan banyaknya toksin yang termakan. Jumlah

toksin yang dapat menyebabkan keracunan makanan adalah 1,0 µg/gr makanan (Sri Agung, F.K. (2009). Gejala keracunan ditandai dengan mual, muntah-muntah, dan diare yang hebat tanpa disertai demam (Ryan, et. al., 1994; Jawetz, et. al., 1995).

F. Pengukuran Aktivitas Antimikroba

Penentuan aktivitas antimikroba dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode dilusi. Metode difusi merupakan teknik secara kualitatif karena metode ini hanya akan menunjukkan ada atau tidaknya senyawa dengan aktivitas antimikroba. Sedangkan metode dilusi digunakan untuk kuantitatif yang akan menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) (Dewi, Febriani & Wenas, 2019).

1. Metode difusi

Tujuan dari metode difusi adalah untuk mengukur aktivitas antimikroba secara kualitatif. Metode difusi bekerja dengan menempatkan cakram kertas dengan antimikroba tertentu pada media yang telah dipenuhi dengan mikroorganisme yang akan diuji secara merata. Difusi cakram menentukan konsentrasi antimikroba, dan pertumbuhan organisme uji menghambat penyebarannya sepanjang difusi antimikroba, yang menghasilkan zona jernih di sekitar cakram. Oleh karena itu, bakteri tersebut merupakan bakteri yang sensitif terhadap antimikroba (Soleha, 2015).

Terdapat hubungan persamaan yang hampir linear (berbanding lurus) antara log MIC, seperti yang diukur oleh metode dilusi dan diameter zona daya hambat pada metode difusi (Soleha, 2015). Keuntungan metode difusi yaitu mudah untuk dilakukan dan cepat karena tidak menggunakan alat khusus. Pada metode difusi ini menggunakan kertas cakram, media agar yang sudah diinokulasi pada bakteri

selanjutnya dimasukkan kertas cakram pada media dan diisi senyawa uji (Damayanti, Mariani & Nuari, 2022).

2. Metode dilusi

Metode dilusi terdiri dari dua teknik pengerjaan, yaitu teknik dilusi perbenihan cair dan teknik dilusi agar. Metode dilusi merupakan metode yang bertujuan untuk penentuan aktivitas antimikroba secara kuantitatif. Prinsip kerja dari metode dilusi yaitu, antimikroba dilarutkan kedalam media agar atau kaldu, kemudian ditanami bakteri yang akan dites dan diinkubasi. Setelah diinkubasi semalam, konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri disebut dengan MIC (*Minimal Inhibitory Concentration*) (Soleha, 2015). Keuntungan metode dilusi yaitu satu agen antibakteri dapat digunakan untuk beberapa bakteri. Metode dilusi ini melakukan seri pengenceran antimikroba yang ditetesi dengan bakteri uji (Damayanti, Mariani & Nuari, 2022).

G. Mekanisme Kerja Zat Antibakteri

1. Sifat Antibakteri

Antibakteri merupakan zat-zat kimia yang dihasilkan oleh organisme seperti fungi dan bakteri, substansi yang dihasilkan yang dapat membunuh bakteri patogen dan dapat menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan toksisitas terhadap manusia relatif kecil (Susanto, 2018; Magani, Tallei dan Kolondam, 2020). Terdapat dua sifat anti bakteri yaitu bakteristatik dan bakterisidal.

Kerja antibakteri yang bersifat memusnahkan mikroorganisme dinamakan aktivitas bakterisida, sedangkan kerja bakteri yang bersifat menghambat mikroorganisme dinamakan bakteristatik. Bakterisida atau bakteriosida merupakan sifat toksisitas selektif antimikroba yang bersifat membunuh mikroba,

sedangkan bakteriostatik merupakan sifat toksisitas antimikroba yang bersifat menghalangi atau menghambat pertumbuhan mikroba (Waluyo, 2022).

a. Bakteriostatik

Sifat antimikroba bakteriostatik menghentikan atau mencegah berkembangnya bakteri. Dalam kondisi ini, bakteri tidak berkembang atau berkembang biak, dan jumlah bakteri tetap konstan. Antimikroba bakteriostatik hanya dapat menghambat dan mencegah perkembangan kuman, tidak dapat membunuh kuman. Antimikroba bakteriostatik termasuk sulfonamida, tetrasiklin, eritromisin, kloramfenikol, novobiosin (dalam konsentrasi rendah), asam salisil, paraamino (PAS), linkomisin, klindamisin, dan nitrofurantoin (dalam konsentrasi rendah atau dalam lingkungan basa) (Muntasir, dkk., 2022).

b. Bakterisida

Sifat antimikroba bakterisida membunuh bakteri secara aktif, mencegah perkembangbiakan atau penyebaran bakteri lainnya. Antimikroba bakterisida termasuk penisilin, streptomisin, polimiksin, neomisin, eritromisin, kanamisin, gentamisin, kotrimoksazol, vankomisin, kolistin, novobiosin, isoniazid, basitrasin, dan nitrofurantoin (dalam kondisi asam atau dalam konsentrasi tinggi) (Muntasir, dkk., 2022).

2. Mekanisme Kerja Antibakteri

Mekanisme kerja antibakteri dapat melalui berbagai cara, di antaranya menghambat sintesis dinding sel, menghambat keutuhan permeabilitas dinding sel, menghambat protein dinding sel, menghambat sintesis asam nukleat, dan menghambat metabolisme sel mikroba (Jawetz, Melnick, & Adelberg, 2013). Aktivitas bakterisida merujuk pada kemampuan untuk secara efektif memusnahkan

mikroorganisme, sementara bakteriostatik mengacu pada kemampuan untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Sifat toksisitas antimikroba yang dikenal sebagai bakteriostatik mencegah atau menghambat pertumbuhan mikroba, sementara bakteriosida atau bakterierisida membunuh mikroba secara selektif (Waluyo, 2022).

Senyawa antimikroba yang berasal dari bahan alam yang berasal tumbuhan kini secara terus-menerus dikembangkan, dimana lebih dari 300 senyawa metabolit alam menunjukkan aktivitas mikroba dan sekitar 145 senyawa berpotensi sebagai antimikroba dengan MIC sebesar 0,02-10 µg/ mL (Salem dkk., 2010). Antimikroba bekerja menggunakan salah satu dari beberapa mekanisme yaitu, melalui toksisitas selektif, melalui penghambatan sintesis dan fungsi membran sel, melalui inhibisi sintesis protein, atau melalui inhibisi sintesis asam nukleat. Suatu agen antimikroba yang ideal memiliki toksisitas selektif yang artinya obat tersebut hanya berbahaya bagi patogen, tetapi tidak berbahaya bagi penjamu (Jawetz, Melnick and Adelberg's, 2013).

a. Penghambatan sintesis dinding sel

Bakteri memiliki lapisan dinding sel yang kuat. Dinding sel ini menciptakan tekanan osmotik yang tinggi dan mempertahankan bentuk dan ukuran mikroorganisme. Lisis sel dapat terjadi karena kerusakan pada dinding sel (misalnya, oleh lisozim) atau penghentian pembentukannya. Dalam lingkungan hipertonik (misalnya, pada kadar sukrosa 20%), susunan dinding sel yang rusak menghasilkan pembentukan "protoplas" bakteri gram positif atau "spheroplast" bakteri gram negatif. Protoplas atau spheroplast ini dibatasi oleh membran sitoplasma yang rapuh. Apabila protoplasma atau sferoplasma ditempatkan dalam

lingkungan dengan konsentrasi larutan normal, mereka akan menyerap cairan dengan cepat, mengalami pembengkakan, dan berpotensi untuk pecah (Jawetz, Melnick and Adelberg's, 2013). Dinding sel yang lisis bisa memengaruhi tata letak serta struktur sel, yang akhirnya dapat membunuh sel bakteri tersebut (Radji, 2015).

b. Penghambatan fungsi membran sel

Seluruh sel hidup memiliki sitoplasma yang dibatasi oleh membran sitoplasma. Membran ini berperan sebagai penghalang dengan selektivitas permeabilitas, serta bertanggung jawab atas transportasi aktif yang mengatur komposisi dalam sel. Jika keutuhan fungsional membran sitoplasma terganggu, makromolekul dan ion akan keluar dari sel, yang dapat menyebabkan kerusakan atau kematian sel (Jawetz, Melnick and Adelberg's, 2013).

c. Penghambatan sintesis asam nukleat

DNA, RNA, dan protein bertanggung jawab atas proses kehidupan sel. Kerusakan sel dapat terjadi karena gangguan pada pembentukan atau fungsi zat tersebut (Ristiati, 2015). Dengan mengikat kuat pada RNA polimerase bakteri yang bergantung pada DNA, zat antibakteri menghentikan pertumbuhan bakteri. Ini menghentikan pembentukan RNA bakteri (Jawetz, Melnick and Adelberg's, 2013).

d. Penghambatan kerja enzim

Setiap enzim dalam sel dapat ditargetkan oleh penghambatnya. Berbagai zat kimia telah terbukti menghambat reaksi biokimia, yang dapat mengganggu metabolisme atau bahkan menyebabkan kematian sel (Ristiati, 2015). Beberapa faktor dapat memengaruhi aktivitas antibakteri, seperti tingkat sensitivitas bakteri, konsentrasi zat antimikroba, kondisi inang (dalam uji in vivo), umur mikroba, suhu, waktu kontak, pH, kelembaban, tegangan permukaan, jenis dan sifat zat terlarut,

serta keberadaan koloid dan senyawa-senyawa lainnya. (Yanuhar, 2016); (Li ,dkk., 2017 dalam Novitasari dan Wijayanti, 2018).

H. Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Aktivitas Antimikroba

Sifat antimikroba dapat diukur melalui aktivitas selcara in vitro. Ini juga dapat menentukan jumlah sulat antimikroba dalam larutan dan seberapa tahan sulat mikroorganisme terhadap kontak dengan sulat obat (Jawetz, Melnick and Adelberg's, 2013). Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi aktivitas antimikroba, berikut merupakan hal-hal yang harus dipertimbangkan karena akan mempengaruhi hasil pemeriksaan.

1. pH lingkungan

Beberapa obat lebih aktif pada pH asam (misalnya, nitrofurantoin), pada pH basa (misalnya, aminoglikosida, sulfonamida) (Jawetz, Melnick and Adelberg's, 2013). Mikroba yang terdapat pada pH asam dapat dibasmi dalam waktu yang lebih singkat dibandingkan dengan mikroorganisme yang sama di dalam lingkungan basa (Fifendy, 2017).

2. Suhu

Kenaikan suhu dapat meningkatkan keefektifan aktivitas zat antimikroba (Fifendy, 2017). Sebagian besar bakteri tumbuh optimal pada suhu tubuh manusia. Akan tetapi, beberapa bakteri dapat tumbuh dalam lingkungan ekstrim yang berada diluar batas pertahanan organisme eukariot. Bakteri digolongkan menjadi tiga bagian besar berdasarkan suhu tumbuh. Psikrofil yaitu bakteri yang dapat hidup diudara dingin, mesofil yaitu bakteri yang dapat hidup di udara bersuhu sedang, termofil, bakteri yang hidup diudara panas (Radji, 2015).

3. Komponen medium

Media mempengaruhi ukuran zona melalui efeknya terhadap kecepatan pertumbuhan organisme, kecepatan difusi obat antimikroba, dan aktivitas obat (Vandepitte et al., 2011). *Sodium polyanetholsulfonate* (dalam medium kultur darah) dan detergen anionik dapat menghambat aminoglikosida. Protein serum mengikat penisilin dalam derajat yang berbeda-beda, berkisar dari 40% untuk metisilin hingga 98% untuk dikloksasilin (Jawetz, Melnick and Adelberg's, 2013).

4. Konsentrasi zat antimikroba

Pengaruh konsentrasi zat antimikroba yaitu semakin tinggi konsentrasi zat semakin cepat sel-sel mikroba terbunuh (Fifendy, 2017).

5. Kestabilan obat

Pada suhu inkubator, beberapa agen antimikroba kehilangan aktivitas mereka. Antimikroba seperti penisilin mengalami inaktivasi secara lambat, sedangkan *aminoglikosida* dan *siprofloksasin* cukup stabil untuk periode yang lama (Jawetz, Melnick and Adelberg's, 2013).

6. Ukuran dan kepekatan inokulum

Secara umum, semakin besar inokulum bakteri, semakin rendah kerentanan yang tampak pada organisme itu. Populasi besar bakteri lebih lambat dan lebih jarang mengalami inhibisi total dibandingkan populasi kecil. Selain itu, suatu mutan resisten jauh lebih mungkin muncul pada populasi yang besar (Jawetz, Melnick and Adelberg's, 2013). Semakin banyak jumlah mikroba semakin banyak perlakuan yang harus diberikan (Fifendy, 2017). Jika inokulum terlalu encer, zona hambatan akan menjadi lebih lebar walaupun kepekaan organismenya tidak berubah. Galur yang relatif resisten mungkin dilaporkan sebagai sensitif, sebaliknya jika inokulum terlalu pekat, ukuran zona akan menyempit dan galur yang sensitif dapat dilaporkan

sebagai resisten. Biasanya hasil optimal didapat dengan ukuran inokulum yang menghasilkan pertumbuhan yang hampir menyatu (konfluen) (Vandepitte et al., 2011).

7. Waktu pemasangan cakram

Jika setelah ditanami dengan galur uji lempeng agar, dibiarkan pada suhu ruang lebih lama dari waktu baku, perkembangbiakan mikroorganisme dapat terjadi sebelum cakram dipasang. Hal ini menyebabkan zona hambat yang terbentuk kecil dan dapat menyebabkan suatu galur sensitif dilaporkan resisten terhadap bahan yang diuji (Vandepitte et al., 2011).

8. Ukuran lempeng, ketebalan media agar, dan pengaturan jarak cakram antimikroba

Uji kepekaan biasanya dikerjakan menggunakan cawan petri ukuran 9-10 cm dan tidak lebih dari enam atau tujuh cakram antimikroba pada tiap lempeng agar. Jika jumlah antimikroba yang harus diuji lebih banyak, lebih disarankan menggunakan dua lempeng atau satu lempeng agar berdiameter 14 cm. Zona hambatan yang sangat besar mungkin terbentuk pada media yang sangat tipis, dan sebaliknya berlaku untuk media yang tebal. Perubahan kecil dalam ketebalan lapisan agar efeknya dapat diabaikan. Pengaturan jarak cakram yang tepat sangat penting untuk mencegah tumpang tindihnya zona hambatan atau deformasi di dekat tepi-tepi lempeng (Vandepitte et al., 2011).

9. Umur mikroba

Kecepatan populasi mikroba mengalami kematian erat berkaitan dengan umur mikroba. Umumnya kultur yang tumbuh aktif (masih muda) lebih rentan

terhadap bahan pensterilan bila dibandingkan dengan yang sudah tua (fase stationer) (Ristiati, 2015).

10. Lama inkubasi

Semakin lama masa inkubasi berlangsung, semakin besar kemungkinan mutasi resisten muncul atau semakin besar kesempatan bagi anggota yang paling tidak sensitif terhadap antimikroba untuk mulai memperbanyak diri seiring dengan berkurangnya obat (Jawetz, Melnick and Adelberg's, 2013).

11. Potensi cakram antimikroba

Diameter zona hambatan terkait dengan jumlah obat dalam cakram. Jika potensi obat berkurang akibat rusak selama penyimpanan, zona hambatan akan menunjukkan pengurangan ukuran (Vandepitte et al., 2011).

12. Spesies mikroba

Spesies mikroba menunjukkan kerentanan yang berbeda-beda. Pada spesies pembentuk spora, sel vegetative yang sedang tumbuh lebih mudah dibunuh dibandingkan dengan spora (Fifendy, 2017).

13. Aktivitas metabolik mikroorganisme

Organisme yang aktif dan cepat tumbuh lebih sensitif terhadap kerja obat dibandingkan organisme yang berada dalam fase istirahat. Organisme yang tidak aktif secara metabolik dan bertahan hidup pada paparan obat yang lama mungkin memiliki keturunan yang sepenuhnya sensitif terhadap obat yang sama (Jawetz, Melnick and Adelberg's, 2013).

14. Adanya bahan organik

Bahan organik asing dapat menurunkan keefektifan zat antimikrobal dengan cara menginaktifkan bahan-bahan tersebut atau melindungi

mikroorganisme. Adanya bahan organik di dalam campuran desinfektan mikroorganisme dapat mengakibatkan:

- a. Penggabungan desinfektan dengan bahan organik dapat membentuk produk yang tidak bersifat antimikrobial.
- b. Penggabungan desinfektan dengan bahan organik menghasilkan suatu endapan sehingga desinfektan tidak mungkin lagi mengikat mikroorganisme.