

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Sembung (*Blumea balsamifera*)

1. Deskripsi tanaman sembung

Tanaman sembung berupa perdu, tumbuh tegak, tinggi sampai 4 m, memiliki bunga berkelompok berupa malai, keluar di ujung cabang, warnanya kuning. Buah longkang sedikit melengkung, panjangnya 1 mm (Herbie, 2015). Tanaman sembung memiliki daun tunggal, berwarna hijau, memiliki ukuran panjang 10-30 cm sedangkan lebar 2,5-12 cm dengan panjang tangkai daun sekitar 1–2 cm. Daun berbentuk lonjong cenderung runcing di ujungnya seperti tombak, tepi daun umumnya memiliki gerigi dan tajam, memiliki bulu di permukaan daun (Afin, 2013).

Tanaman sembung mudah tumbuh di iklim tropis, seperti Indonesia. Tumbuh di tempat terbuka sampai tempat yang agak terlindungi di tepi sungai, tanah pertanian, pekarangan, dapat tumbuh pada tanah berpasir atau tanah yang agak basah pada ketinggian sampai 2.200 mdpl (Herbie, 2015).

2. Klasifikasi tanaman sembung

Taksonomi tanaman sembung adalah sebagai berikut:

Kingdom : *Plantae*
Subkingdom : *Embryophyta*
Division : *Spermatophyta*
Subdivision : *Angiospermae*
Class : *Dicotyledonae*
Order : *Asterales*

Family : *Astereceae*
Genus : *Blumea*
Species : *Blumea balsamifera* (BPOM RI, 2008)



Gambar 1. Tanaman Sembung (Sumber: Dokumentasi pribadi)

3. Nama tanaman

Nama lokal tanaman sembung yaitu sembung (Sunda); sembung legi, sembung gantung, sembung gula, sembung kuwuk, sembung mingsa, sembung langu, sembung lelet (Jawa); kamandhin (Madura); sembung (Bali), sembung, capa, capo (Sumatera); afoat (Timor), kesembung (Sasak); chapa (Sulawesi); buya sapa (Sumatera) (Hidayat dan Napitupulu, 2015).

4. Kandungan tanaman sembung

Berdasarkan penelitian Amalia, Sari, dan Nursanty (2017) melaporkan bahwa daun sembung mengandung metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, tanin, terpenoid dan steroid. Kandungan senyawa kimia dari daun sembung memiliki mekanisme kerja dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Adapun fungsi dari masing-masing senyawa tersebut yaitu:

a. Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa-senyawa organik yang terdapat dalam tumbuhan-tumbuhan, bersifat basa, dan struktur kimianya mempunyai lingkaran heterosiklis dengan nitrogen sebagai hetero atomnya. Unsur-unsur penyusun alkaloid adalah karbon, hidrogen, nitrogen, dan oksigen. Alkaloid yang struktur kimianya tidak mengandung oksigen hanya ada beberapa saja. Ada pula alkaloid yang mengandung unsur lain selain keempat unsur yang telah disebutkan. Adanya nitrogen dalam lingkaran pada struktur kimia alkaloid, menyebabkan alkaloid tersebut bersifat alkali. Oleh karena itu, golongan senyawa-senyawa ini disebut alkaloid (Sumardjo, 2008).

Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme kerjanya adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh, terganggunya sintesis peptidoglikan sehingga pembentukan sel tidak sempurna karena tidak mengandung peptidoglikan dan dinding selnya hanya meliputi membran sel. Rusaknya dinding sel akan menyebabkan terhambatnya pertumbuhan sel bakteri dan pada akhirnya bakteri akan mati (Retnowati, Bialangi dan Posang, 2011).

b. Flavonoid

Komponen flavonoid merupakan komponen non-volatile yang utama pada *Blumea balsamifera*. Komponen flavonoid sembung terbanyak ada di daun (2,94%), diikuti batang (1,36%) dan cabang (1,21%) (Pang *et al.*, 2014). Flavonoid merupakan senyawa polar yang umumnya mudah larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol dan aseton. Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol mempunyai sifat efektif menghambat pertumbuhan

virus, bakteri dan jamur. Senyawa-senyawa flavanoid umumnya bersifat antioksidan dan banyak digunakan sebagai bahan baku obat-obatan (Parwata, 2016).

Mekanisme senyawa flavonoid sebagai antibakteri yaitu dengan merusak membran sitoplasma dan menyebabkan kebocoran isi sel. Aktivitas ini bekerja sangat efektif ketika bakteri dalam tahap pembelahan, saat lapisan fosfolipid dikelilingi sel dalam kondisi yang sangat tipis menyebabkan flavonoid dapat berpenetrasi dengan mudah dan merusak isi sel. Flavonoid juga diketahui dapat mengganggu proses difusi makanan ke dalam sel sehingga pertumbuhan bakteri terhenti atau mati (Sujatmiko, 2014).

c. Tanin

Tanin merupakan golongan senyawa aktif tumbuhan yang bersifat fenol mempunyai rasa sepat dan mempunyai kemampuan menyamak kulit. Tanin terdapat dalam berbagai jenis tanaman terutama tanaman obat, selain digunakan sebagai astringent (pengelat) dan obat untuk saluran pencernaan, tanin bekerja sebagai obat untuk penyembuhan luka pada kulit. Secara kimia tanin dibagi menjadi dua golongan, yaitu tanin terkondensasi atau tanin katekin dan tanin terhidrolisis. Tanin terkondensasi terdapat dalam paku-pakuan, gimnospermae dan angiospermae, terutama pada jenis tumbuh-tumbuhan berkayu. Tanin terhidrolisis penyebarannya terbatas pada tumbuhan berkeping dua. Tanin merupakan serpihan mengkilat berwarna kekuningan sampai coklat muda, atau serbuk amorf. Tidak berbau, kelarutan sangat mudah larut dalam air dan etanol, kurang larut dalam etanol mutlak, larut dalam aseton, praktis tidak larut dalam benzene, dalam kloroform dan dalam eter (Ruhimat, 2015).

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 menginaktivkan adhesin sehingga bakteri tidak dapat melekat pada sel inang dan menginaktivkan enzim protease. Selain itu, tanin juga dapat mendestruksi materi genetik pada bakteri sehingga dapat menambah toksisitasnya pada bakteri (Sujatmiko, 2014).

d. Steroid

Steroid adalah suatu kelompok senyawa yang mempunyai kerangka dasar siklopentanoperhidrofenantrena, yang memiliki empat cincin terpadu (biasa ditandai cincin A, B, C dan D) (Tukiran, Suyatno, dan Hidayati, 2014). 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.

e. 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 isoprena. Terpenoid merupakan turunan-turunan terpena atau senyawa-senyawa yang strukturnya mirip terpena. Molekul terpenoid dapat mengandung gugus karboksil, hidrosil, formil, atau gugus yang lain (Sumardjo, 2008). Mekanisme kerja senyawa terpenoid sebagai

antibakteri diduga melibatkan kerusakan membran oleh senyawa lipofilik. Terpenoid dapat bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat dan merusak porin, serta mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri. Akibatnya sel bakteri kekurangan nutrisi dan pertumbuhannya akan terhambat atau mati (Monalisa, Handayani, dan Sukmawati, 2011).

5. Khasiat tanaman sembung

Daun sembung berkhasiat sebagai antibakteri, antiradang, melancarkan peredaran darah, memperlancar pengeluaran gas dari saluran pencernaan, memperlancar pengeluaran keringat, menghangatkan badan, menurunkan panas, menghilangkan bekuan darah dan pembengkakan, sebagai obat batuk, mengatasi reumatik sendi, persendian sakit setelah melahirkan, nyeri haid, datang haid tidak teratur, influenza, demam, sesak napas (asma), batuk, bronkhitis, perut kembung, diare, perut mulas, sariawan, nyeri dada akibat penyempitan pembuluh darah koroner (*angina pectoris*), dan kencing manis (*diabetes melitus*) (Ruhimat, 2015).

B. Simplisia

1. Definisi dan jenis-jenis simplisia

Simplisia merupakan istilah yang dipakai 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 (Herbie, 2015). Menurut Depkes RI (2008) tentang Farmakope Herbal Indonesia simplisia dibagi menjadi tiga golongan, yaitu:

a. Simplisia nabati

Simplisia yang dapat berupa tanaman utuh, bagian tanaman, eksudat tanaman, atau gabungan antara ketiganya, misalnya *Datura folium* dan *Piperis nigri fructus*. 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/diisolasi dari tanamannya. Simplisia tanaman obat termasuk dalam golongan simplisia nabati.

b. 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*).

c. Simplisia pelican atau mineral

Simplisia berupa bahan pelican 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 ke dalam golongan simplisia nabati. Secara umum pemberian nama atau penyebutan nama simplisia didasarkan atas gabungan nama spesies diikuti dengan nama tanaman (Herbie, 2015).

2. Persyaratan baku dan standardisasi simplisia

Menurut BPOM RI (2014) syarat baku simplisia, meliputi:

- a. Kadar air : tidak lebih dari 10%
- b. Angka lempeng total : tidak lebih dari 10
- c. Angka kapang dan khamir : tidak lebih dari 10

- d. Mikroba patogen : negatif
- e. Aflatoksin : tidak lebih dari 30 bagian per juta

Untuk mendapatkan kualitas mutu simplisia yang baik, maka mutu suatu simplisia/ekstrak dikontrol dengan melakukan standardisasi. Standardisasi adalah serangkaian parameter, prosedur dan cara pengukuran yang hasilnya merupakan unsur-unsur terkait paradigma mutu kefarmasian, mutu dalam artian memenuhi standar (kimia, biologi dan farmasi), termasuk jaminan (batas-batas) stabilitas sebagai produk kefarmasian umumnya (Khoirani, 2013). Standardisasi 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.
- c. Simplisia nabati boleh diawetkan dengan penambahan kloroform, karbon

tetraklorida, etilenoksida atau bahan pengawet lain yang cocok, yang mudah menguap dan tidak meninggalkan sisa. Wadah dan bungkus simplisia tidak boleh mempengaruhi bahan yang disimpan baik secara kimia/fisika, tertutup baik dan rapat. Penyimpanan simplisia agar dihindari dari cahaya dan penyerapan air.

d. Simplisia sebagai bahan/produk yang dikonsumsi manusia sebagai obat harus bermutu, aman, dan memberikan manfaat.

e. Simplisia sebagai bahan dengan kandungan kimia yang bertanggungjawab terhadap respon biologis harus memiliki spesifikasi kimia yaitu informasi komposisi (jenis dan kadarnya) senyawa kandungan (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 ke dalam 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 absorpsi 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 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. Cara yang biasa dilakukan adalah serbuk bahan dipanaskan dalam panci dengan air secukupnya selama 15 menit terhitung mulai suhu mencapai 90°C 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 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).

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 kontinue 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 di atasnya dikurangi gaya kapiler yang cenderung untuk menahan gerakan kebawah (Marjoni, 2016).

e. Sokletasi

Sokletasi merupakan proses ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus 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).

3. Hal-hal yang perlu diperhatikan dalam melakukan 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 menentukan 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. *Salmonella typhi*

1. Klasifikasi *Salmonella typhi*

Taksonomi dari *Salmonella typhi* adalah sebagai berikut:

<i>Kingdom</i>	: <i>Bacteria</i>
<i>Phylum</i>	: <i>Proteobacteria</i>
<i>Class</i>	: <i>Gammaproteobacteria</i>
<i>Ordo</i>	: <i>Enterobacteriales</i>
<i>Family</i>	: <i>Enterobacteriaceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Salmonella</i>
<i>Species</i>	: <i>Salmonella typhi</i> (Kuswiyanto, 2016).

2. Morfologi dan fisiologi

Salmonella typhi merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang, tidak berspora, tidak mempunyai simpai, tanpa fimbria, dan mempunyai flagel peritrik. berukuran 1-3,5 μm x 0,5-0,8 μm , besar koloni dalam media perbenihan rata-rata 2-4 mm. Dalam kultur ekstrak agar, koloni bakteri terlihat licin. Akan tetapi, dengan kultur infusi ayam (*chicken infusion*), koloni tumbuh lebih subur dan aspeknya tidak begitu transparan (Radji, 2010).

Kuman *Salmonella* tumbuh pada suasana aerob dan anaerob fakultatif, pada suhu 15-41⁰C (suhu pertumbuhan optimum 37,5⁰C, dan pH pertumbuhan 6-8. Umumnya, isolat kuman *Salmonella* dikenal berdasarkan sifatnya, yaitu dapat bergerak, reaksi fermentasi terhadap manitol dan sorbitol positif, serta memberikan hasil negatif pada reaksi indol, D-nase, fenilalanin deaminase, urease, Voges Proskauer, reaksi fermentasi terhadap sukrosa, laktosa, dan adonitol. *Salmonella typhi* tidak tumbuh dalam larutan KCN hanya membentuk sedikit H₂S dan tidak membentuk gas pada fermentasi glukosa. Pada agar SS, Endo, EMB, dan MacConkey, koloni kuman berbentuk bulat, kecil, dan tidak berwarna, sedangkan pada agar Wilson-Blair, koloni kuman berwarna hitam (Kuswiyanto, 2016).

3. Struktur antigen

Salmonella typhi memiliki tiga antigen utama yaitu :

a. Antigen O (antigen somatik)

Antigen yang berada pada lapisan luar tubuh bakteri, memiliki struktur kimia lipopolisakarida (endotoksin). Antigen ini dapat bertahan pada suhu panas dan alkohol tetapi tidak tahan dengan formaldehid. Endotoksin pada *Salmonella*

typhi terdiri dari 3 lapisan yaitu, *O-specific polysaccharide* di bagian luar, *core-polysaccharide* di bagian tengah dan lipid A di bagian dalam. Karena memiliki struktur LPS yang lengkap membuat bakteri ini lebih resisten terhadap enzim yang memproses antigen, yaitu dengan cara memperlambat pemrosesan dan aktivitas epitop tertentu (Nelwan, 2007).

b. Antigen H (antigen flagela)

Antigen yang terletak pada flagela, fili atau filmbriae dari bakteri. Memiliki struktur kimia protein dan tidak tahan dengan panas diatas 60°C, asam, dan alkohol tetapi tahan terhadap formaldehid (Nelwan, 2007).

c. Antigen Vi

Polimer dari polisakarida yang bersifat asam, terdapat pada bagian paling luar dari badan kuman. Antigen ini dapat rusak dengan pemanasan 60°C selama 1 jam, juga pada penambahan fenol dan asam. Kuman yang mempunyai antigen Vi ternyata lebih virulen, baik terhadap binatang maupun manusia. Antigen Vi juga menentukan kepekaan kuman terhadap bakteriofaga. Dalam laboratorium, antigen ini sangat berguna untuk diagnosis cepat kuman *Salmonella* dengan antiserum Vi (Kuswiyanto, 2016).

4. Faktor virulensi

Menurut Radji (2010) terdapat tiga faktor yang menentukan virulensi bakteri *Salmonella*, yaitu:

a. Daya invasi

Kuman *Salmonella* di usus halus berpenetrasi ke dalam epitel melalui lapisan epitel, masuk ke dalam jaringan subepitel, sampai di lamina propria. Pada saat terjadi penetrasi, belum diketahui dengan jelas mekanisme biokimia yang

terjadi namun prosesnya menyerupai fagositosis. Pada saat kuman mendekati lapisan epitel, *brush border* berdegenerasi dan kemudian kuman masuk ke dalam sel. Setelah penetrasi, bakteri difagosit oleh makrofag, berkembang biak, dan dibawa oleh makrofag ke bagian tubuh yang lain.

b. Endotoksin

Kemampuan *Salmonella* yang hidup intraseluler diduga karena memiliki antigen permukaan (antigen Vi). Simpai sel *Salmonella* mengandung kompleks lipopolisakarida (LPS) yang berfungsi sebagai endotoksin dan merupakan faktor virulensi. Endotoksin pada *Salmonella* dapat merangsang pelepasan zat pirogen dari sel-sel makrofag dan sel-sel polimorfonuklear (PMN) sehingga menimbulkan demam. Endotoksin juga dapat merangsang aktivasi sistem komplemen, memengaruhi limfosit, dan pelepasan kinin. Apabila terdapat sirkulasi endotoksin dalam peredaran darah dapat menyebabkan terjadinya kejang akibat infeksi.

c. Enterotoksin dan sitotoksin

Selain menghasilkan endotoksin, *Salmonella* juga menghasilkan toksin lain yaitu enterotoksin dan sitotoksin. Kedua toksin ini diduga dapat meningkatkan daya invasi dan merupakan faktor virulensi *Salmonella*.

5. Demam enterik (demam tifoid)

Demam enterik disebabkan oleh *Salmonella typhi*, *Salmonella schottmuelleri*, dan *Salmonella paratyphi A*. Mekanisme demam enterik didahului oleh pelekatan atau penempelan *Salmonella*, yang biasanya melalui makanan yang terkontaminasi, pada protein reseptor yang ada di permukaan sel epitel usus. Setelah terjadi proses fagositosis atau pinositosis bakteri oleh sel inang, bakteri akan berkolonisasi dan bermultiplikasi. Selanjutnya, terjadi invasi bakteri pada

lapisan epitel intestin. Bakteri *Salmonella* akan berkembang biak secara intraseluler dan masuk ke dalam kelenjar getah bening. Bakteri ini kemudian masuk ke dalam peredaran darah dan sel-sel retikuloendotelium melalui *ductus thoracicus*, lalu menyebar ke dalam banyak organ tubuh. Akibat yang menonjol adalah hiperplasia, nekrosis jaringan limfoid, hepatitis, dan radang kandung empedu (Radji, 2010).

Salmonellosis akan menimbulkan respons inflamasi yang dapat menyebabkan ulserasi, terutama yang disebabkan oleh infeksi *Salmonella typhi* dan *Salmonella paratyphi*. Selain itu, sitotoksin bakteri ini diduga juga dapat meningkatkan respons inflamasi. Invasi bakteri *Salmonella* dalam mukosa menyebabkan sel-sel epitel memproduksi dan melepaskan beberapa jenis sitokin proinflamasi. Pelepasan faktor-faktor inflamasi ini dapat menyebabkan kerusakan pada intestin. Gejala yang ditimbulkan dapat ringan sampai berat, seperti demam, sakit perut, leukositosis, sembelit, pembesaran limfa, dan diare. Pada beberapa kasus, penderita kehilangan nafsu makan, ruam pada wajah, dan bintik-bintik merah. Gejala demam enterik yang disebabkan oleh *Salmonella typhi* umumnya muncul 1-3 minggu setelah penderita terinfeksi. Pada infeksi subklinis, beberapa individu akan membawa bakteri *Salmonella* dalam tubuhnya dalam jangka waktu yang cukup lama, tetapi terlihat sehat (Radji, 2010).

E. Pengukuran Aktivitas Antimikroba

Penentuan kepekaan bakteri patogen terhadap antimikroba dapat dilakukan dengan salah satu dari dua metode pokok yaitu dilusi atau difusi.

1. Metode dilusi

Metode dilusi menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap, baik dengan media cair maupun padat kemudian media tersebut diinokulasi bakteri uji dan diinkubasi. Tahap akhir dilarutkan antimikroba dengan kadar yang menghambat atau mematikan. Pengujian menggunakan metode ini memiliki kelemahan yaitu proses pemeriksaan memakan waktu yang cukup lama serta penggunaannya dibatasi pada keadaan tertentu saja. Metode dilusi ini dibedakan menjadi dua yaitu metode dilusi padat dan dilusi cair (Irianto, 2014).

a. Metode dilusi cair

Metode dilusi cair mengukur KHM dan KBM. Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji (Irianto, 2014).

b. Metode dilusi padat

Metode dilusi padat serupa dengan metode dilusi cair namun media yang digunakan adalah media padat (solid). Metode ini memiliki keuntungan seperti, satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Irianto, 2014).

2. Metode difusi

Metode yang paling sering digunakan adalah metode difusi agar. Cakram kertas saring berisi sejumlah tertentu obat ditempatkan pada permukaan medium padat yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji pada permukaannya. Setelah inkubasi, diameter zona hambatan sekitar cakram dipergunakan mengukur kekuatan hambatan obat terhadap organisme uji. Metode difusi agar dibedakan menjadi dua yaitu cara *Kirby Bauer* dan cara sumuran (Vandepitte, dkk., 2011).

a. Cara *Kirby Bauer*

Metode difusi disk (tes *Kirby Bauer*) dilakukan untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Piringan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media agar. Keunggulan uji difusi cakram agar mencakup fleksibilitas yang lebih besar dalam memilih obat yang akan diperiksa. Selain itu metode difusi mudah dilakukan, tidak memerlukan peralatan khusus, dan relatif murah. Sedangkan kelemahannya adalah ukuran zona bening yang terbentuk tergantung oleh kondisi inkubasi, inokulum, predifusi dan preinkubasi, serta ketebalan medium (Vandepitte, dkk., 2011).

b. Cara sumuran

Metode ini serupa dengan metode difusi disk, di mana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antimikroba yang akan diuji. Metode ini memiliki kelemahan yaitu diperlukan keahlian dalam membentuk sumuran pada media dengan meminimalisir terjadinya kerusakan pada media agar (Vandepitte, dkk., 2011).

Dalam pengukuran aktivitas antibakteri pada suatu bahan alam dengan metode difusi, dapat ditentukan dengan cara melihat ukuran dari zona hambat yang dihasilkan dan dikategorikan pada Tabel 1 berikut ini.

Tabel 1
Kategori Diameter Zona Hambat

Diameter zona hambat	Kategori
$\leq 5\text{mm}$	Lemah
6-10 mm	Sedang
11 –20 mm	Kuat
$\geq 21\text{ mm}$	Sangat kuat

Sumber : (Susanto, Sudrajat, dan Ruga (2012) dalam Permadani, Puguh, dan Sarwiyono, 2014)

F. Antimikroba

1. Antimikroba

Antimikroba merupakan senyawa yang dapat membrantas infeksi mikroba pada manusia (Sunaryo, 2017). Agen antimikroba dapat dikelompokkan menjadi bakteriostatik dan bakterisidal. Agen yang terutama bersifat bakteriostatik memiliki kadar inhibitorik yang jauh lebih rendah daripada kadar bakteriosidal. Umumnya, agen yang aktif di dinding sel bersifat bakterisidal, dan obat yang menghambat sintesis protein bersifat bakteriostatik (Katzung, 2011).

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. Antimikroba yang termasuk dalam kelompok ini adalah *Sulfonamida*, *Tetrasiklin*, *Kloramfenikol*, *Enteromisin*, *Novobiosin*, *Paraaminosalisilat*, *Linkomisin*, *Kindamisin*, dan *Nitrofuratoin* (dalam suasana basa dengan konsentrasi rendah).

b. Bakterisida

Sifat antimikroba bakterisida yaitu membunuh bakteri. Antimikroba yang masuk ke dalam kelompok ini adalah penisilin, sefalosporin, streptomisin, eritromisin, neomisin, kanamisin, gentamisin, novobiosin, polimiksin, kolistin, kotrimokazol, isoniasid, vankomisin, basitrasin, dan nitrofurantoin (dalam suasana asam dengan konsentrasi tinggi).

2. Mekanisme kerja obat-obat 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 (Jawetz, Melnick, dan Adelberg's, 2012).

Toksisitas selektif bersifat relative, bukan absolute; yaitu suatu obat dalam konsentrasi yang dapat ditoleransi penjamu tetapi dapat merusak suatu mikroorganisme penyebab infeksi. Toksisitas selektif mungkin merupakan fungsi suatu reseptor spesifik yang diperlukan untuk pelekatan obat, atau mungkin bergantung pada inhibisi peristiwa biokimiawi yang esensial bagi pathogen, tetapi tidak esensial bagi penjamu (Jawetz, Melnick, dan Adelberg's, 2012).

Mekanisme kerja obat antimikroba dapat dibahas berdasarkan empat kategori utama, menurut Jawetz, Melnick, dan Adelberg's (2012) beberapa kategori mekanisme kerja antimikroba yaitu:

a. Inhibisi sintesis dinding sel

Bakteri memiliki lapisan luar yang kaku, yaitu dinding sel. Dinding sel mempertahankan bentuk dan ukuran mikroorganisme, yang memiliki tekanan osmotik internal yang tinggi. Kerusakan pada dinding sel (misalnya, oleh lisozim) lisis sel. Dalam suatu lingkungan hipertonik (misalnya, sukrosa 20%), kerusakan dinding sel akan menyebabkan terbentuknya bakteri sferis ("*protoplasma*" pada organisme gram positif atau "*sferoplasma*" pada organisme gram negatif);

protoplasma atau *sferoplasma* tersebut dibatasi oleh membrane sitoplasma yang rapuh. Jika *protoplasma* atau *sferoplasma* semacam tadi ditempatkan dalam lingkungan bertonisitas biasa, mereka akan menyerap air dengan cepat, membengkak, dan biasa pecah. Spesimen dari pasien yang mendapatkan terapi antibiotik yang aktif terhadap dinding sel sering memperlihatkan bakteri yang membengkak atau bakteri yang terdistorsi.

Dinding sel yang mengandung polimer "*mukopeptida*" ("*peptidoglikan*") yang khas secara kimiawi dan tersusun atas polisakarida-polisakarida dan suatu polipeptida yang kaya ikatan silang. Polisakarida biasanya mengandung gula amino *N-acetylglucosamine* dan *acetylmuramic acid*. *Acetylmuramic acid* hanya ditemukan dalam bakteri. Pada gula-gula amino tersebut, melekat rantai-rantai peptide yang pendek. Kekakuan pada dinding sel ini merupakan peran dan ikatan silang rantai-rantai peptide (misalnya, melalui ikatan *pentaglisin*) sebagai akibat dari reaksi transpeptidasi yang dilangsungkan oleh beberapa enzim. Lapisan peptidoglikan jauh lebih tebal pada dinding sel bakteri gram positif dibandingkan bakteri gram negatif.

b. Inhibisi fungsi membrane sel

Sitoplasma pada semua makhluk hidup dibungkus oleh membran sitoplasma yang berperan sebagai sawar berpermeabilitas selektif, melakukan fungsi transportasi aktif dan mengatur komposisi internal sel. Jika integritas fungsional membran sitoplasma terganggu, makromolekul dan ion-ion akan keluar dari sel, dan kemudian terjadi kerusakan atau kematian sel. Membran sitoplasma bakteri dan fungi memiliki struktur yang berbeda dari membran pada sel hewan dan lebih mudah diirusak oleh agen-agen tertentu. Sebagai akibatnya, mungkin

dapat dilakukan kemoterapi selektif. Deterjen yang mengandung gugus lipofilik dan hidrofilik, merusak membran sitoplasma dan membunuh sel. Salah satu kelas antibiotik, polimiksin, terdiri atas peptida siklik mirip deterjen yang selektif merusak membran yang mengandung *fosfatidiletanolamin*, suatu komponen utama membran bakteri. Sejumlah antibiotik secara spesifik mengganggu fungsi biosintesis membran sitoplasma misalnya, asam nalidiksat dan *novobiosin* menghambat sintesis DNA, dan *novobiosin* juga menghambat sintesis *teichoic acid*.

c. Inhibisi sintesis protein

Telah diketahui bahwa *eritromisin*, *linkomisin*, *tetrasiklin*, *aminoglikosida*, dan *cloramfenikol* dapat menghambat sintesis protein pada bakteri, tetapi mekanisme kerja yang pasti bagi obat-obat tersebut masih belum diketahui dengan jelas. Bakteri memiliki ribosom 70S, sedangkan sel mamalia memiliki ribosom 80S. Subunit masing-masing tipe ribosom, susunan kimia, dan spesifisitas fungsional mereka cukup berbeda untuk menjelaskan mengapa obat antimikroba dapat menghambat sintesis protein pada ribosom bakteri tanpa menyebabkan efek yang signifikan pada ribosom mamalia.

Pada sintesis protein mikroba yang normal, pesan mRNA “dibaca” secara simultan oleh beberapa ribosom yang membentang disepanjang untai mRNA. Susunan ribosom tersebut dinamakan polisom. Contoh obat yang bekerja dengan menghambat sintesis protein adalah *eritromisin*, *linkomisin*, *tetrasiklin*, *glisilsiklin*, *aminoglikosida*, dan *cloramfenikol*.

d. Inhibisi sintesis asam nukleat

Contoh obat-obatan yang bekerja dengan menghambat sintesis asam nukleat adalah golongan *kuinolon*, *pirimetamin*, *rifampin*, *sulfonamide*, *trimethoprim*, dan *trimetreksat*. Zat antibakteri menghambat pertumbuhan bakteri dengan mengikat kuat ke *DNA-dependent RNA polimerase* bakteri. Sehingga menghambat sintesis RNA bakteri.

G. 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, Melnick, dan Adelberg (2012) 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 sulfonamida. 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 *Staphylococcus 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 berkurangnya 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.