

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tumbuhan Sirih Cina

1. Deskripsi dan klasifikasi tumbuhan sirih cina

Peperomia sp., atau dikenal dengan sebutan sirih cina, tumpang air, dan suruhan, merupakan tumbuhan herbal yang secara tradisional telah digunakan sebagai obat oleh masyarakat Indonesia. Tumbuhan ini tergolong liar dan sering dianggap sebagai gulma, namun mudah ditemukan di daerah tropis seperti Indonesia. Sirih cina tumbuh baik di lingkungan lembab dan teduh, sehingga mudah diakses dan dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai bahan pengobatan alami (Razoki, Lister dan Mutia, 2025).



Gambar 1 Tumbuhan Sirih Cina

(Sumber: Silalahi, 2022)

Adapun klasifikasi ilmiah dari tumbuhan sirih cina (*Peperomia sp.*), yaitu (Permadani dkk., 2024):

Kingdom : *Plantae*
Sub kingdom : *Tracheobionta*
Super divisi : *Spermatophyta*
Divisi : *Magnoliophyta*

Kelas : *Magnoliopsida*

Sub kelas : *Magnoliidae*

Ordo : *Piperales*

Family : *Piperaceae*

Genus : *Peperomia*

2. Morfologi tumbuhan sirih cina

Sirih cina (*Peperomia sp.*) termasuk jenis herba liar dari famili *Piperaceae*. Tumbuhan ini memiliki akar serabut berwarna putih yang tumbuh dangkal di permukaan tanah. Batangnya tegak dengan tinggi sekitar 20-40 cm, bercabang, berbentuk silindris dengan diameter kurang lebih 5 mm, berair, lunak, dan berwarna hijau muda hingga hijau pucat. Cabang-cabangnya memiliki ruas yang menyerupai tumbuhan sirih pada umumnya. Daun sirih cina bertipe tunggal dan tersusun spiral, berbentuk lonjong dengan panjang 1-4 cm serta lebar 0,5-2 cm. Permukaan daun halus, berwarna hijau, berbentuk menyerupai hati dengan ujung meruncing, pangkal berlekuk, tepi rata, dan tulang daun melengkung. Bunganya tersusun dalam bentuk bulir berwarna hijau dengan panjang 1-6 cm dan tumbuh di ujung tangkai. Sementara itu, buahnya berukuran kecil, berbentuk bulat dengan ujung meruncing, berdiameter kurang dari 1 mm, berwarna hijau saat muda, dan berubah menjadi cokelat ketika matang (Marbun dkk., 2025).

3. Manfaat tumbuhan sirih cina

Kemampuan sirih cina (*Peperomia sp.*) sebagai tumbuhan obat berkaitan dengan kandungan senyawa bioaktif yang terdapat di dalamnya. Berbagai penelitian melaporkan bahwa tumbuhan ini memiliki aktivitas antiinflamasi, antipiretik, antimikroba, serta antikanker. Secara turun-temurun, sirih cina telah

lama dimanfaatkan masyarakat sebagai obat asam urat, penyakit jantung, kanker, dan antidiabetes, baik dalam bentuk segar (lalapan), infus, maupun rebusan. Infus dan rebusan bagian daun serta batang kerap digunakan untuk mengatasi artritis, peradangan, menurunkan kolesterol, kanker, diabetes, gangguan ginjal, dan luka bakar. Tumbuhan ini juga diketahui mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid, dan tanin yang berperan sebagai senyawa bioaktif. Sirih cina juga banyak digunakan untuk menangani berbagai masalah kesehatan, termasuk infeksi kulit, luka, demam, hipertensi, hingga gangguan metabolik seperti diabetes dan hiperkolesterolemia (Aulia dkk., 2025; Razoki, Lister dan Mutia, 2025).

4. Kandungan metabolit sekunder sirih cina

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, sirih cina diketahui mengandung berbagai jenis senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid, dan triterpenoid (Permadani dkk., 2024; Santika dkk., 2024; Citraningsih dkk., 2024; Dalope dkk., 2024). Mekanisme kerja dari metabolit sekunder tersebut berbeda-beda tergantung pada jenis senyawanya. Adapun karakteristik dan mekanisme kerja dari senyawa metabolit sekunder yaitu :

a. Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen dan umumnya memiliki struktur cincin heterosiklik. Alkaloid banyak ditemukan pada bagian tumbuhan seperti akar, biji, batang, dan daun. Alkaloid menunjukkan berbagai aktivitas, mulai dari yang menyehatkan hingga dapat bersifat racun. Kandungan nitrogennya yang tinggi menyebabkan senyawa ini memiliki sifat antibakteri maupun antimikroba (Maslahah dan Nurhayati, 2024). Dalam perannya sebagai antibakteri, alkaloid menghambat pembentukan

komponen peptidoglikan pada dinding sel bakteri sehingga bakteri tidak mampu untuk membentuk dinding sel yang utuh mengakibatkan kerusakan struktur sel dan berujung pada kematian sel (Ramadhani dkk., 2024). Selain itu, alkaloid juga diketahui memiliki sejumlah manfaat farmakologis, termasuk sebagai antioksidan, hepatoprotektor, dan analgesik.

b. Flavonoid

Flavonoid adalah golongan fenolik yang paling melimpah di alam, dengan keberagaman struktur yang dipengaruhi oleh perbedaan pola alkoksilasi, glikosilasi, serta hidroksilasi (Julianto, 2019). Flavonoid memiliki beragam manfaat, mulai dari sifat antimutagenik, antiinflamasi, antioksidan, hingga kemampuan menurunkan risiko pembentukan kanker (Khafid dkk., 2023). Flavonoid juga bekerja sebagai antibakteri dengan cara berikatan dengan protein ekstraseluler dan protein terlarut. Ikatan ini merusak kestabilan fosfolipid, membuat membran sel bakteri tidak mampu mempertahankan bentuknya dan mengakibatkan kebocoran. Kebocoran membran tersebut menyebabkan pertumbuhan bakteri terhambat bahkan dapat mematikan sel (Pertiwi, Rezaldi dan Puspitasari, 2022).

c. Tanin

Tanin merupakan polifenol kompleks dengan berat molekul yang tinggi dan memiliki kemampuan mengikat serta mengendapkan protein. Senyawa ini umumnya ditemukan pada daun, akar, kulit kayu, buah, dan pucuk tumbuhan. Tanin diketahui memiliki aktivitas sebagai antioksidan, antiinflamasi, antikanker, dan juga antimikroba (Kurniawan dkk., 2024). Sebagai antibakteri, tanin bekerja dengan menghambat enzim *reverse transkriptase* dan DNA *topoisomerase*, yang menyebabkan dinding sel bakteri mengalami lisis. Akibatnya, pembentukan

dinding sel terhambat dan sel bakteri tidak dapat bertahan hidup (Ramadhani dkk., 2024).

d. Saponin

Sebagai senyawa glikosida, saponin mampu membentuk sistem koloidal dalam air serta menimbulkan busa akibat pengocokan. Karakteristik lainnya adalah rasa pahit yang kuat dan bersifat iritasi terhadap selaput lendir, sehingga dapat menimbulkan bersin (Anggraito dkk., 2018). Saponin bekerja sebagai antibakteri dengan menembus dinding sel bakteri dan kemudian mengikat membrannya, memicu keluarnya sitoplasma dari sel dan menyebabkan sel mati. Kerusakan membran yang ditimbulkan juga menurunkan permeabilitas sel, sehingga pergerakan zat masuk dan keluar menjadi tidak teratur (Rohama, Melviana dan Rahmadani, 2023).

e. Steroid

Steroid merupakan kelompok metabolit sekunder alami yang memiliki struktur dasar berupa empat cincin yang saling berfusi. Senyawa ini diketahui memiliki beragam aktivitas yaitu sebagai antitumor, antivirus, antioksidan, dan antibakteri (Vollaro dkk., 2020). Sebagai antibakteri senyawa steroid memiliki mekanisme kerja dengan merusak integritas membran sel bakteri. Sifatnya yang lipofilik memungkinkan steroid berikatan dengan fosfolipid membran, sehingga dapat memicu perubahan struktur membran, meningkatkan permeabilitas, dan akhirnya menyebabkan sel mengalami lisis (Khoirotunnisa dkk., 2025).

f. Triterpenoid

Triterpenoid adalah senyawa turunan terpenoid yang tersusun dari enam unit isoprena. Struktur senyawanya dapat berupa siklik maupun rantai terbuka, dan

biasanya mengandung gugus aldehida, alkohol, atau asam karboksilat. Senyawa ini diketahui memiliki potensi sebagai antikanker, antioksidan, antiinflamasi, hingga mencegah penyakit seperti hipertensi, obesitas, dan diabetes (Khafid dkk., 2023).

B. Simplisia dan Metode Ekstraksi

1. Simplisia

Simplisia merupakan bahan alami yang digunakan sebagai obat herbal atau obat tradisional yang belum mengalami proses pengolahan apapun, kecuali melalui tahap pengeringan (Lutfiah dan Taurusta, 2022). Pengeringan sampel atau bagian tumbuhan bisa dilakukan dengan bantuan sinar matahari langsung, dengan cara diangin-anginkan, maupun menggunakan oven. Jika tidak disebutkan secara khusus, suhu oven untuk pengeringan tidak boleh melebihi 60°C. Menurut Nasri dkk., (2023) simplisia dapat dibedakan menjadi 3 jenis, yaitu:

a. Simplisia nabati

Simplisia nabati adalah simplisia yang bersumber dari tumbuhan, baik dalam bentuk tanaman utuh, bagian spesifik tanaman, maupun eksudat tanaman berupa zat yang keluar dari sel secara alami atau dihasilkan melalui perlakuan tertentu.

b. Simplisia hewani

Simplisia hewani adalah simplisia yang bersumber dari hewan, baik berupa hewan utuh, bagian tubuh hewan, maupun zat yang dihasilkan oleh hewan, dan belum mengalami permurnian menjadi senyawa kimia murni.

c. **Simplisia pelikan atau mineral**

Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia yang bersumber dari pelikan atau mineral yang belum mengalami proses pengolahan, atau hanya melalui proses pengolahan sederhana, dan belum berbentuk senyawa kimia murni.

2. Metode ekstraksi

Ekstraksi adalah metode pemisahan suatu komponen dari campuran menggunakan pelarut sebagai pemisah. Melalui teknik ini, satu atau beberapa senyawa dapat ditarik dari sampel menggunakan pelarut yang sesuai. Berdasarkan ada tidaknya pemanasan, ekstraksi dibagi menjadi dua jenis, yaitu ekstraksi dingin dan ekstraksi panas. Ekstraksi dingin dilakukan tanpa pemanasan agar senyawa tetap stabil, sedangkan ekstraksi panas dilakukan dengan pemanasan untuk meningkatkan kecepatan ekstraksi. Adapun jenis-jenis metode ekstraksi menurut Hujjatusnaini dkk., (2021); Rismiyati dkk., (2025) yaitu :

a. **Maserasi**

Maserasi merupakan metode yang banyak digunakan dalam penelitian tanaman obat. Metode ini dilakukan dengan cara merendam sampel tanaman ke dalam pelarut dalam wadar yang tertutup dan dibiarkan pada suhu kamar selama minimal 3 – 7 hari sambil sesekali diaduk. Tahapan ini bertujuan untuk melunakkan serta merusak dinding sel tanaman agar senyawa fitokimia yang larut dapat keluar. Setelah didiamkan beberapa hari, larutan hasil perendaman dipisahkan dengan penyaringan. Pada metode ini, jenis pelarut yang digunakan dapat memengaruhi senyawa yang berhasil diekstraksi.

b. Perlokasi

Perlokasi adalah metode ekstraksi yang dilakukan dengan mengalirkan pelarut baru secara berkesinambungan dan biasanya dikerjakan pada suhu ruang. Dalam prosesnya, serbuk simplisia ditempatkan dalam bejana berbentuk silinder yang memiliki sekat berpori pada bagian bawahnya. Teknik ini menggunakan pelarut dalam jumlah besar serta durasi proses yang lama. Keberhasilan proses ekstraksi dengan metode ini dapat diverifikasi melalui pengujian perkolat dengan pereaksi spesifik untuk memastikan adanya metabolit.

c. Refluks

Refluks merupakan teknik ekstraksi yang dilakukan dengan memanaskan pelarut hingga titik didihnya dalam jangka waktu tertentu, dimana jumlah pelarut tetap stabil berkat pendingin balik. Proses ini biasanya diulang beberapa kali (3 – 6 kali) pada residu pertama untuk memperoleh penyaringan yang lebih sempurna. Namun, teknik ini dapat menyebabkan kerusakan pada senyawa yang tidak tahan terhadap panas.

d. Soxhlet

Soxhlet adalah metode ekstraksi yang memanfaatkan pelarut baru secara kontinu melalui alat khusus, sehingga proses penyaringan berlangsung stabil dengan bantuan pendingin balik. Selama pemanasan, pelarut menguap menuju bagian atas, kemudian mengalami kondensasi dan menetes kembali. Ketika mencapai batas pipa samping, sirkulasi terjadi berulang-ulang sehingga memberikan efisiensi ekstrak yang baik. Pelarut yang dipilih harus sesuai dan mampu melarutkan senyawa target secara optimal, yang ditentukan oleh tingkat kesesuaian polaritas pelarut dan polaritas senyawa.

e. Infusa

Infusa merupakan sediaan cair hasil ekstraksi bahan nabati dengan air panas selama 15 menit pada suhu 90°C. Bahan yang digunakan berupa simplisia berjaringan lunak, misalnya daun atau bunga, yang kaya minyak atsiri dan sensitif bila dipanaskan terlalu lama.

f. Dekoktasi

Dekoktasi adalah teknik ekstraksi melalui proses perebusan bahan dengan air pada temperatur 90 – 95°C selama 30 menit. Hasil ekstraksi ini dapat disimpan dalam kondisi dingin untuk pemakaian jangka panjang, asalkan terlindungi dari kontaminasi.

g. Destilasi (penyulingan)

Destilasi merupakan metode pemisahan campuran cair berdasarkan titik didih masing-masing zat. Komponen yang memiliki titik didih paling rendah akan berubah menjadi uap terlebih dahulu. Setelah melewati proses pendinginan, uap senyawa bersama uap air akan terkondensasi dan dipisahkan menjadi destilat air serta senyawa yang diekstraksi. Metode ini biasanya digunakan untuk mengekstrak minyak atsiri tumbuhan.

C. *Staphylococcus aureus*

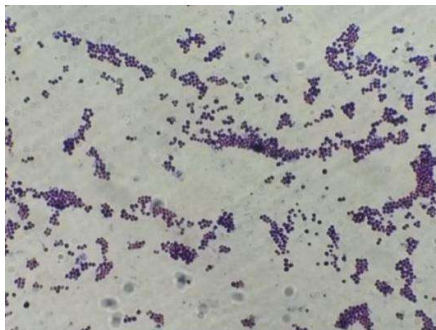
Staphylococcus aureus merupakan flora normal kulit dan saluran nafas atas, yang dapat memicu infeksi apabila terjadi peningkatan pertumbuhan secara berlebihan atau ketika sistem daya tahan tubuh seseorang mengalami penurunan (Sawitri dkk., 2025).

1. Klasifikasi

Klasifikasi ilmiah bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu sebagai berikut (Sari dan Basyarahil, 2021) :

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

2. Morfologi



Gambar 2 Morfologi Bakteri *Staphylococcus aureus*

(Sumber: Hayati dkk., 2019)

Staphylococcus aureus termasuk bakteri Gram positif berbentuk bulat (kokus) dengan ukuran diameter 0,7 μm hingga 1,2 μm dan tersusun dalam kelompok tidak teratur seperti buah anggur. *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh pada kondisi aerob maupun anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak memiliki kemampuan bergerak (non-motil). Karena sifatnya yang tidak membentuk spora

Staphylococcus aureus tergolong bakteri yang memiliki daya tahan lingkungan sangat kuat. Dalam kondisi kering, bakteri ini dapat hidup selama 6 – 14 minggu. Pertumbuhan optimal terjadi pada suhu 37°C, namun produksi pigmen paling maksimal terbentuk pada suhu 20°C hingga 25°C. Pada media padat, koloni tampak berwarna abu-abu hingga kuning keemasan dengan bentuk bundar, tekstur halus, menonjol, serta memiliki permukaan mengkilap. Selain itu, bakteri ini juga memperlihatkan aktivitas hemolisis ketika tumbuh secara optimal. Sifat koagulase positif serta kemampuan memfermentasi mannitol menjadi faktor utama yang membedakannya dari spesies *Staphylococcus* lain. Lebih dari 90% isolat klinis menunjukkan keberadaan kapsul polisakarida yang meningkatkan kemampuan bakteri dalam menimbulkan penyakit (Sihombing dan Mantiri, 2022).

3. Patogenitas dan faktor virulensi

Patogenitas *Staphylococcus aureus* dalam menimbulkan penyakit pada manusia berkaitan erat dengan berbagai faktor virulensi yang memperkuat mekanisme infeksi dan ketahanan bakteri terhadap sistem pertahanan tubuh. Adapun faktor virulensi tersebut meliputi (Umarudin dkk., 2023):

a. Protein A

Protein A merupakan molekul yang dihasilkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* yang berfungsi untuk mengikat imunoglobulin dan menghambat proses fagositosis oleh sel imun.

b. Toksigenisitas

Beberapa strain *Staphylococcus aureus* memproduksi enterotoksin dan toksin syok staphylococcal (TSST-1) yang berperan dalam kejadian keracunan makanan dan sindrom syok toksin.

c. Faktor kolonisasi

Faktor kolonisasi mengacu pada kapasitas bakteri dalam melakukan perlekatan pada jaringan inang/hospes sebagai tahap awal terjadinya infeksi.

d. Enzim lisis

Produksi enzim lisis seperti koagulase oleh *Staphylococcus aureus* berkontribusi terhadap terbentuknya bekuan darah yang melindungi bakteri dari sistem imun.

e. Faktor resistensi antibiotik

Resistensi antibiotik, khususnya pada MRSA yang mampu bertahan terhadap efek antibiotik menjadi tantangan serius dalam penatalaksanaan infeksi.

f. Biosurfaktan

Staphylococcus aureus menghasilkan biosurfaktan, yaitu senyawa yang memfasilitasi perlekatan bakteri pada permukaan host serta pembentukan biofilm.

g. Hyaluronidase dan lipase

Hyaluronidase dan lipase ialah enzim yang berperan dalam kerusakan jaringan dengan menghancurkan materi antarsel sehingga memudahkan penyebaran bakteri.

4. Penyakit yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*

Sebagai bakteri patogen, *Staphylococcus aureus* berkontribusi dalam menyebabkan berbagai spektrum infeksi, mulai dari infeksi ringan hingga kondisi yang berpotensi mengancam jiwa. *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan infeksi kulit seperti bisul, impetigo, folikulitis, serta pembentukan abses, ditandai dengan peradangan, nekrosis, dan terbentuknya nanah. Selain itu, *Staphylococcus aureus* juga dapat menginfeksi saluran pernapasan dan menimbulkan pneumonia,

terutama pada individu dengan sistem imun yang lemah. Pada kondisi yang lebih berat, bakteri ini mampu menyebar ke jaringan dan aliran darah sehingga memicu endokarditis, infeksi luka, infeksi lokasi pasca operasi, necrotizing fasciitis, sepsis, sindrom syok toksik, sindrom kulit melepuh, hingga keracunan makanan. Kemampuan *Staphylococcus aureus* berkembang biak dengan cepat dalam tubuh serta menghasilkan banyak faktor virulensi menjadikannya sebagai agen utama penyebab infeksi komunitas dan nosokomial (Anwar dan Arwie, 2019; Umarudin dkk., 2023)

5. Resistensi *Staphylococcus aureus* terhadap antibiotik

Resistensi antibiotik adalah kondisi ketika bakteri tidak lagi bereaksi terhadap antibiotik dan mampu bertahan hidup meskipun diberi pengobatan antimikroba. Penggunaan antibiotik secara berlebihan dapat mempercepat terjadinya resistensi. Pada awalnya, bakteri sangat rentan terhadap antibiotik, tetapi karena kemampuan untuk mengubah karakteristik dan susunan DNA-nya, bakteri dapat beradaptasi. Akibatnya, setelah beberapa kali paparan antibiotik, bakteri menjadi semakin kebal dan sulit dimatikan (Marhamah, Fajri dan Rerung, 2025).

Penatalaksanaan infeksi *Staphylococcus aureus* pada umumnya melibatkan penggunaan antibiotik untuk menghambat atau membunuh bakteri. Namun, tekanan selektif akibat penggunaan antibiotik dapat menyebabkan timbulnya strain resisten yang menyulitkan proses pengobatan dan memperpanjang perjalanan infeksi. Salah satu strain tersebut adalah *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), yang resisten terhadap antibiotik golongan *isoxazol penicillin* seperti *methicillin*, *oxacillin*, dan *flucloxacillin* (Suyasa dan Mastra, 2020).

Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) merupakan salah satu penyebab utama infeksi nosokomial. Berdasarkan sumber perolehannya, MRSA terbagi menjadi dua tipe, yaitu MRSA yang didapat di lingkungan rumah sakit (*Hospital Acquired-MRSA/HA-MRSA*) dan MRSA yang didapat dari lingkungan masyarakat/komunitas (*Community Acquired-MRSA/CA-MRSA*) (Rahman dkk., 2023). Strain ini menunjukkan resistensi terhadap *methicillin* maupun antibiotik golongan β -laktam. Mekanisme resistensi tersebut disebabkan oleh ekspresi *Penicillin Binding Protein 2a* (PBP2a) yang memiliki afinitas rendah terhadap antibiotik β -laktam. Rendahnya afinitas ini membuat PBP2a tidak mampu berikatan dengan antibiotik, sehingga proses biosintesis peptidoglikan tetap berlangsung. Ekspresi PBP2a muncul akibat keberadaan elemen genetik *Staphylococcal Cassette Chromosome mec* (SCCmec) yang membawa gen *mecA* sebagai pengkode protein tersebut (Kemalaputri, Jannah dan Budiharjo, 2017).

D. Metode Uji Aktivitas Antibakteri

1. Metode difusi

Dalam pengujian antibakteri, metode difusi digunakan secara luas untuk mengetahui aktivitas antibakteri secara kualitatif serta untuk menentukan diameter zona hambat suatu bakteri terhadap pelarut tertentu. Zona hambat diamati melalui terbentuknya zona bening pada media pertumbuhan bakteri (Putri dan Paramita, 2023). Menurut Burhan dkk., (2022) metode difusi dapat dibagi menjadi tiga yaitu:

a. Difusi cakram

Metode difusi cakram dilakukan dengan menggunakan kertas cakram sebagai media untuk menyerap bahan antimikroba. Kertas cakram terlebih dahulu dijenuhkan dengan larutan uji, kemudian diletakkan pada permukaan media agar

yang telah diinokulasikan dengan kultur mikroba uji. Setelah itu, media diinkubasi selama 18 – 24 jam pada suhu 35°C. Adanya zona bening di sekitar cakram diamati untuk menentukan ada atau tidaknya hambatan pertumbuhan mikroba. Diameter zona bening tersebut berbanding lurus dengan konsentrasi bahan uji yang diserap oleh kertas cakram. Salah satu keunggulan metode difusi cakram adalah proses analisis dapat dilakukan relatif cepat (Nurhayati dkk., 2020).

b. Difusi sumuran

Metode difusi sumuran merupakan salah satu teknik yang paling banyak digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri, terutama pada senyawa yang berasal dari tanaman. Prinsip kerja metode ini adalah dengan menginokulasikan permukaan *plate* agar dengan suspensi mikroba uji. Selanjutnya dibuat lubang berdiameter 6 – 8 mm secara aseptis menggunakan alat pembuat sumuran. Lubang tersebut kemudian diisi masing-masing dengan larutan uji, kontrol positif dan kontrol negatif. Setelah proses inkubasi, diameter zona hambat terbentuk diamati dan diukur. Metode difusi sumuran bersifat kualitatif, sehingga tidak dapat mengukur jumlah senyawa yang berdifusi ke dalam media (Nurul dkk., 2023).

c. Difusi parit

Metode difusi parit dilakukan dengan cara membuat parit pada permukaan media agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji. Zat antibakteri kemudian dimasukkan ke dalam parit tersebut sebelum proses inkubasi dilaksanakan. Pada metode difusi ini, adanya zona hambat di sekitar area pertumbuhan bakteri menjadi indikator aktivitas antibakteri. Semakin besar zona hambat yang terbentuk, semakin tinggi tingkat sensitivitas dan efektivitas senyawa antibakteri yang diuji (Febriyanti dan Leliqia, 2023).

2. Metode dilusi

Metode dilusi/pengenceran telah ditetapkan sebagai standar untuk menentukan *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) atau Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dalam pengujian aktivitas antimikroba. Berdasarkan standar yang telah ditetapkan oleh *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) dan *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST), metode dilusi merupakan *gold standar* dalam menentukan MIC/KHM (Kowalska-Krochmal dan Dudek-Wicher, 2021; CLSI, 2023). Uji ini dapat dilakukan pada media padat melalui teknik dilusi agar atau pada media cair menggunakan metode dilusi cair (makrodilusi atau mikrodilusi). Kedua metode tersebut mampu menghasilkan nilai aktivitas antimikroba secara kuantitatif terhadap berbagai mikroorganisme, termasuk bakteri fastidious dan non-fastidious, khamir, serta jamur (Benkova, Soukup dan Marek, 2020).

a. Dilusi agar

Metode dilusi agar dilakukan dengan serangkaian *plate* agar yang mengandung antimikroba pada berbagai tingkatan konsentrasi. Inokulum standar dari satu atau beberapa mikroorganisme uji kemudian diinokulasikan pada permukaan setiap *plate*. Setelah proses inkubasi berlangsung, *plate* diamati untuk menilai ada atau tidaknya pertumbuhan mikroorganisme. Nilai MIC ditentukan berdasarkan konsentrasi terendah agen antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme secara penuh pada permukaan agar (Hossain, 2024).

b. Dilusi cair

Metode dilusi cair dapat dibedakan menjadi dua jenis berdasarkan volume reaksinya, yaitu makrodilusi dan mikrodilusi. Metode makrodilusi cair

menggunakan tabung dengan kapasitas volume besar, sementara mikrodilusi dilakukan pada sumur *plate* microtiter dengan volume yang lebih kecil. Masing-masing tabung atau sumur diisi medium cair dengan tingkat konsentrasi berbeda dari agen antimikroba dan diinokulasikan dengan mikroorganisme uji dalam jumlah standar. Setelah itu, tabung atau *plate* microtiter diinkubasi pada kondisi terkontrol, dan pertumbuhan mikroorganisme dievaluasi menggunakan spektrofotometer atau pembaca plate microtiter. Nilai MIC ditentukan sebagai konsentrasi terendah agen antimikroba yang secara visual mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme dalam medium cair (Hossain, 2024).

E. Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Antibakteri

Optimalisasi aktivitas antibakteri dalam membunuh atau menekan pertumbuhan bakteri memerlukan perhatian terhadap sejumlah faktor yang berdampak pada kinerjanya. Menurut Jawetz (dalam Lestari dkk., 2016) aktivitas antibakteri dipengaruhi oleh 4 faktor yaitu: konsentrasi ekstrak, kandungan senyawa metabolit, daya difusi ekstrak, dan jenis bakteri yang dihambat. Kemudian menurut Hafizah dkk., (2024) faktor yang dapat mempengaruhi aktivitas antibakteri yaitu:

1. Jenis pelarut

Jenis pelarut menentukan polaritas senyawa yang terekstraksi dari bahan alam. Semakin sesuai kepolaran pelarut dengan sifat senyawa antibakteri, maka semakin banyak senyawa aktif yang dapat larut dan berdifusi ke media uji.

2. Kandungan senyawa

Kekuatan aktivitas antibakteri sangat bergantung pada komposisi metabolit sekunder yang terdapat dalam hasil ekstraksi. Senyawa seperti flavonoid, fenol,

tanin, saponin, dan metabolit sekunder lainnya yang memiliki mekanisme spesifik dalam menghambat bakteri, seperti melalui kerusakan dinding sel, denaturasi protein, penghambatan enzim, dan peningkatan permeabilitas membran sel. Oleh sebab itu, semakin beragam dan melimpah kandungan senyawa aktif dalam ekstrak, semakin tinggi juga kemampuan antibakterinya.

3. Konsentrasi sampel

Perbedaan konsentrasi ekstrak dan fraksi menghasilkan variasi jumlah senyawa antibakteri yang tersedia untuk bekerja melawan bakteri. Peningkatan konsentrasi umumnya berbanding lurus dengan peningkatan aktivitas antibakteri karena jumlah senyawa aktif yang bekerja semakin besar.

4. Jenis bakteri

Aktivitas antibakteri dipengaruhi oleh perbedaan struktur dinding sel bakteri. Bakteri Gram negatif memiliki struktur berlapis yang terdiri dari lapisan peptidoglikan tipis dan membran luar yang mengandung lipopolisakarida, sehingga lebih sulit ditembus oleh agen antibakteri. Sedangkan, bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang hanya tersusun atas lapisan peptidoglikan tebal tanpa membran luar, sehingga agen antibakteri lebih mudah berinteraksi dengan komponen dinding sel dalam menghambat pertumbuhannya (Ardean dkk., 2021).

F. Penelitian Terdahulu

Berikut merupakan data sekunder yang dikumpulkan dari beberapa penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, yang menyatakan bahwa sirih cina (*Peperomia sp.*) mengandung senyawa metabolit sekunder dan memiliki efektivitas sebagai antibakteri.

Tabel 1
Penelitian Terdahulu

Pelarut	Kandungan Metabolit Sekunder	Bakteri Uji	Pustaka
Metanol 96%	Tidak dilakukan skrining fitokimia	<i>Shigella dysenteriae</i>	(Julaika, 2022)
Etanol 96%	Alkaloid, flavonoid, triterpenoid, steroid, dan tanin	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	(Citraningsih, Sianturi dan Taufiqurrahman, 2024)
Kloroform	Alkaloid, flavonoid, dan tanin	<i>Salmonella typhi</i>	(Lestari dan Dewangga, 2024)
Etanol 96%	Tidak dilakukan skrining fitokimia	<i>Propionibacterium acnes</i>	(Sihotang, Restuati dan Silitonga, 2025)
Etanol 70%	Flavonoid, tanin, dan alkaloid	<i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	(Cahyaningrum dan Ardy, 2023)
Etanol 96%	Tidak dilakukan skrining fitokimia	<i>Escherichia coli</i>	(Ningsih, Mahtuti dan Basyaruddin, 2024)
Metanol	Steroid, triterpenoid, fenol, tanin, dan flavonoid	Tidak dilakukan uji aktivitas antibakteri	(Permadani dkk., 2024)
Etanol 96%	Alkaloid, flavonoid, saponin, tanin	<i>Propionibacterium acnes</i>	(Santika, Qonitah dan Ariastuti, 2024)
Etanol 96%	Alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan steroid	Tidak dilakukan uji aktivitas antibakteri	(Marbun dkk., 2025)
Etanol 96%	Alkaloid, tanin, saponin, flavonoid	<i>Propionibacterium acnes</i>	(Dalope, Kalalo dan Rondonuwu, 2024)