BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Juwet

1. Deskripsi tanaman juwet

Tanaman juwet biasa di tanam di pekarangan atau tumbuh liar, dapat tumbuh hingga mencapai tinggi 10-20m. Tanaman ini bercabang banyak, rendah, dan tidak beraturan. Daun tunggal, berhadapan, tebal, bertangkai 1-3,5 cm. Helaian daun lebar bulat memanjang atau bulat telur terbalik, pangkal lebar berbentuk baji, tepi rata, pertulangan menyirip, permukaan atas mengkilap, panjang 7-16 cm, lebar 5-9 cm, berwarna hijau (Herbie, 2015).

Bunga majemuk dengan cabang yang berjauhan, bunga duduk, umumnya muncul pada cabang-cabang yang tak berdaun. Bunga kecil, duduk rapat-rapat, 3-8 kuntum di tiap ujung tangkai, berbau harum. Kelopak berbentuk lonceng melebar atau corong, tinggi 4-6 mm, kuning sampai keunguan. Daun mahkota bundar dan lepas-lepas, 3 mm, putih abu-abu sampai merah jambu, mudah gugur (Herbie, 2015).

Buah buni berbentuk lonjong sampai bulat telur, sering agak bengkok, 1-5 cm, bermahkota cuping kelopak, dengan kulit tipis licin mengkilap, merah tua sampai ungu kehitaman, kadang-kadang putih. Sering dalam gerombolan besar. Daging buah putih kuning kelabu sampai agak merah ungu, hamper tak berbau dengan banyak sari buah, sepat masam sampai masam manis. Biji lonjong, sampai 3,5 cm (Putra, 2015).

Gambar 1. Tanaman juwet
Sumber: (Leimena, 2008)

2. Klasifikasi tanaman juwet

Taksonomi tanaman juwet adalah sebagai berikut :

Kingdom : *Plantae*

Subkingdom : *Tracheobionta*

Super Divisi : *Spermatophyta*

Divisi : *Magnoliophyta*

Kelas : *Magnoliopsida*

Sub Kelas : *Rosidae*

Ordo : *Myrtales*

Famili : *Myrtaceae*

Genus : *Syzygium*

Spesies : *Syzygium cumini (L.) Skeels* (Putra,2015)

3. Nama lain daun juwet

Daun juwet memiliki nama latin *Syzygium cumini.* Daun juwet juga memiliki nama lain di setiap daerah di Indonesi, diantaranya : Jambe Kleng (Aceh); Jambu Kling (Gayo); Jambu Kalang (Minangkabau); Jambelang (Melayu); Jamblang (Sunda); Duwet (Jawa); Juwet (Jakarta); Duwak (Madura); Juwet (Bali);

Klayu (Sasak); Duwe (Bima); Jambulan (Flores); Jumblang (Mongondow): Ropo-Ropo (Makasar); Alicopeng (Bugis) (Herbie, 2015).

4. Kandungan senyawa metabolit sekunder dalam daun juwet

Daun juwet mengandung phenol, tanin, alkaloid, triterpenoid dan minyak volatile (Afin, 2013). Berdasarkan hasil penelitian Sudarmi, Darmayasa dan Muksin (2017) pada daun juwet mengandung alkaloid, fenolik, saponin dan steroid. Hasil penelitian Prabhakaran (2011) menunjukkan bahwa ekstrak daun juwet mengandung senyawa alkaloid, fenol, flavonoid, tannin, minyak atsiri sebagai metabolit sekunder.

5. Sifat- sifat senyawa metabolit sekunder dalam daun juwet

Metabolit sekunder adalah senyawa organik yang dihasilkan tumbuhan yang tidak memiliki fungsi langsung pada fotosintesis, pertumbuhan atau respirasi, transport solut, translokasi, sintesis protein, asimilasi nutrien, diferensiasi, pembentukan karbohidrat, protein dan lipid (Mastuti, 2016). Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam tumbuhan dapat berpotensi sebagai zat antibakteri (Wilson *et al.*, 2011).

Adapun sifat-sifat senyawa metabolit sekunder yaitu:

a) Alkaloid

Unsur-unsur penyusun alkaloid adalah karbon, hidrogen, nitrogen, dan oksigen. Namun terdapat beberapa alkaloid yang tidak mengandung oksigen. Adanya nitrogen dalam lingkar pada struktur kimia alkaloid menyebabkan alkaloid bersifat alkali. Tumbuhan dikotil adalah sumber utama alkaloid (Sumardjo, 2009).

Untuk memperoleh alkaloid dari tumbuhan dapat diisolasi menggunakan cara ekstraksi. Alkaloid sukar larut dalam air namun dapat larut dalam pelarut organik yang umum, seperti kloroform, alkohol, benzene, dan eter (Sumardjo, 2009). Tanaman yang mengandung alkaloid memiliki rasa pahit, bau yang kuat, dan efek toksik 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 golongan fenol. Golongan senyawa flavonoid bersifat tidak tahan panas, selain itu senyawa flavanoid mudah teroksidasi pada suhu yang tinggi. Salah satu fungsi flavanoid adalah sebagai antimikroba yang bersifat bakteriostatik. 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).

c) Fenol

Tumbuhan menghasilkan banyak produk sekunder yang mengandung gugus fenol. Senyawa ini dikelompokkan ke dalam senyawa fenolik yang jumlahnya hampir mencapai 10.000. Beberapa senyawa fenol larut dalam pelarut organik, beberapa adalah glikosida dan asam akrboksilat yang larut air dan sejumlah besar lainnya adalah polimer yang tidak larut (Mastuti, 2016).

Senyawa fenol merupakan senyawa yang memiliki gugus hidroksil yang menempel pada cincin aromatik. Senyawa fenol memiliki titik leleh rendah dan bau khas yang sedikit menyengat. Selain itu, juga mudah larut dalam sebagian besar pelarut organic (hidrokarbon aromatic, alcohol, dan keton) agak kurang larut dalam Hidrokarbon alifatik. Fenol membentuk campuran azeotropik dengan air dan zat lainnya (Zuraida, Sulistiyani, dan Sajuthi, 2017).

Senyawa fenol memiliki sifat yang dapat merusak membran sel yang mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan atau matinya sel karena perubahan permeabilitas sel. Senyawa fenol juga dapat mendenaturasi protein sel dan mengerutkan dinding sel sehingga dapat melisiskan dinding sel. Selain itu, Senyawa fenol melalui gugus hidroksi yang akan berikatan dengan gugus sulfihidril dari protein fungi sehingga mampu mengubah konformasi protein membran sel target (Kumalasari, 2015).

d) Saponin

Saponin adalah sekelompok glikosida tanaman yang dapat larut dalam air dan dapat menempel pada steroid lipofilik (C_{27}) atau triterpenoid (C_{30}). 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 pbab ada sel bakteri yang menyebabkan lipid terekskresi dari dinding sel sehingga permeabilitas membran bakteri terganggu (Wardhani dan Sulistyani, 2012).

Terganggunya stabilitas membran sel bakteri ini menyebabkan sel bakteri lisis. Mekanisme kerja saponin termasuk dalam kelompok antibakteri yang mengganggu permeabilitas membran sel bakteri, yang mengakibatkan kerusakan membran sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat dan nukleotida. Hal ini akhirnya mengakibatkan sel bakteri mengalami lisis (Kurniawan dan Aryana, 2015).

e) Tanin

Tanin adalah senyawa polifenol (C_6-C_3-C_6) yang mengendapkan protein dan membentuk kompleks dengan polisakarida, dan terdiri dari kelompok oligomer dan polimer yang sangat beragam. Tanaman yang mengandung tanin memiliki rasa pahit, bau yang kuat, dan efek toksik (Sujatmiko, 2014).

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 mendestruksi materi genetik pada bakteri sehingga dapat menambah toksisitasnya pada bakteri (Sujatmiko, 2014).

f) Steroid

Steroid merupakan senyawa yang struktur kimianya mengandung cincin atau lingkar siklopentane perhidrofenantrena. Lingkar siklopentano perhidrofenantrena merupakan kombinasi antara lingkar siklopentana dan lingkar perhidrofenantrena (fenantrena jenuh) (Sumardjo, 2009).

Menurut Madduluri dan Ahmed dalam Sudarmi, Darmayasa dan Muksin, (2017) mekanisme kerja steroid sebagai antibakteri yaitu dengan merusak membran lipid, sehingga liposom mengalami kebocoran. Steroid juga diketahui dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid, karena sifatnya yang permeabel terhadap senyawa-senyawa lipofilik menyebabkan integritas membran menurun dan morfologi membran sel terganggu yang mengakibatkan sel mengalami lisis dan rapuh.

g) Minyak atsiri

Minyak atsiri yang aktif sebagai antibakteri pada umumnya mengandung gugus fungsi hidroksil (-OH) dan karbonil (Parwata dan Dewi, 2008). Sebagai antibakteri minyak atsiri menghambat proses terbentuknya membran atau dinding sel sehingga tidak terbentuk (Kurniawan dan Aryana, 2015). 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 peruraian, 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).

B. Simplisia

1. Pengertian dan jenis-jenis simplisia

Simplisia merupakan istilah yang digunakan untuk menyebut bahan-bahan obat alam yang berada dalam wujud aslinya atau belum mengalami perubahan bentuk. Simplisia adalah bahan alami yang digunakan untuk obat dan belum

mengalami perubahan proses apa pun dan umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibagi menjadi tiga golongan (Herbie, 2015).

1. Simplisia nabati

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

2. Simplisia hewani

Simplisia yang dapat berupa hewan utuh atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni, misalnya minyak ikan *(Oleum iecoris asseli)* dan madu *(Mel depuratum).*

3. Simplisia pelican atau mineral

Simplisia berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa bahan kimia murni, contoh serbuk seng dan serbuk tembaga.

Simplisia tanaman obat termasuk dalam golongan simplisia nabati. Secara umum pemberian nama atau penyebutan simplisia didasarkan atas gabungan nama spesies diikuti dengan nama bagian tanaman.

2. Persyaratan baku dan standarisasi simplisia

Menurut BPOM RI (2014) persyaratan baku simplisia terdiri dari :

a. Kadar air : tidak lebih dari 10%

b. Angka lempeng total : tidak lebih dari 5 x 10^7 koloni/g

c. Angka kapang dan khamir : tidak lebih dari 5 x 10^5 koloni/g

d. Mikroba patogen : Negatif

e. Aflatoksin : tidak lebih dari 30 bagian per juta

Standarisasi obat herbal merupakan rangkaian proses melibatkan berbagai metode analisis kimiawi berdasarkan data farmakologis, melibatkan analisis fisik dan mikrobiologi berdasarkan criteria umum keamanan (toksikologi) terhadap suatu ekstrak alam atau tumbuhan obat herbal (Saifudin, Rahayu, dan Teruna, 2011).

Standarisasi dalam kefarmasian tidak lain adalah serangkaian parameter, prosedur dan cara pengukuran yang hasilnya merupakan unsure-unsur terkait paradigma mutu kefarmasian, mutu dalam artian memenuhi standar (kimia, biologi dan farmasi), termasuk jaminan (batas-batas) stabilitas sebagai produk kefarmasian umumnya. Standarisasi atau kontrol mutu simplisia menurut acuan Materia Medika Indonesia terdiri dari :

a. Kebenaran jenis (identifikasi spesies tumbuhan) meliputi parameter makroskopik yaitu deskripsi morfologis simplisia, parameter mikroskopik mencakup pengamatan terhadap penampang melintang simplisia atau bagian simplisia dan terhadap fragmen pengenal serbuk simplisia, dan reaksi identifikasi mencakup reaksi warna untuk memastikan identifikasi dan kemurnian simplisia (terhadap irisan/serbuk simplisia)

b. Kemurnian (bebas dari kontaminasi kimia, biologis) tidak selalu mungkin memperoleh simplisia sepenuhnya murni. Bahan asing yang tidak berbahaya dalam jumlah sangat kecil pada umumnya tidak merugikan. Simplisia harus bebas dari serangga, fragmen hewan/kotoran hewan, tidak boleh menyimpang bau dan warnanya, tidak boleh mengandung lendir dan

cendawan atau menunjukkan tanda-tanda pengotoran lain dan tidak boleh mengandung bahan lain yang beracun/berbahaya (Khoirani, 2013).

C. Ekstraksi

1. Definisi ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses penyarian zat aktif dari bagian tanaman obat yang bertujuan untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam bagian tanaman obat tersebut. Proses ekstraksi pada dasarnya merupakan proses pemindahan massa komponen zat padat yang terdapat pada simplisia kedalam pelarut organik yang digunakan. Pelarut organik akan menembus dinding sel dan selanjutnya akan masuk ke dalam rongga sel tumbuhan yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan terlarut dalam pelarut organik pada bagian luar sel untuk selanjutnya berdifusi masuk ke dalam pelarut. Proses ini terus berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi zat aktif antara di dalam sel dengan konsentrasi zat aktif di luar sel (Marjoni, 2016).

Ekstraksi dapat dilakukan dengan berbagai metode dan cara yang sesuai dengan sifat dan tujuan ekstraksi itu sendiri. Sampel yang akan diekstraksi dapat berbentuk sampel segar ataupun sampel yang telah dikeringkan. Sampel yang umum digunakan adalah sampel segar karena penetrasi pelarut akan berlangsung lebih cepat. Selain itu penggunaan sampel segar dapat mengurangi kemungkinan terbentuknya polimer resin atau artefak lain yang dapat terbentuk selama proses pengeringan. Penggunaan sampel kering juga memiliki kelebihan yaitu dapat mengurangi kadar air yang terdapat di dalam sampel, sehingga dapat mencegah kemungkinan rusaknya senyawa akibat aktivitas antimikroba (Marjoni, 2016).

2. Metode ekstraksi

a. Maserasi

Maserasi adalah proses ekstraksi yang dilakukan dengan cara merendam simplisia dalam satu atau campuran pelarut selama waktu tertentu pada temperatur kamar dan terlindung dari cahaya. Prinsip kerja dari maserasi adalah proses melarutnya zat aktif berdasarkan sifat kelarutannya dalam suatu pelarut (like dissolved like). Pelarut yang digunakan, akan menembus dinding sel dan kemudian masuk ke dalam sel tanaman yang penuh dengan zat aktif. Pertemuan antara zat aktif dan pelarut akan mengakibatkan terjadinya proses pelarutan dimana zat aktif akan terlarut dalam pelarut. Pelarut yang berada di dalam sel mengandung zat aktif sementara pelarut yang berada di luar sel belum terisi zat aktif, sehingga terjadi ketidakseimbangan antara konsentrasi zat aktif di dalam dengan konsentrasi zat aktif yang ada di luar sel. Perbedaan konsentrasi ini akan mengakibatkan terjadinya proses difusi, dimana larutan dengan konsentrasi tinggi akan terdesak keluar sel dan digantikan oleh pelarut dengan konsentrasi rendah. Peristiwa ini terjadi berulang-ulang sampai didapat suatu kesetimbangan konsentrasi larutan antara di dalam sel dengan konsentrasi larutan di luar sel (Marjoni, 2016).

Menurut Farmakope Indonesia pelarut yang dapat digunakan pada maserasi adalah air, etanol, etanol-air atau eter. Pilihan utama untuk pelarut pada maserasi adalah etanol karena etanol memiliki beberapa keunggulan sebagai pelarut diantaranya yaitu etanol bersifat lebih selektif, dapat menghambat pertumbuhan kapang dan kuman, bersifat tidak beracun, etanol bersifat netral, memiliki daya absorbsi yang baik, dapat bercampur dengan air pada berbagai perbandingan, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit, dan etanol dapat melarutkan

berbagai zat aktif dan meminimalisir terlarutnya zat pengganggu seperti lemak (Marjoni, 2016).

Proses maserasi dilakukan selama waktu tertentu dengan sesekali diaduk, biasanya dibutuhkan waktu 1-6 hari. Setelah waktu tertentu ekstrak yang disebut maserat dipisahkan dengan cara penyaringan. Maserasi biasanya dilakukan pengulangan dengan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat yang pertama yang disebut remaserasi. Remaserasi biasanya dilakukan tiga kali atau sampai senyawa yang diinginkan dalam sampel benar-benar sudah habis. Apabila dalam proses maserasi dilakukan pengadukan terus menerus maka disebut juga dengan maserasi kinetik (Atun, 2014).

Menurut Marjoni (2016) metode maserasi memiliki kelebihan dan kekurangan. Adapun kelebihan dari metode maserasi adalah sebagai berikut:

1) Peralatan yang digunakan sangat sederhana.
2) Teknik pengerjaan relative sederhana dan mudah dilakukan.
3) Biaya operasionalnya relative rendah.
4) Dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang bersifat termolabil karena maserasi dilakukan tanpa pemanasan.
5) Proses ekstraksi lebih hemat penyari.

Adapun kekurangan dari metode ini adalah:

1) Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memerlukan banyak waktu.
2) Proses penyariannya tidak sempurna, karena zat aktif hanya mampu terekstraksi sebesar 50%.
3) Pelarut yang digunakan cukup banyak.
4) Kemungkinan besar ada beberapa senyawa yang hilang saat diekstraksi.

5) Beberapa senyawa sulit diekstraksi pada suhu kamar.

6) Penggunaan pelarut air akan membutuhkan bahan tambahan seperti pengawet yang diberikan pada awal ekstraksi. Penambahan pengawet dimaksudkan untuk mencegah pertumbuhan bakteri dan kapang.

b. Infusdasi

Infusdasi merupakan metode ekstraksi dengan pelarut air. Pada waktu proses infusdasi berlangsung, temperatur pelarut air harus mencapai suhu 90ºC 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. Cara yang biasa dilakukan adalah serbuk bahan dipanaskan dalam panci dengan air secukupnya selama 15 menit terhitung mulai suhu mencapai 90ºC sambil sekali-sekali diaduk. Saring selagi panas melalui kain flannel, tambahkan air panas secukupnya melalui ampas hingga diperoleh volume yang diinginkan. Apabila bahan mengandung minyak atsiri, penyaringan dilakukan setelah dingin (Atun, 2014).

c. Dekoksi

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 90ºC. Metode ini sudah jarang digunakan karena selain proses penyarian yang kurang sempurna dan juga tidak dapat digunakan untuk mengekstrasi senyawa yang bersifat termolabil (Marjoni, 2016).

d. Perkolasi

Perkolasi yaitu proses ekstraksi dengan pelarut yang dialirkan melalui kolom perkolator yang diisi dengan serbuk simplisia dan ekstraknya dikeluarkan

melalui keran secara perlahan (Atun, 2014). Pelarut ini dialirkan secara continue dalam waktu tertentu. Pelarut dialirkan secara vertikal dari atas ke bawah melalui serbuk simplisia dan pelarut akan melarutkan zat aktif dalam sel-sel simplisia yang dilaluinya sampai mencapai keadaan jenuh. Gerakan ke bawah disebabkan oleh gaya beratnya sendiri dan berat cairan diatasnya dikurangi gaya kapiler yang cenderung untuk menahan gerakan kebawah (Marjoni, 2016).

e. Sokletasi

Sokletasi merupakan proses ekstraksi panas menggunakan alat ekstraktor soklet. Suhu yang digunakan lebih lebih rendah dari suhu pada metode refluks (Marjoni, 2016). Proses ekstraksi ini menggunakan pelarut yang selalu baru dan alat soklet sehingga terjadi ekstraksi secara konstan dengan adanya pendingin balik. Teknik ini dilakukan dengan cara menempatkan simplisia pada selongsong dengan pembungkus kertas saring, lalu ditempatkan pada alat soklet yang telah dipasang labu dibawahnya. Pelarut ditambahkan sebanyak 2 kali sirkulasi, kemudian dipasang pendingin balik, dan pemanasan labu. Ekstraksi berlangsung minimal 3 jam dengan interval sirkulasi sekitar 15 menit (Atun, 2014).

Berdasarkan ekstraksi tersebut dihasilkan suatu ekstrak, pelarut yang digunakan dalam ekstraksi 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).

3. Hal yang perlu diperhatikan dalam ekstraksi

Menurut Marjoni (2016) terdapat beberapa hal yang harus diperhatikan dalam suatu proses ekstraksi yaitu:

a. Jumlah simplisia yang akan diekstrak

Jumlah simplisia yang akan diekstrak sangat erat kaitannya dengan jumlah pelarut yang akan digunakan. Semakin banyak simplisia yang digunakan, maka jumlah pelarut yang digunakan juga semakin banyak.

b. Derajat kehalusan simplisia

Semakin halus suatu simplisia, maka luas kontak permukaan dengan pelarut juga akan semakin besar sehingga proses ekstraksi akan dapat berjalan lebih optimal.

c. Jenis pelarut yang digunakan

Pemilihan pelarut yang digunakan dalam ekstraksi sangat dipengaruhi oleh kepolaran dari pelarut itu sendiri. Senyawa dengan kepolaran yang sama akan lebih mudah larut dalam pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang sama berdasarkan prinsip *like dissolves like*. Terdapat beberapa persyaratan pelarut yang ideal untuk proses ekstraksi yaitu:

1. Selektif, artinya pelarut dapat melarutkan semua zat dengan cepat, sempurna, dan sedikit mungkin melarutkan bahan lain yang tidak dibutuhkan.
2. Mempunyai titik didih yang rendah dan seragam.
3. Tidak toksik dan ramah lingkungan.
4. Mampu mengekstrak semua senyawa dalam simplisia.
5. Stabil secara fisik dan kimia.
6. Bersifat inert dan tidak mudah terbakar.

7. Mudah untuk dihilangkan dari ekstrak.
8. Tidak bereaksi dengan senyawa-senyawa dalam simplisia yang diekstrak.
9. Murah/ ekonomis.

d. Waktu ekstraksi

Waktu yang digunakan selama proses ekstraksi akan sangat menentukkan banyaknya senyawa-senyawa yang terekstrak.

e. Metode ekstraksi

Berbagai metode dapat digunakan untuk menarik senyawa kimia dari simplisia.

f. Kondisi proses ekstraksi

Beberapa proses ekstraksi memerlukan keadaan dan kondisi tertentu. Bahan alam yang mengandung senyawa kumarin dan kuinon umumnya dilakukan pada kondisi terlindung dari cahaya. Proses ekstraksi skala laboratorium, dapat dilakukan baik dengan pengadukan ataupun tanpa pengadukan.

D. *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)*

1. Deskripsi

Bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)* adalah *strain* atau galur dari *S. aureus* yang resisten terhadap berbagai macam antibiotik. MRSA tidak hanya resisten terhadap antibiotik golongan betalaktam tetapi juga resisten terhadap antibiotik golongan non-betalaktam seperti makrolida (eritromisin), inhibitor sintesa protein (tetrasiklin, kloramfenikol) dan kuinolon (Putri, Dharmana, dan Hadi, 2015). Karakteristik dari struktur cincin antibiotik β-laktam adalah mengikat PBP yang terkait dalam sintesis peptidoglikan dan mencegah sintesis dinding sel. Resistansi terhadap β-laktam merupakan hasil dari degradasi enzimatis

dari cincin β-laktam oleh betalaktamase atau rendahnya afinitas (Qolbaini, 2014).

Hingga kini belum ada terapi infeksi MRSA yang benar-benar efektif. Glikopeptida vankomisin dan teikoplanin masih merupakan obat pilihan *(drug of choice)* untuk terapi infeksi MRSA. Glikopeptida adalah molekul berukuran besar yang bekerja menghambat tahap akhir sintesa peptidoglikan. Secara umum diketahui bahwa glikopeptida mencegah reaksi transglikosilasi dan transpeptidasi sehingga terjadi kegagalan sintesa dinding sel (Yuwono, 2010).

2. Morfologi dan fisiologi

S. aureus merupakan bakteri Gram positif yang berbentuk bulat tersusun dalam kelompok menyerupai buah anggur yang tidak teratur dengan diameter berkisar 0,8-1,0 mikron, tidak bergerak, dan tidak berspora (Radji, 2010). *S. aureus* dapat berbentuk kokus tunggal, berpasangan, atau dalam rantai pendek dengan kecenderungan untuk membentuk kelompok. Bakteri Gram positif memproduksi dinding sel luar tebal yang terdiri dari peptidoglikan yang berguna untuk memproteksi bakteri dari sistem pertahanan hospes, yaitu sistem komplemen atau pun kerusakan yang disebabkan tekanan osmotik (Qolbaini, 2014).

3. Struktur bakteri

Struktur bakteri terdiri atas komponen esensial dan komponen non esensial. Komponen esensial bakteri di antaranya adalah (Gordon and Lowy, 2008):

a. Dinding sel

Dinding sel tersusun oleh peptidoglikan yang berperan sebagai pembentuk kerangka bakteri dan asam teikoat yang berperan sebagai antigen permukaan. Peptidoglikan juga mempunyai fungsi dalam stimulasi pengeluaran sitokin oleh

makrofag, aktivasi komplemen dan agregasi trombosit. Lisozim dapat mendegradasi peptidoglikan.

b. Membran sitoplasma adalah lipoprotein berlapis ganda yang berperan pada transport enzim.
c. Ribosom mengandung RNA dan protein pada subunit 50s dan 30s. Ribosom berfungsi sebagai tempat untuk sintesis protein.
d. Mesosom berperan dalam aktivitas pembelahan dan sekresi.
e. Periplasma adalah rongga membran plasma dan membran luar yang mengandung banyak enzim hidrolitik diantranya adalah enzim betalaktamase.
f. Inti sel mengandung materi genetik yaitu DNA

Sedangkan komponan non esensial dari bakteri adalah (Gordon and Lowy, 2008) :

a. Kapsul bakteri tersusun oleh polisakarida dan berfungsi sebagai proteksi terhadap fagositosis.
b. Plasmid mengandung berbagai macam gen yang mengkode toksin dan resistensi terhadap antibiotik.
c. Granula terdiri atas glikogen, lipid dan polifosfat. Granula adalah tempat penyimpanan nutrisi yang berada di sitoplasma.
d. Glikokaliks juga tersusun oleh polisakarida dan membantu penempelan bakteri ke permukaan sel.

4. Mekanisme resistensi

S. aureus berubah menjadi galur resisten metisilin (MRSA) dan antibiotik betalaktam karena mendapat sisipan suatu elemen DNA berukuran besar antara 20-100 kb yang disebut *Staphylococcal cassette chromosome mec* (SCCmec) dan

adanya perubahan pada *protein binding penicillin* (PBP). *Protein binding penicillin* adalah sekelompok protein yang terlibat dalam biosintesa peptidoglikan yaitu mengkatalisa reaksi transpeptidasi (pembentukan anyaman peptida). Peptidoglikan *Staphylococcus* memiliki ciri khas berukuran panjang, berupa struktur anyaman *(cross linkage)* dengan rantai samping pentaglisin yang fleksibel. Peptidoglikan ini menjadi target antimikroba betalaktam (Crawford *et al.*, 2009).

Resistensi terjadi karena produksi enzim betalaktamase seperti pada galur *S. aureus producing betalactamases* dan perubahan pada struktur PBP. PBP yang normal yaitu PBP2 menjadi PBP2a. PBP2a memiliki afinitas yang sangat rendah terhadap betalaktam sehingga sekalipun bakteri ini dibiakkan pada media mengandung konsentrasi tinggi betalaktam, MRSA tetap dapat hidup dan mensintesa dinding sel. Faktor genetik lain seperti gen betalaktamase dan faktor eksternal seperti temperatur, tekanan oksigen, kandungan ion, osmolaritas dan cahaya juga mempengaruhi ekspresi resistensi (Nielsen *et al.*, 2009; Yuwono, 2010, 2012).

E. Pengukuran Aktivitas Antimikroba

Penentuan kerentanan suatu patogen bakteri terhadap obat antimikroba dapat dilakukan dengan metode yaitu dilusi atau difusi. Penting untuk menggunakan metode standar yang mengontrol semua faktor yang memengaruhi aktivitas antimikroba. Di Ameriksa Serikat pemeriksaan dilakukan menurut metode *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) dengan menggunakan organisme tes standar yang sesuai dan sampel obat yang diketahui sebagai pembanding, metode-metode tersebut dapat digunakan untuk memperkirakan

potensi antibiotik dalam sampel atau kerentanan mikroorganisme (Jawetz, Melnick and Adelberg, 2013).

1. Metode difusi

Metode yang paling banyak digunakan adalah tes difusi lempeng. Suatu lempeng kertas saring yang mengandung obat dalam jumlah tertentu ditempatkan pada permukaan medium solid yang telah diinokulasi dengan organisme penguji dipermukaanya. Setelah diinkubasi, diameter zona isiiinhibisi jernih yang mengelilingi lempeng diukur sebagai nilai kekuatan inhibitorik obat terhadap organisme penguji tersebut. Metode tersebut dipengaruhi oleh banyak faktor fisik dan kimiawi disamping interaksi sederhana antara obat dan organisme yaitu sifat medium dan difusibilitas, ukuran molekular, dan kestabilan obat. Bagaimanapun juga standar disasi kondisi tetap memungkinkan penentuan kerentanan organisme (Jawetz, Melnick and Adelberg, 2013).

Interpretasi hasil tes difusi harus didasarkan pada perbandingan antar metode dilusi dan difusi. Perbandingan seperti demikian telah menghasilkan nilai standar rujukan. Garis-garis regresi linear dapat memperlihatkan hubungan anatara log konsentrasi inhibitorik minimum dalam tes dilusi dan diameter zona inhibisi dalam tes difusi. Penggunaan lempeng tunggal untuk tiap antibiotik disertai standarisasi kondisi test secara cermat memungkinkan pelaporan bahwa suatu mikroorganisme resisten atau sensitif dengan membandingkan ukuran zona inhibisi terhadap suatu standar untuk obat yang sama. Penghambatan di sekeliling lempeng yang mengandung obat antimikroba dalam jumlah tertentu tidak menandakan sensitivitas mikroba terhadap obat dalam konsentrasi yang sama per milliliter medium, darah, atau urin (Jawetz, Melnick and Adelberg, 2013).

Cakram kertas yang diresapi antibiotik dalam jumlah tertentu, diletakkan pada media agar yang telah ditanami dengan organisme uji secara merata. Suatu gradient konsentrasi zat antimikroba yang terbentuk oleh difusi dari cakram dan pertumbuhan organisme uji dihambat pada suatu jarak dari cakram yang terkait dengan kepekaan organisme, disamping faktor-faktor lain. Metode modifikasi *Kirby-bauer* merupakan metode difusi cakram, yang mulanya dijabarkan, dibakukan dan dievaluasi secara luas. Agensi-agensi resmi telah merekomendasikannya, dengan sedikit modifikasi, sebagai metode rujukan yang dapat digunakan sebagai teknik rutin dalam laboratorium klinik (Vandepitte et al., 2011). Menurut Susanto, Sudrajat dan Ruga dalam Permadani, dkk (2014) kategori diameter zona hambat dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Tabel 1.
Kategori Diameter Zona Hambat

Diameter zona hambat	Respons hambat bakteri
≤ 5 mm	Lemah
6 – 10 mm	Sedang
11 – 20 mm	Kuat
≥ 21 mm	Sangat kuat

2. Metode dilusi

Subtansi antibakteri dalam kadar bertingkat dicampurkan kedalam medium bakteriologis solid atau cair. Biasanya digunakan substansi antibakteri dengan pengenceran dua kali lipat. Medium kemudian diinokulasi dengan bakteri penguji dan diinkubasi. Titik akhir yang diambil adalah jumlah substansi antibakteri yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri penguji. Uji sensitivitas dilusi agar memakan banyak waktu dan penggunaan mereka dibatasi

hanya pada kondisi khusus. Uji dilusi kaldu tidak praktis dan hanya digunakan jika dilusi dilakukan didalam tabung uji, tetapi tersedianya rangkaian dilusi kaldu yang sudah jadi untuk berbagai jenis obat dalam lempeng microdilusi telah sangat memperbaiki sekaligus menyederhanakan metode tersebut (Jawetz, Melnick and Adelberg, 2013).

Keuntungan uji dilusi *microbroth* adalah memungkinkan dilaporkannya hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah obat tertentu yang diperlukan untuk menghambat atau membunuh mikroorganisme yang diuji (Jawetz, Melnick and Adelberg, 2013).

F. Antibiotik dan Mekanisme Kerja Antibiotik

1. Antibiotik

Antibiotik adalah senyawa organik yang dihasilkan oleh mikroorganisme dan bersifat toksik terhadap mikroorganisme lain. Sifat toksik senyawa-senyawa yang terbentuk mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri (efek bakteriostatik) dan bahkan ada yang langsung membunuh bakteri (efek bakterisidal) yang kontak dengan antibiotik tersebut (Sumardjo, 2009). Antibiotik digunakan untuk mengobati, mencegah dan mengendalikan penyebaran bakteri pathogen (Radji, 2010).

2. Sifat antimikroba

Menurut Sunaryo (2017) sifat antimikroba adalah:

a) Bakteriostatik, sifat antimikroba bakteriostatik yaitu menghambat atau menghentikan pertumbuhan bakteri sehingga bakteri yang bersangkutan menjadi stationer dan tidak terjadi multiplikasi atau perkembangbiakan.
b) Bakterisida, sifat antimikroba bakterisida yaitu membunuh bakteri.

3. Mekanisme kerja antimikroba

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 pathogen, tetapi tidak berbahaya bagi penjamu. Toksisitas selektif bersifat relative, bukan absolute; yaitu suatu obat dalam konsentrasi yang dapat ditoleransi penjamu tetapi dapat merusak suatu mikroorganisme penyebab infeksi (Jawetz, Melnick and Adelberg's, 2013).

a. Penghambatan sintesis dinding sel

Bakteri memiliki lapisan luar dinding sel yang kaku. Dinding sel mempertahankan bentuk dan ukuran mikroorganisme dan memiliki tekanan osmotik internal yang tinggi. Kerusakan pada dinding sel (misalnya, oleh lisozim) atau penghambatan pembentukannya dapat menyebabkan lisis sel. Dalam lingkungan hipertonik (misalnya, pada kadar sukrosa 20%), susunan dinding sel yang rusak menyebabkan pembentukan spherikal bakteri "protoplas" dari organisme gram positif atau "spheroplast" dari organisme gram negatif; protoplas atau spheroplast ini dibatasi oleh membran sitoplasma yang rapuh. Jika protoplas atau spheroplast ditempatkan di lingkungan dengan bertonisitas biasa, mereka akan menyerap cairan dengan cepat, membengkak, dan bisa pecah (Jawetz, Melnick and Adelberg's, 2013). Dinding sel yang lisis dapat mempengaruhi bentuk dan struktur sel sehingga dapat membunuh sel bakteri tersebut (Radji, 2010).

b. Penghambatan fungsi membran sel

Sitoplasma semua sel hidup dibatasi oleh membran sitoplasma, yang berfungsi sebagai penghalang permeabilitas selektif dan menjalankan fungsi transport aktif dengan mengendalikan komposisi internal sel (Jawetz, Melnick and Adelberg's, 2013). Komposisi internal sel dikendalikan dengan mengatur transportasi nutrisi dan metabolit yang keluar masuk sel. Membran juga berfungsi sebagai tempat berlangsungnya respirasi dan aktivitas biosintesis dalam sel (Radji, 2010). Jika integritas fungsional membran sitoplasma terganggu, makromolekul dan ion akan keluar dari sel, dan menyebabkan kerusakan atau kematian sel (Jawetz, Melnick and Adelberg's, 2013).

c. Penghambatan sintesis protein (penghambatan translasi dan transkripsi materi genetik)

Bakteri memiliki ribosom 70S, sedangkan mamalia memiliki ribosom 80S. Ribosom ini memiliki perbedaan pada subunit tipe masing-masing ribosom, susunan kimia, dan spesifitas fungsional sehingga obat antimikroba dapat menghambat sintesis protein pada ribosom bakteri tanpa menyebabkan efek signifikan pada ribosom mamalia (Jawetz, Melnick and Adelberg's, 2013). Sintesis protein merupakan suatu rangkaian proses yang terdiri atas proses transkripsi (yaitu DNA ditranskripsi menjadi *m*RNA) dan proses translasi (yaitu *m*RNA ditranslasi menjadi protein). Antibiotik yang menghambat proses-proses tersebut akan menghambat sintesis protein (Radji, 2010).

d. Penghambatan sintesis asam nukleat

DNA, RNA, dan protein memegang peran penting dalam proses kehidupan sel. Ini berarti bahwa gangguan yang terjadi pada pembentukkan atau fungsi zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan sel (Ristiati, 2015). Zat antibakteri menghambat pertumbuhan bakteri dengan mengikat kuat ke *DNA-dependent RNA polimerase* bakteri. Sehingga menghambat sintesis RNA bakteri (Jawetz, Melnick and Adelberg's, 2013).

e. Penghambatan kerja enzim

Setiap enzim dari jumlah enzim yang ada di dalam sel merupakan sasaran bagi bekerjanya suatu penghambat. Banyak zat kimia yang telah diketahui dapat menganggu reaksi biokimiawi. Penghambatan ini dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme atau matinya sel (Ristiati, 2015).

F. Faktor-Faktor yang Memengaruhi Aktivitas Antimikroba

Aktivitas antimikroba dapat diukur secara *in-vitro* untuk menentukan potensial suatu agen antimikroba dalam larutan, konsentrasi dalam cairan tubuh atau jaringan, dan sensitivitas suatu mikroorganisme terhadap konsentrasi obat tertentu. Banyak faktor yang mempengaruhi aktivitas in-vitro antimikroba. Di antara banyak faktor yang mempengaruhi aktivitas in vitro antimikroba, hal-hal berikut menurut Jawetz, Melnick dan Adelberg (2013) harus dipertimbangkan karena mempengaruhi hasil pemeriksaan secara bermakna.

1. pH lingkungan

Beberapa obat lebih aktif pada pH asam seperti nitrofurantoin; lain-lainnya, pada pH basa seperti aminoglikosida dan sulfonamide.

2. Komponen medium

Sodium polyanetholsulfonate yang terkandung dalam medium kultur darah dan detergen anionik lainnya menghambat aminoglikosida. *Para aminobenzoic acid* (PABA) dalam ekstrak jaringan mengantagonis sulfunamida. Protein serum mengikat penisilin dalam derajat yang berbeda-beda, berkisar dari 40% untuk metisilin hingga 98% untuk dikloksasilin. Penambahan NaCl ke medium mempertinggi deteksi resistensi metisilin pada *S. aureus*.

3. Kestabilan obat

Pada suhu inkubator, beberapa agen antimikroba kehilangan aktivitas mereka. Penisilin mengalami inaktivasi secara lambat, sedangkan aminoglikosida dan siprofloksasin cukup stabil dalam periode yang lama.

4. Besar 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 dengan populasi kecil. Selain itu, suatu mutan resisten jauh lebih mungkin muncul pada populasi yang besar.

5. Lama inkubasi

Pada banyak kondisi, mikroorganisme tidak dimatikan, tetapi hanya dihambat pada pajanan singkat terhadap agen antimikroba. Semakin lama masa inkubasi berlangsung, semakin besar kesempatan mutan resisten untuk muncul, atau semakin besar kesempatan bagi anggota yang paling tidak sensitif terhadap antimikroba untuk mulai memperbanyak diri seiring dengan berkurngnya obat.

6. Aktivitas metabolik mikroorganisme

Secara umum, organisme yang aktif dan cepat bertumbuh lebih sensitif terhadap kerja obat dibandingkan yang berada dalam fase istirahat. Organisme yang tidak aktif secara metabolik dan berhasil bertahan hidup pada pajanan lama suatu obat mungkin juga memiliki keturunan yang sepenuhnya sensitif terhadap obat yang sama.