

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Secang (*Caesalpinia sappan* L.)

Secang merupakan tanaman yang sudah lama digunakan sebagai obat tradisional. Kayu secang sangat dikenal di Sulawesi sebagai pemberi warna pada air minum yang dikenal sebagai teh secang. Kayu secang juga merupakan salah satu ramuan yang digunakan dalam pembuatan minuman tradisional Betawi bir pletok, yaitu sebagai pemberi warna (Sasmito, 2017).

1. Deskripsi tanaman secang

Perdu atau pohon kecil, tinggi 5-10 m, batang dan percabangannya berduri tempel yang bentuknya bengkok dan letaknya tersebar, batang bulat, warnanya hijau kecoklatan. Daun majemuk menyirip ganda, panjang 25-40 cm, jumlah anak daun 10-20 pasang yang letaknya berhadapan. Anak daun tidak bertangkai, bentuknya lonjong, pangkal romping, ujung bulat, tepi rata dan hampir sejajar, panjang 10-25 mm, lebar 3-11 mm, warnanya hijau. Bunganya bunga majemuk berbentuk malai, keluar dari ujung tangkai dengan panjang 10-40 cm, mahkota bentuk tabung, warnanya kuning. Buahnya buah polong, panjang 8-10 cm, lebar 3-4 cm, ujung seperti paruh berisi 3-4 biji, bila masak warnanya hitam. Biji bulat memanjang, panjang 15-18 mm, lebar 8-11 mm, tebal 507 mm, warnanya kuning kecoklatan (Herbie, 2015).

Secang (*Cesalpinia sappan* L.) menyukai tempat terbuka sampai ketinggian 1.000 mdpl., seperti di daerah pegunungan yang berbatu tetapi tidak terlalu dingin. Secang tumbuh liar dan kadang ditanam pagar atau pembatas kebun. Berikut ini klasifikasinya:

Divisi : *Spermatophyta*

Sub Divisi : *Angiospermae*

Kelas : *Dicotyledonae*

Bangsa : *Fabales*

Suku : *Fabaceae*

Marga : *Caesalpinia*

Jenis : *Caesalpinia sappan L.*

Nama Lokal : *Seupeng* (Aceh); *Sepang* (Gayo); *Sopang* (Batak); *Cacang* (Minangkabau); *Secang* (Sunda); *Kayu Secang, Saga Jawa* (Jawa); *Kaju Secang* (Madura); *Cang* (Bali); *Sepang* (Sasak); *Supa; Supang* (Bima); *Sepel* (Timor); *Hape* (Sawu); *Hong* (Alor); *Sepe* (Roti); *Kayu Sema* (Manado); *Dolo* (Bare); *Sapang* (Makassar); *Sepang* (Bugis); *Sefen* (Halmahera Selatan); *Sawala, Hiniaga, Sinyiang, Singiang* (Halmahera Utara); *Sunyiha* (Ternate); *Roro* (Tidore) (Herbie, 2015).



Gambar 1. Tanaman Secang (BPOM.RI, 2008)

2. Kandungan dan khasiat tanaman secang

Secara empiris secang dipakai sebagai obat luka, batuk berdarah, berak darah, darah kotor, penawar racun, sipilis, menghentikan peredaran darah, pengobatan pascapersalinan, desinfektan, antidiare, dan astringent. Hingga akhir abad ke-19, kayu secang telah dimanfaatkan sebagai sumber pewarna merah utama. Namun saat ini, pemanfaatannya sebagai bahan pewarna hanya berlangsung untuk skala kecil. Biji tumbuhan ini berfungsi sebagai bahan sedatif, kayu, dan batangnya dapat mengobati tuberculosis, diare dan disentri, sedangkan daun-daunnya dapat dimanfaatkan untuk mempercepat pematangan buah papaya dan mangga (Sasmito, 2017).

Secang kaya akan kandungan kimia. Komponen senyawa bioaktif yang terkandung dalam kayu secang seperti *brazilin*, *brazilein*, *3'-O-metilbrazilin*,

sappanonem, *chalcone*, *sappanalcone*, asam galat, delta- α -phellandrene, oscimene, resin, resorsin, minyak atsiri, dan komponen umum lainnya seperti asam amino, karbohidrat, dan asam palmitat yang jumlahnya relatif sangat kecil. Adanya komponen brazilin memberikan spesifisitas dari kayu secang, yaitu warna merah kecokelatan jika teroksidasi atau dalam suasana basa. Namun brazilin inilah yang diduga dapat mempunyai efek melindungi tubuh dari keracunan akibat radikal kimia. Secang mengandung senyawa aktif alkaloid, flavonoids, glikosida, saponin, tanin, dan triterpenoid. Sementara daun secang mengandung 0,16-0,20% minyak atsiri yang beraroma enak dan tidak berwarna (Sasmito, 2017). Berdasarkan hasil sebuah penelitian dilaporkan bahwa daun secang memiliki kandungan karbohidrat, glikosida, flavonoid, fenol, saponin, tanin, asam amino dan protein (Kaur *et al.*, 2011).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa secang memiliki efek meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag secara signifikan baik *in vitro* maupun *in vivo*. Setelah diketahuinya efek ini yang diamati pada pemberian oral ekstrak secang, dapat diasumsikan bahwa konsumsi harian secang sebagai penawar haus diduga memiliki beberapa efek yang diinginkan untuk meningkatkan mekanisme pertahanan tubuh terhadap infeksi dan penyakit inflamasi di mana makrofag berperan penting pada sistem pertahanan tubuh. Di samping dapat meningkatkan sistem imun, ekstrak kayu secang juga dapat bersifat immunosupresan pada kondisi autoimun (Sasmito, 2017).

Secang kaya kandungan kimia. Kayu secang mengandung asam galat, tanin, resin, resorsin, brazilin, brasilein, d-alfa-phellandrene, oscimene, minyak atsiri. Sedangkan daunnya mengandung 0,16-0,20% minyak atsiri yang berbau enak dan

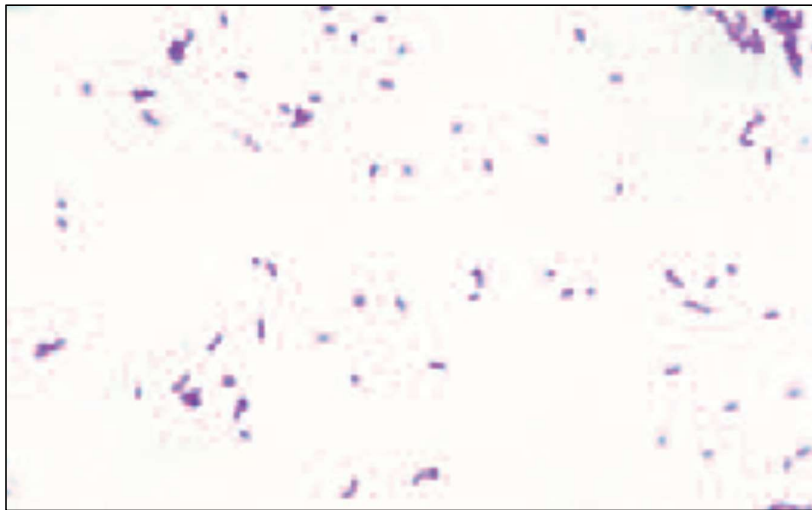
hampir tidak berwarna. Tanaman ini bersifat sepat serta tidak berbau. Khasiat secang, diantaranya penghenti pendarahan, pembersih darah, pengelat, penawar racun, serta obat antiseptik (Hariana, 2015).

B. *Streptococcus mutans*

Streptococcus mutans (Phylum Firmicutes) adalah salah satu anggota kelompok *Streptococcal* yang dikenal sebagai grup "mutans". Kelompok mutans adalah satu dari lima kelompok dalam kelompok "viridans", yang juga termasuk kelompok anginosus, kelompok bovis, kelompok mitis, dan kelompok salivarius. Semua *Streptococcus viridans* adalah antara hemolitik atau nonhemolitik, kokus gram positif yang biasanya ditemukan di mulut, saluran pernapasan bagian atas, dan saluran urogenital manusia. Anggota kelompok mutans adalah penyebab paling umum dari endokarditis subakut pada pasien dengan masalah katup jantung atau katup jantung buatan yang ada. Mereka juga bertanggung jawab untuk bakteremia setelah prosedur invasif dental atau urogenital, dan pada pasien dengan immunosupresi yang menjalani kemoterapi dan transplantasi sumsum tulang. Beberapa organisme ini mampu menghidrolisis sukrosa dan membentuk plak gigi, yang pada gilirannya memberikan lingkungan anaerobik yang ideal untuk fermentasi. Asam yang dihasilkan oleh fermentasi ini dan beberapa *Lactobacilli* tertentu mengikis email gigi dan bertanggung jawab atas pembentukan karies gigi (Leboffe and Pierce, 2011).

Streptococcus mutans adalah β -hemolitik atau nonhemolitik, nonmotil, fakultatif anaerobik, gram positif kokus dan tahan terhadap optochin. Identifikasi spesies biasanya tidak diperlukan secara klinis untuk *Streptococcus* α -hemolitik

dan nonhemolitik. Berbagai kelompok dapat dibedakan dari kelompok lain berdasarkan reaksi mereka dalam enam uji biokimia yaitu hidrolisis arginin, hidrolisis esculin, urease, Voges-Proskauer, dan produksi asam dari fermentasi manitol dan sorbitol. Prosedur diagnostik meliputi pewarnaan gram dan budaya aerobik yang sesuai. Pengobatan dapat dilakukan dengan pemberian penisilin G, vankomisin, atau generasi pertama sefalosporin (Leboffe and Pierce, 2011).



Gambar 2. *Streptococcus mutans* (Leboffe and Pierce, 2011)

Streptococcus mutans pertama kali diisolasi oleh Clark pada tahun 1924 dari gigi manusia yang mengalami karies. *Streptococcus mutans* berperan penting terhadap terjadinya karies gigi. Istilah *Streptococcus mutans* diambil berdasarkan hasil pemeriksaan mikrobiologi dengan pengecatan gram. Bakteri ini berebentuk oval dan lain dari bentuk spesies *Streptococcus* yang lain, sehingga disebut sebagai mutan dari *Streptococcus*. Taksonomi dari *Streptococcus mutans* menurut Michalek (1990) dalam Fatmawati (2011) adalah sebagai berikut:

Kingdom : *Monera*
Divisio : *Firmicutes*
Class : *Bacili*

Order : *Lactobacilalles*
Family : *Streptococcaceae*
Genus : *Streptococcus*
Species : *Streptococcus mutans*

Streptococcus mutans diklasifikasikan berdasarkan serotype menjadi 8 kelompok yaitu serotype “a” sampai “h”. Pembagian serotype ini berdasarkan perbedaan karbohidrat pada dinding sel. Akan tetapi, berdasarkan hibridasi DNA bakteri ini dibagi menjadi 4 kelompok genetik. Pembagian ini berdasarkan prosentase basa DNA yaitu *guanine* dan *cytosine*. Strain *Streptococcus mutans* yang banyak terdapat pada manusia adalah serotype c, e dan (36-38% G + C), dimana *Streptococcus mutans* serotype c merupakan bakteri utama penyebab karies gigi (Michalek (1990) dalam Fatmawati, 2011).

Streptococcus mutans merupakan bakteri gram positif berbentuk bulat yang khas membentuk pasangan atau rantai selama masa pertumbuhannya. *Streptococcus* merupakan salah satu golongan bakteri yang heterogen. Beberapa diantaranya merupakan anggota flora normal pada manusia. *Streptococcus mutans* merupakan bakteri gram positif (+), bersifat *non motil* (tidak bergerak), berdiameter 1-2 µm, bakteri anaerob fakultatif. Memiliki bentuk bulat atau bulat telur, tersusun seperti rantai dan tidak membentuk spora (Andries, Gunawan and Supit, 2014).

Streptococcus viridans, meliputi *S. mitis*, *S. mutans*, *S. salivarius*, *S. sanguinis*, dan lain-lain. Biasanya mereka bersifat hemolitik-a, tetapi ada pula yang bersifat nonhemolitik. Pertumbuhannya tidak dihambat oleh Optokin, dan koloninya tidak larut dalam empedu (deoksikolat). *Streptococcus viridans* adalah anggota flora normal yang paling umum ditemukan pada saluran napas atas dan keberadaannya penting untuk kesehatan membrane mukosa. Mereka dapat

mencapai aliran darah akibat trauma dan merupakan penyebab utama endocarditis pada katup jantung abnormal. Beberapa *Streptococcus viridans* (misalnya, *S. mutans*) menyintesis polisakarida besar, seperti dekstran atau levan, dari sukrosa dan berperan penting pada terbentuknya karies dentis (Jawetz, Melnick and Adelberg, 2010).

Hamada dan Slade (1973) dalam Holtman (2012) mengungkapkan melalui studi taksonomi ekstensif bahwa *Streptococcus mutans* membentuk kelompok nonmotile yang cukup homogen, katalase-negatif, *Streptococcus* gram positif. Selain itu, *Streptococcus mutans* ditemukan sebagai penghuni alami mulut manusia. Strain *Streptococcus* yang menunjukkan karakteristik biokimia (fermentasi manitol dan sorbitol serta berbagai jenis gula lainnya) serta mensintesis glukon larut dalam air dari sukrosa dinyatakan sebagai organisme *Streptococcus mutans*.

C. Simplisia

Simplisia adalah bahan alami yang digunakan untuk obat dan belum mengalami perubahan proses apa pun dan umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan. Menurut Herbie (2015), simplisia dibagi menjadi tiga golongan yaitu:

1. 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.

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 asselli*) dan madu (*Mel depuratum*).

3. Simplisia pelikan 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 dari tanaman, misalnya merica dengan nama spesies *Piperis albi* maka nama simplisianya disebut *Piperis albi Fructus*. *Fructus* menunjukkan bagian tanaman yang artinya “buah”. Di bawah ini penjelasan mengenai nama latin dari bagian tanaman yang digunakan sebagai simplisia adalah :

1. Kulit (*cortex*) adalah kulit bagian terluar dari tanaman tingkat tinggi yang berkayu.
2. Kayu (*lignum*) merupakan pemanfaatan bagian dari batang atau cabang.
3. Daun (*folium*) merupakan jenis simplisia yang paling umum digunakan sebagai bahan baku ramuan obat tradisional maupun minyak atsiri
4. Herba umumnya berupa produk tanaman obat dari jenis herba yang bersifat herbaceous.
5. Bunga (*flos*) dapat berupa bunga tunggal atau majemuk, bagian bunga majemuk serta komponen penyusun bunga.

6. Akar (*radix*) yang sering dimanfaatkan untuk bahan obat dapat berasal dari jenis tanaman yang umumnya berbatang lunak dan memiliki kandungan air yang tinggi.
7. Umbi (*bulbus*) adalah produk berupa potongan rajangan umbi lapis, umbi akar, atau umbi batang. Bentuk ukuran umbi bermacam-macam tergantung dari jenis tanamannya.
8. Rimpang (*rhizome*) adalah produk tanaman obat berupa potongan-potongan atau irisan rimpang.
9. Buah (*fructus*) ada yang lunak dan ada pula yang keras. Buah yang lunak akan menghasilkan simplisia dengan bentuk dan warna yang sangat berbeda, khususnya bila buah masih dalam keadaan segar.
10. Biji (*semen*) diambil dari buah yang telah masak sehingga umumnya sangat keras. Bentuk dan ukuran simplisia biji pun bermacam-macam tergantung dari jenis tanamannya (Herbie, 2015).

D. Ekstraksi

1. Definisi ekstraksi

Proses ekstraksi pada dasarnya adalah proses perpindahan massa dari 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).

Menurut Marjoni (2016), beberapa istilah umum yang berkaitan dengan proses ekstraksi diantaranya :

- Menstrum : Pelarut/campuran pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi
- Rafinat : sisa dari suatu proses ekstraksi.
- Artefak : Zat lain yang diperoleh selain zat yang terkandung di dalam sampel.

2. Tujuan ekstraksi

Tujuan dari ekstraksi adalah untuk menarik semua zat aktif dan komponen kimia yang terdapat dalam simplisia. Dalam menentukan tujuan dari suatu proses ekstraksi, perlu diperhatikan beberapa kondisi dan pertimbangan berikut ini menurut Marjoni (2016) adalah sebagai berikut:

a. Senyawa kimia yang telah memiliki identitas

Untuk senyawa kimia telah memiliki identitas, maka proses ekstraksi dapat dilakukan dengan cara mengikuti prosedur yang telah dipublikasikan atau dapat juga dilakukan sedikit modifikasi untuk mengembangkan proses ekstraksi.

b. Mengandung kelompok senyawa kimia tertentu

Dalam hal ini, proses ekstraksi bertujuan untuk menemukan kelompok senyawa kimia metabolit sekunder tertentu dalam simplisia seperti alkaloid, flavonoid dan lain-lain. Metode umum yang dapat digunakan adalah studi pustaka dan untuk kepastian hasil yang diperoleh, ekstrak diuji lebih lanjut secara kimia atau analisa kromatografi yang sesuai untuk kelompok senyawa kimia yang dituju.

c. Organisme (tanaman atau hewan)

Penggunaan simplisia dalam pengobatan tradisional biasanya dibuat dengan cara mendidihkan atau menyeduh simplisia tersebut dalam air. Dalam hal ini, proses ekstraksi yang dilakukan secara tradisional tersebut harus ditiru dan dikerjakan sedekat mungkin, apalagi jika ekstrak tersebut akan dilakukan kajian ilmiah lebih lanjut terutama dalam hal validasi penggunaan obat tradisional.

d. Penemuan senyawa baru

Untuk isolasi senyawa kimia baru yang belum diketahui sifatnya dan belum pernah ditentukan sebelumnya dengan metoda apapun maka, metoda ekstraksi dapat dipilih secara random atau dapat juga dipilih berdasarkan penggunaan tradisional untuk mengetahui adanya senyawa kimia yang memiliki aktivitas biologi khusus.

Beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam melakukan ekstraksi: (Marjoni, 2016)

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 dalam ekstraksi

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 pula (*like dissolves like*)

d. Waktu ekstraksi

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

e. Metode ekstraksi

Berbagai metode ekstraksi 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 industri misalnya dilakukan secara kontiniu, sedangkan pada skala laboratorium, ekstraksi dapat dilakukan baik dengan pengadukan ataupun tanpa pengadukan.

3. Jenis-jenis ekstraksi

Jenis-jenis ekstraksi menurut Marjoni (2016):

a. Berdasarkan bentuk substansi dalam campuran

1) Ekstraksi padat-cair

Proses ekstraksi padat-cair ini merupakan proses ekstraksi yang paling banyak ditemukan dalam mengisolasi suatu substansi yang terkandung di dalam suatu bahan alam. Proses ini melibatkan substansi yang berbentuk padat di dalam campurannya dan memerlukan kontak yang sangat lama antara pelarut dan zat padat. Kesempurnaan proses ekstraksi sangat ditentukan oleh sifat dari bahan alam dan sifat dari bahan yang akan diekstraksi.

2) Ekstraksi cair-cair

Ekstraksi ini dilakukan apabila substansi yang akan diekstraksi berbentuk cairan di dalam campurannya.

b. Berdasarkan penggunaan panas

1) Ekstraksi secara dingin

Metode ekstraksi secara dingin bertujuan untuk mengekstrak senyawa-senyawa yang terdapat dalam simplisia yang tidak tahan terhadap panas atau bersifat termolabil. Ekstraksi secara dingin dapat dilakukan dengan beberapa cara berikut ini :

a) Maserasi

Maserasi adalah proses ekstraksi sederhana yang dilakukan hanya dengan cara merendam simplisia dalam satu atau campuran pelarut selama waktu tertentu pada temperature kamar dan terlindung dari cahaya.

b) Perkolasi

Perkolasi adalah proses penyarian zat aktif secara dingin dengan cara mengalirkan pelarut secara kontinu pada simplisia selama waktu tertentu.

2) Ekstraksi panas

Metode panas digunakan apabila senyawa-senyawa yang terkandung dalam simplisia dipastikan tahan panas. Metode ekstraksi yang membutuhkan panas diantaranya:

a) Seduhan

Merupakan metode ekstraksi paling sederhana hanya dengan merendam simplisia dengan air panas selama waktu tertentu (5-10 menit).

b) Coque (penggodokan)

Merupakan proses penyarian dengan cara menggodok simplisia menggunakan api langsung dan hasilnya dapat langsung digunakan sebagai obat baik secara keseluruhan termasuk ampasnya atau hanya hasil godokannya saja tanpa ampas.

c) Infusa

Infusa merupakan sediaan cair yang dibuat dengan cara menyari simplisia nabati dengan air pada suhu 90°C selama 15 menit. Kecuali dinyatakan lain, infusa dilakukan dengan cara sebagai berikut :

“Simplisia dengan derajat kehalusan tertentu dimasukkan ke dalam panci infusa, kemudian ditambahkan air secukupnya. Panaskan campuran di atas penangas air selama 15 menit, dihitung mulai suhu 90°C sambil sekali-sekali diaduk. Serkai selagi panas menggunakan kain flannel, tambahkan air panas secukupnya melalui ampas sehingga diperoleh volume infus yang dikehendaki”.

d) Digestasi

Digestasi adalah proses ekstraksi yang cara kerjanya hampir sama dengan maserasi, hanya saja digesti menggunakan pemanasan rendah pada suhu 30-40°C. Metode ini biasanya digunakan untuk simplisia yang tersari baik pada suhu biasa.

e) Dekokta

Proses penyarian secara dekokta hampir sama dengan infusa, perbedaannya hanya terletak pada lamanya waktu pemanasan. Waktu pemanasan pada dekokta lebih lama dibanding metode infusa, yaitu 30 menit dihitung setelah suhu mencapai 90°C. Metode ini sudah sangat jarang digunakan karena selain proses penyariannya yang kurang sempurna dan juga tidak dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang bersifat yang termolabil.

f) Refluks

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

g) Soxhletasi

Proses soxhletasi merupakan proses ekstraksi panas menggunakan alat khusus berupa ekstraktor soxhlet. Suhu yang digunakan lebih rendah dibandingkan dengan suhu pada metode refluks.

c. Berdasarkan proses pelaksanaan

1) Ekstraksi berkesinambungan (*Continous Extraction*)

Pada proses ekstraksi ini, pelarut yang sama dipakai berulang-ulang sampai proses ekstraksi selesai.

2) Ekstraksi bertahap (*Bath Extraction*)

Dalam ekstraksi ini pada setiap tahap ekstraksi selalu dipakai pelarut yang selalu baru sampai proses ekstraksi selesai.

d. Berdasarkan metode ekstraksi

1) Ekstraksi tunggal

Merupakan proses ekstraksi dengan cara mencampurkan bahan yang akan diekstrak sebanyak satu kali dengan pelarut. Pada ekstraksi ini sebagian dari zat aktif akan terlarut dalam pelarut sampai mencapai suatu keseimbangan. Kekurangan dari ekstraksi dengan cara seperti ini adalah rendahnya rendemen yang dihasilkan.

2) Ekstraksi multi tahap

Merupakan suatu proses ekstraksi dengan cara mencampurkan bahan yang akan diekstrak beberapa kali dengan pelarut yang baru dalam jumlah yang sama banyak. Ekstrak yang dihasilkan dengan cara ini memiliki rendemen lebih tinggi dibandingkan ekstraksi tunggal, karena bahan yang diekstrak mengalami beberapa kali pencampuran dan pemisahan.

Menurut Marjoni (2016), parameter yang mempengaruhi ekstraksi diantaranya adalah:

1. Pengembangan dan pemelaran tanaman
2. Difusi, pH, ukuran partikel dan suhu
3. Pilihan pelarut ekstraksi.

E. Maserasi

1. Pengertian maserasi

Maserasi merupakan salah satu metoda ekstraksi yang dilakukan dengan cara merendam simplisia nabati menggunakan pelarut tertentu selama waktu tertentu dengan sesekali dilakukan pengadukan atau penggojokan (Marjoni, 2016).

2. Prinsip kerja maserasi

Prinsip kerja dari maserasi adalah proses melarutnya zat aktif berdasarkan sifat kelarutannya dalam suatu pelarut (*like dissolved like*). Ekstraksi zat aktif dilakukan dengan cara merendam simplisia nabati dalam pelarut yang sesuai selama beberapa hari pada suhu kamar dan terlindung dari cahaya. 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 berada 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).

3. Pengerjaan maserasi

Maserasi biasanya dilakukan pada suhu antara 15°C-20°C dalam waktu selama 3 hari sampai zat aktif yang dikehendaki larut. Kecuali dinyatakan lain, maserasi dilakukan dengan cara merendam 10 bagian simplisia atau campuran simplisia dengan derajat kehalusan tertentu, dimasukkan ke dalam bejana kemudian dituangi dengan 70 bagian cairan penyari, ditutup dan dibiarkan selama 3-5 hari pada tempat yang terlindung dari cahaya. Diaduk berulang-ulang, diserukai dan diperas. Ampas dari maserasi dicuci menggunakan cairan penyari secukupnya

sampai diperoleh 100 bagian sari. Bejana ditutup dan dibiarkan selama 2 hari di tempat sejuk dan terlindung dari cahaya matahari kemudian pisahkan endapan yang diperoleh. Maserasi merupakan metode sederhana dan paling banyak digunakan karena metode ini sesuai dan baik untuk skala kecil maupun skala industri. Langkah-langkah pengerjaan maserasi adalah sebagai berikut (Marjoni, 2016):

- a. Simplisia dimasukkan ke dalam wadah yang bersifat inert dan tertutup rapat pada suhu kamar.
- b. Simplisia kemudian direndam dengan pelarut yang cocok selama beberapa hari sambil sesekali diaduk. Pelarut yang digunakan untuk maserasi data bersifat “bisa dicampur air” seperti air itu sendiri yang disebut dengan pelarut polar dan dapat juga digunakan pelarut yang tidak dapat bercampur dengan air seperti : aseton, etil asetat. Pelarut yang tidak dapat bercampur dengan air ini disebut pelarut non polar atau pelarut organik.
- c. Setelah proses ekstraksi selesai, pelarut dipisahkan dari sampel dengan cara penyaringan.

Waktu maserasi pada umumnya adalah 5 hari, karena dengan waktu tersebut telah tercapai keseimbangan antara bahan yang diekstraksi pada bagian dalam sel dengan luar sel. Pengocokan yang dilakukan selama maserasi akan menjamin keseimbangan konsentrasi bahan ekstraksi lebih cepat dalam cairan. Tanpa adanya pengocokan akan mengakibatkan berkurangnya perpindahan bahan aktif selama proses maserasi (Marjoni, 2016).

4. Pelarut yang digunakan dalam maserasi

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 menurut Marjoni (2016) yaitu:

- a. Etanol bersifat lebih selektif
- b. Dapat menghambat pertumbuhan kapang dan kuman
- c. Bersifat non toksik (tidak beracun)
- d. Etanol bersifat netral
- e. Memiliki daya absorpsi yang baik
- f. Dapat bercampur dengan air pada berbagai perbandingan
- g. Panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit
- h. Etanol dapat melarutkan berbagai zat aktif dan meminimalisir terlarutnya zat pengganggu seperti lemak.

5. Kelebihan dan kekurangan ekstraksi secara maserasi

Ekstraksi secara maserasi tidak terlepas dari kelebihan dan kekurangan yang dimiliki. Berikut ini adalah kelebihan dan kekurangan metode maserasi menurut Marjoni (2016):

a. Kelebihan dari Metode Maserasi

- 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.

b. Kekurangan Metode Maserasi

- 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 ekstraksi.
- 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.

H. Antimikroba dan Antibiotik

Antimikroba merupakan senyawa yang dapat memberantas infeksi mikroba pada manusia, sedangkan antibiotik secara garis besar adalah metabolit dari mikroba tertentu yang dalam jumlah sangat encer akan menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Hampir semua antibiotik merupakan hasil sintesis mikroba. Beberapa antibiotik sudah dibuat secara semisintetik, antara lain senyawa-senyawa penisilin, sefalosporin, tetrasiklin, amikasin, klindamisin, rifampisin, dan dihidrostreptomisin. Kloramfenikol telah dibuat secara sintesis kimia. Karena itu, produk-produk antimikroba-antibiotika sering dimasukkan dalam kelompok kemoterapi (Sunaryo, 2017).

1. Sifat antimikroba

Antimikroba mempunyai sifat :

- a. Bakteriostatik, yaitu menghambat atau menghentikan pertumbuhan bakteri sehingga bakteri yang bersangkutan menjadi stasioner dan tidak terjadi lagi multiplikasi atau perkembangbiakan. Antimikroba yang termasuk dalam

kelompok ini adalah sulfonamide, tetrasiklin, kloramfenikol, eritromisin, novobiosin, para-aminosalisilat, linkomisin, klindamisin, dan nitrofurantoin (dalam suasana dengan konsentrasi rendah) (Sunaryo, 2017).

- b. Bakterisida, yaitu membunuh bakteri. Antimikroba yang termasuk dalam kelompok ini adalah penisilin, sefalosporin, streptomisin, eritromisin, neomisin, kanamisin, gentamisin, novobiosin, polimiksin, kolistin, kotrimoksazol, isoniazid, vankomisin, basitrasin, dan nitrofurantoin (dalam suasana asam dengan konsentrasi tinggi) (Sunaryo, 2017).

Penemuan kemoterapi dan antibiotik merupakan langkah keberhasilan dalam upaya penanggulangan penyakit infeksi. Temuan penting yang telah merombak cara pengobatan penyakit infeksi adalah protosil pada tahun 1935, yang dapat menyembuhkan infeksi yang disebabkan oleh streptokokus. Protosil akan dimetabolisme di dalam tubuh menjadi p-amino-bbanzensulfonamida yang bekerja sebagai antibakteri. Temuan lain yang penting adalah antibiotik penisilin. Antibiotik ini ditemukan oleh Fleming pada tahun 1929. Pada tahun 1940, Florey, dkk. kemudian memproduksi penisilin untuk digunakan dalam pengobatan berbagai penyakit infeksi. Penemuan ini diikuti oleh penemuan streptomisin pada tahun 1944 dan penemuan-penemuan jenis antibiotik lain (Radji, 2011).

Antibiotik adalah suatu metabolit yang diperoleh atau dibentuk oleh berbagai jenis mikroorganisme, yang dalam konsentrasi rendah mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain. Antibiotik memegang peranan penting dalam mengontrol populasi mikroba di dalam tanah, air, limbah dan lingkungan. Dari berbagai jenis antibiotik yang telah ditemukan, hanya beberapa golongan antibiotik yang dapat digunakan dalam pengobatan (Radji, 2011).

2. Penggolongan antibiotik

Berdasarkan mekanisme kerjanya dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme, antibiotik digolongkan sebagai berikut :

a. Antibiotik yang dapat menghambat sintesis dinding sel mikroba

Contoh antibiotik golongan ini antara lain penisilin, sefalosporin, fosfomisin, vankomisin, sikloserin, dan basitrasin. Dinding sel bakteri sangat penting untuk mempertahankan struktur sel bakteri. Oleh karena itu, zat yang dapat merusak dinding sel akan melisiskan dinding sel sehingga dapat mempengaruhi bentuk dan struktur sel yang pada akhirnya dapat membunuh sel bakteri tersebut (Radji, 2011).

b. Antibiotik yang dapat mengganggu atau merusak membrane sel

Membran sel mempunyai peranan penting dalam mengatur transportasi nutrisi dan metabolit yang dapat keluar masuk sel. Membran sel juga berfungsi sebagai tempat berlangsungnya respirasi dan aktivitas biosintesis dalam sel. Beberapa jenis antibiotik dapat mengganggu membran sel sehingga dapat mempengaruhi kehidupan sel bakteri, antara lain polimiksin, nistatin, golongan makrolida, dan poliena (misalnya amfoterisin B) (Radji, 2011).

c. Antibiotik yang mengganggu biosintesis asam nukleat

Proses replikasi DNA di dalam sel merupakan siklus yang sangat penting bagi kehidupan sel. Beberapa jenis antibiotik dapat mengganggu metabolisme asam nukleat tersebut sehingga mempengaruhi seluruh fase pertumbuhan sel bakteri. Antibiotik yang termasuk dalam golongan ini antara lain asam nalidiksat dan golongan kuinolong. Antibiotik ini dapat menghambat enzim DNA-girase yang membuat lilitan pada DNA untai ganda (Radji, 2011).

d. Antibiotik yang menghambat sintesis protein.

Telah diketahui bahwa enteromisin, linkomisin, tetrasiklin, aminoglikosida, dan kloramfenikol 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 di sepanjang untai mRNA. Susunan ribosom tersebut dinamakan polisom. Contoh obat yang bekerja dengan menghambat sintesis protein adalah bahwa enteromisin, linkomisin, tetrasiklin, aminoglikosida, dan kloramfenikol (Jawetz, Melnick and Adelberg, 2010).

G. Pengukuran aktivitas antimikroba

Penentuan kerentanan suatu patogen bakteri terhadap obat antimikroba dapat dilakukan dengan salah satu di antara dua metode utama yaitu dilusi dan difusi. Penting untuk menggunakan metode standar yang mengontrol semua faktor yang memengaruhi aktivitas antimikroba. Di Amerika Serikat pemeriksaan dilakukan menurut metode *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)* (dahulu *National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)*). 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, 2010).

1. Metode dilusi

Substansi antimikroba dalam kadar bertingkat dicampurkan ke dalam medium bakteriologis solid atau cair. Biasanya digunakan substansi antimikro dengan pengenceran dua kali lipat (\log_2). Medium kemudian diinokulasi dengan bakteri penguji dan diinkubasi. Titik akhir yang diambil adalah jumlah substansi antimikroba yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan-atau-membunuh-bakteri penguji. Uji sensitivitas dilusi agar memakan banyak waktu dari penggunaan mereka dibatasi hanya pada kondisi khusus. Uji dilusi kaldu tidak praktis dan hanya digunakan jika dilusi dilakukan dalam tabung uji, tetapi tersedianya rangkaian dilusi kaldu yang sudah jadi untuk berbagai macam obat alam lempeng mikrodilusi telah sangat memperbaiki sekaligus menyederhanakan metode tersebut. Keuntungan uji dilusi *microboth* adalah mereka memungkinkan dilaporkannya hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah obat tertentu yang diperlukan untuk menghambat (atau membunuh) mikroorganisme yang diuji (Jawetz, Melnick and Adelberg, 2010).

2. 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 di permukaannya. Setelah inkubasi, diameter zona inhibisi jernih yang mengelilingi lempeng diukur sebagai nilai kekuatan inhibitorik obat terhadap organisme penguji tersebut. Metode tersebut dipengaruhi oleh banyak faktor fisik dan kimiawi di

samping interaksi sederhana antara obat dan organisme (yaitu sifat medium dan difusibilitas, ukuran molekular, dan kestabilan obat). Bagaimanapun juga, standarisasi kondisi tetap memungkinkan penentuan kerentanan organisme (Jawetz, Melnick and Adelberg, 2010).

Interpretasi hasil tes difusi harus didasarkan pada perbandingan antara metode difusi dan dilusi. Perbandingan seperti demikian telah menghasilkan nilai standar rujukan. Garis-garis regresi linear dapat memperlihatkan hubungan antara log konsentrasi inhibitorik minimum dalam tes dilusi dan diameter zona inhibisi dalam tes difusi. Penggunaan lempeng tunggal untuk tiap antibiotik disertai standarisasi kondisi tes 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 mililiter medium, darah, atau urin (Jawetz, Melnick and Adelberg, 2010).

F. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Antimikroba

Di antara banyak faktor yang mempengaruhi aktivitas in vitro antimikroba, hal-hal berikut menurut Jawetz, Melnick dan Adelberg (2010) harus dipertimbangkan karena mempengaruhi hasil pemeriksaan secara bermakna.

1. pH lingkungan

Beberapa obat lebih aktif pada pH asam (misalnya, nitrofurantoin); lain-lain, pada pH basa (misalnya, aminoglikosida, sulfonamide).

2. Komponen medium

Sodium polyanetholsulfonate (dalam medium kultur darah) dan deterjen anionic lainnya menghambat aminoglikosida. PABA dalam ekstrak jaringan mengantagonis sulfonamide. 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 *Streptococcus aureus*.

3. Kestabilan obat

Pada suhu inkubator, beberapa agen antimikroba kehilangan aktivitas mereka. Penisilin mengalami inaktivasi secara lambat, sedangkan aminoglikosida dan siprofloksasin cukup stabil untuk 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 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 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 organisme yang berada dalam fase istirahat. Organisme yang tidak aktif secara metabolik dan berhasil bertahan hidup pada pajanan lama suatu obat mungkin saja memiliki keturunan yang sepenuhnya sensitif terhadap obat yang sama.