# BAB II

# TINJAUAN PUSTAKA

## Jerawat

1. **Patogenisitas dan gejala penyakit**

Jerawat adalah salah satu penyakit kulit yang menyerang lebih dari 85% kalangan remaja di seluruh dunia. Jerawat atau acne dapat dibagi tiga kategori yaitu komedo, inflamasi dan *nodular cystic acne*. Jerawat timbul karena beberapa faktor, yaitu produksi sebum yang berlebihan, *hiperkeratinasi abnormal* pada folikel, *hiperkeratinosit*, kolonisasi bakteri *Propionibakterium acnes*, dan inflamasi. Jerawat terjadi apabila saluran ke permukaan kulit untuk mengeluarkan sebum yang diproduksi oleh kelenjar minyak rambut pada lapisan dermis tersumbat. Dalam keadaan normal, sel-sel folikel rambut dapat keluar. Akan tetapi jika terjadi jerawat, sel-sel folikel rambut bersama dengan sebum akan menggumpal dan menyumbat saluran folikel rambut pada lapisan epidermis kulit sehingga membentuk komedo yang menonjol dipermukaan kulit. Komedo ini akan berkembang dan menjadi inflamasi (*inflammatory acne*) apabila terinfeksi oleh bakteri, terutama bakteri *Propionibacterium acnes* (Radji, 2010)*.*

Bakteri ini menggunakan gliserol dalam sebum sebagai sumber nutrisi. *Propionibacterium acnes* membentuk asam lemak bebas dari sebum, yang menyebabkan sel-sel neutrofil menunjukkan respon untuk mengeluarkan enzim yang dapat merusak dinding folikel rambut. Keadaan ini dapat menyebabkan inflamasi sehingga timbul pustula dan papula pada kulit. Pada beberapa individu, jerawat, dapat berkembang menjadi *nodular cystic acne,* yang ditandai dengan terbentuknya nodula atau jaringan parut akibat peradangan. Lesi pada kulit ini disertai dengan adanya nanah pada jerawat dan akan menimbulkan luka yang permanen pada kulit ketika sembuh (Radji, 2010).

1. **Pengobatan**

Obat-obatan topikal tidak dapat mengurangi sebum yang diproduksi oleh kelenjar minyak rambut pada lapisan kulit karena produksi sebum berhubungan dengan faktor hormonal seseorang. Perubahan hormonal individu dapat mengurangi produksi sebum. Obat-obatan topikal untuk komedo antara lain sediaan asam salisilat, retinoid, tretinoin, tazaroten, dan adapalen. Jerawat yang disertai dengan peradangan dapat diobati dengan antibiotik yang dapat menghilangkan atau menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes,* antara lain eritromisin dan benzamisin. Beberapa sediaan topikal juga sering digunakan, yaitu salep yang mengandung benzoil peroksida atau tretinoin. Sediaan isotretinoin dapat digunakan untuk jerawat yang semakin parah. Akan tetapi sediaan ini harus digunakan secara hati-hati terutama untuk wanita hamil, walaupun hanya untuk beberapa hari, karena memiliki efek teratogenik (Radji, 2010).

## Bakteri Propionibacterium acnes

1. **Morfologi dan fisiologi**

*Propionibacterium acnes* merupakan bakteri anaerob yang ditemukan pada kulit. Bakteri ini tumbuh dengan lambat dan bersifat Gram-positif. Berikut ini klasifikasi dari bakteri *Propionibacterium acnes* (Jawetz, Melnick, dan Adelberg, 2012):

Kingdom : *Bacteria*

Phylum : *Actinobacteria*

Class : *Actinobacteria*

Order : *Actinomycetales*

Family : *Propionibacteriaceae*

Genus : *Propionibacterium*

Spesies : *Propionibacterium acnes*

*Propinibacterium acnes* tergolong kedalam kelompok bakteri berbentuk batang, atau benang gram positif yang tidak membentuk spora. Bakteri ini tergolong bakteri anaerob hingga *aerotolerant*. Pertumbuhan optimum pada suhu 30-37oC. Koloni bakteri pada media agar berwarna kuning muda samapi merah muda dan memiliki bentuk yang khas.

*Propionibacterium acnes* ikut serta dalam patogenesis jerawat dengan menghasilkan lipase, yang memecahkan asam lemak bebas dari lipid kulit. Asam lemak ini dapat menimbulkan radang jaringan dan ikut menyebabkan jerawat. *Propionibacterium acnes* kadang-kadang menyebabkan infeksi katup jantung prostetik dan pintas cairan serebrospinal (Jawetz, Melnick, dan Adelberg, 2012).

1. **Karakteristik dan sifat bakteri *propionibacterium acnes*.**

Bakteri *Propionibacterium acnes* memiliki karakteristikbentuk koloni kecil, berwarna putih, permukaan halus dan konsistensi yang padat pada media *Blood Agar Plate* (BAP). Pada pewarnaan gram terlihat Bakteri *Propionibacterium acnes* menunjukkan ciri-ciri yatu berbentuk batang tak beraturan dan terlihat pada pewarnaan gram menunjukkan bakteri berwarna ungu yang menandakan bakteri ini termasuk golongan gram positif. Sifat bakteri ditentukan melalui uji biokimia, uji biokimia bakteri digunakan untuk mengetahui sifat-sifat bakteri terhadap berbagai macam zat. Hasil uji biokimia dari bakteri *Propionibacterium acnes* menunjukkan bakteri ini positif pada uji TSIA, uji Indol, uji Simon sitrat, dan uji katalase (Lestari, Sari, dan Robiyanto, 2015).

Uji TSIA adalah media differensial yang digunakan untuk menentukan fermentasi karbohidrat. Selain itu, uji TSIA ini juga dapat mendeteksi adanya gas hasil dari metabolisme karbohidrat. Bakteri *Propionibacterium acnes* menunjukkan positif fermentasi karbohidrat yang ditandai dengan perubahan warna media menjadi kuning. Uji indol bertujuan untuk mengidentifikasi kemampuan bakteri menghasilkan indol dengan menggunakan enzim *tryptophanase*. Bakteri *Propionibacterium acnes* memiliki enzim *tryptophanase* menghidrolisis *tryptophan* menjadi indol, piruvat dan ammonia. Uji simon sitrat bertujuan mendeteksi kemampuan suatu organisme untuk memanfaatkan sitrat sebagai satu-satunya sumber carbon dan energi. Bakteri *Propionibacterium acnes* memanfaatkan sitrat sebagai sumber carbon, ditunjukkan dengan hasil positif pada uji simon sitrat. Uji katalase digunakan untuk mengetahui kemampuan mikroorganisme untuk menguraikan hidrogen peroksida dengan menghasilkan enzim katalase. Hasil positif apabila terdapat gelembung udara, bakteri *Propionibacterium acnes* menunjukkan hasil positif pada uji katalase (Lestari, Sari, dan Robiyanto, 2015).

## Daun Sirih

1. **Morfologi dan klasifikasi**

Tanaman sirih merupakan tanaman asli Indonesia yang tumbuh merambat atau bersandar pada batang pohon lain. Tanaman ini memiliki perawakan berupa semak berkayu di bagian pangkal, merambat atau memanjat, panjang tanaman dapat mencapai 15 m. Batang berbentuk silindris, berbuku-buku nyata, beralur, batang muda berwarna hijau, tua berwarna coklat muda. Daun tunggal, letak berseling, helaian daun berbentuk bulat telur sampai lonjong, pangkal daun berbentuk jantung atau membulat, panjang 5-18 cm, lebar daun 2,5- 10,75 cm. bunganya majemuk berbentuk bulir dan terdapat daun pelindung lebar 1 mm berbentuk bulat panjang. Buahnya berbentuk bulat, dan berwarna hijau keabu-abuan, tebal 1-1,5 cm, biji agak membulat, panjang 3,5–5 mm. Sirih dapat tumbuh pada berbagai jenis tanah. Pertumbuhan optimal tanaman sirih diperoleh pada ketinggian 10-300 mdpl. Curah hujan merupakan faktor yang menentukan untuk pertumbuhan sirih. Sirih tidak tahan terhadap genangan dan intensitas cahaya tinggi. Namun demikian beberapa jenis sirih mampu tumbuh sampai ketinggian lebih dari 1.000 mdpl (Widiyastuti, Haryanti, dan Subositi, 2013).

Menurut Putra (2015) taksonomi sirih hijau adalah sebagai berikut:

Kingdom : *Plantae*

Subkingdom : *Tracheobionta*

Super Divisi : *Spermatophyta*

Divisi : *Magnoliophyta*

Kelas : *Magnoliopsida*

Sub Kelas : *Magnoliidae*

Ordo : *Piperales*

Famili : *Piperaceae*

Genus : *Piper*

Species : *Piper bettle L.*



Gambar 1 Daun sirih (dokumentasi pribadi)

1. **Kandungan aktif daun sirih sebagai antibakteri**

Daun sirih mempunyai aroma yang khas karena mengandung minyak atsiri 1-4,2%, air, protein, lemak, karbohidrat, kalsium, fosfor, vitamin A, B, C, yodium, gula dan pati. Daun sirih juga mengandung komponen utama minyak astari terdiri dari *betlephenol* dan beberapa derivatnya diantaranya *euganol allypyrocatechine* 26,8- 42,5%, *cineol* 2,4-4,8%, *methyl euganol* 4,2-15,8%, kariofilen 3-9,8%, hidroksikavikol, kavikol 7,2-16,7%, kavibetol 2,7-6,2%, estragol, *ilypryrokatekol* 9,6%, karvakol 2,2-5,6%, alkaloid, flavonoid, triterpenoid atau steroid, saponin, terpen, fenilpropan, terpinen, diastase 0,8-1,8%, dan tannin 1-1,3% (Carolia dan Noventi, 2016).

Dari hasil penelitian Sujono *et al.* (2019) daun sirih mengadung minyak atsiri. Dengan analisa menggunakan GC-MS Minyak atsiri daun sirih dihasilkan 10 senyawa terbanyak dari 38 senyawa yaitu diantaranya 5 senyawa turunan fenol (senyawa kavikol (21,27 %), eugenol (13,30 %), eugenol asetat (8,34 %), 2-alifenol (7,01 %), dan terpineol (2,87 %) ) dan 5 senyawa seskuiterpen (*germacren-D* (9,08 %), kariofilen (8,37 %), *beta-chamigren* (4,62 %), alfa-kadinen (3,88 %), dan alfa-humulen (2,42 %)).

Dari hasil penelitian Pangesti, Cahyono, dan Kusumo (2017) ekstrak etanol daun sirih hijau megandung flavonoid, saponin, tanin, terpenoid, dan fenol. Menurut penelitian Hasballah, Murniana, dan Azhar (2008) ekstrak etanol daun sirih mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, fenol dan steroid. Ekstrak etil asetat dari daun sirih mengandung alkaloid dan ekstrak butanolnya mengandung alkaloid dan steroid. Senyawa yang aktif secara biologi dalam sirih, kadarnya sangat tergantung pada varietas, musim, dan cuaca di daerah tumbuhnya (Sripradha, 2014)

Efek antibiotik daun sirih hijau diperoleh dari kandungan minyak atsiri sebesar 4,2% yang komponen utamanya terdiri dari *bethelphenol* dan turunannya. penol dan senyawa turunannya dapat mendenaturasi protein sel bakteri (Pangaribuan. 2017). Senyawa fenil propanoid bersifat antimikroba dan anti jamur yang kuat dan dapat menghambat pertumbuhan beberapa jenis bakteri antara lain, *Salmonella sp, Klebsiella, Pasteurella*, dan dapat mematikan *Candida albicans.* Minyak atsiri dari daun sirih umumnya aktif terhadap *Escherichia coli, Pseudomonas auruginosa, Streptococcos epidermidis, Staphylococcus aureus* dan *pirogen Streptococcus* (Rivai, Nanda, dan Fadhilah, 2014)

Senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada daun sirih dapat bekerja sebagai antibakeri dengan mekanisme kerja sebagai berikut:

1. Mekanisme kerja antibakteri flavonoid

Mekanisme kerja flavonoid sebagai antimikroba dapat dibagi menjadi 3 yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membrane sel dan menghambat metabolisme energi. Mekanisme antibakteri flavonoid menghambat sintesis asam nukleat, cincin A dan B yang memegang peran penting dalam proses interkelasi atau ikatan hidrogen dengan menumpuk basa asam nukleat yang menghambat pembentukan DNA dan RNA. Flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri. Mekanisme kerja flavonoid menghambat fungsi membran sel adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Nuria, Faizatun, dan Sumantri, 2009). Penelitian lain menyatakan mekanisme flavonoid menghambat fungsi membran sel dengan cara mengganggu permebealitas membran sel dan menghambat ikatan enzim seperti ATPase dan phospholipase. Flavonoid dapat menghambat metabolisme energi dengan cara menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri. Flavonoid menghambat pada sitokrom C reduktase sehingga pembentukan metabolisme terhambat. Energi dibutuhkan bakteri untuk biosintesis makromolekul (Rijayanti, Luliana, dan Trianto, 2014)

1. Mekanisme kerja antibakteri fenol

Mekanisme antibakteri senyawa fenol dalam membunuh mikroorganisme yaitu dengan mendenaturasi protein sel. Ikatan hidrogen yang terbentuk antara fenol dan protein mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Ikatan hidrogen tersebut akan mempengaruhi permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma sebab keduanya tersusun atas protein. Permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma yang terganggu dapat menyebabkan ketidakseimbangan makromolekul dan ion dalam sel sehingga sel menjadi lisis (Rijayanti, Luliana, dan Trianto, 2014).

1. Mekanisme kerja antibakteri alkaloid

Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Mekanisme lain antibakteri alkaloid yaitu komponen alkaloid diketahui sebagai interkelator DNA dan menghambat enzim topoisomerase sel bakteri (Rijayanti, Luliana, dan Trianto, 2014).

1. Mekanisme kerja antibakteri steroid

Mekanisme steroid sebagai antibakteri berhubungan dengan membran lipid dan sensitivitas terhadap komponen steroid yang menyebabkan kebocoran pada liposom Steroid dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang bersifat permeabel terhadap senyawa-senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membran menurun serta morfologi membran sel berubah yang menyebabkan sel rapuh dan lisis (Rijayanti, Luliana, dan Trianto, 2014).

1. **Manfaat daun sirih**

Daun sirih dikenal oleh masyarakat sebagai tanaman yang memiliki banyak manfaat, salah satunya dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Bagi masyarakat daun sirih biasanya banyak dimanfaatkan sebagi obat untuk asam urat, ambeien, batuk rejan, disentri, jantung, keputihan, masuk angin, memperlancar darah, nyeri otot dan persendian, panas, panas dalam, dan stroke. Selain itu sirih juga sering digunakan dalam mengobati mimisan karena daun sirih dapat membantu menghentikan perdarahan (Ningtias, Asyiah, dan Pujiastuti, 2014).

Hasil penelitian Sripradha (2014) daun sirih diketahui secara luas memiliki sifat-sifat antifungi, antioksidan, antiplatelet, antipiretik, antiinflamasi, antitrombotik, dan sebagai depresan. Eugenol yang ditemukan pada daun berguna sebagai antikejang, analgesik, anestetik, pereda kejang pada otot polos, dan penekan pengendali gerak. Tanin yang juga terdapat pada daun berguna sebagai *astringent* (mengurangi sekresi pada liang vagina) sehingga sirih dapat berfungsi untuk mengobati keputihan (Ningtias, Asyiah, dan Pujiastuti, 2014).

1. **Penelitian terkait daun sirih sebagai antibakteri**

Tumbuhan sirih sudah sangat populer di kalangan masyarakat Asia seperti Indonesia, Malaysia, India, Cina, dan Nepal. Sejak beberapa abad yang lalu sirih telah digunakan sebagai obat oleh bangsa Cina dan India (Pradhan *et al*.,2013). Berbagai penelitian mengenai manfaat daun sirih sebagai obat-obatan telah banyak dilakukan, terutama aktivitas daun sirih sebagai antibakteri alami.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Lakshmi dan Naidu (2013) telah dilakukan pengujian aktivitas antimikroba dari ekstrak daun sirih dengan menggunakan metode difusi sumuran dengan bakteri uji *Pseudomonas marginalis, Pseudomonas syringe, Bacillus subtilis,* dan *Erwinia carotovora.* Daun sirih diekstraksi dengan menggunakan pelarut metanol dan etanol dengan 3 variasi konsentrasi ektrak yaitu 100 mg/ml, 200 mg/ml dan 300 mg/ml. Zona hambat yang terbentuk dari konsentrasi ekstrak menunjukkan adanya aktivitas yang signifiikan terhadap pertumbuhan bakteri patogen karena pada konsentrasi terendah mampu memberikan zona hambat sebesar 15 mm pada bakteri *Bacillus subtilis*, zona hambat sebesar 28 mm pada bakteri *Erwinia carotovora,* zona hambat sebesar 16 mm pada bakteri *Pseudomonas marginalis,* dan zona hambat sebesar 20 mm pada bakteri *Pseudomonas syringe* dimana zona hambat tersebut tergolong kuat.

Penelitian yang dilakukan oleh Nagarajan *et al.*, (2014) yaitu pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirih terhadap bakteri *leptospira* secara *in vitro.* Pengujian dilakukan dengan menggunakan metode mikrodilusi agar. Hasil yang didapat yaitu ekstrak menunjukkan efek penghambatan pada leptospiral dengan konsentrasi hambat minimum berkisar dari 17,5 hingga 500 μg/ml, sedangkan konsentrasi bunuh minimum ditemukan serupa atau dua kali lebih besar dari konsentrasi hambat minimum. Sel *leptospires* ketika terkena ekstrak etanol sehingga menunjukkan gangguan membran sehingga ekstrak etanol daun sirihdapat menjadi antibakteri yang cukup baik.

Penelitian lain dilakukan terhadap bakteri penyebab karies gigi yaitu *Streptococcus mutans, Lactobacillus kaesal,* dan [*Actinomycosis*](https://hellosehat.com/hidup-sehat/fakta-unik/actinomycosis-adalah-infeksi-bakteri/) *viscosus,* pada penelitian daun sirih di ekstraksi dengan pelarut etanol, kloroform, etil asetat, dan butanol. Masing-masing ekstrak kemudian dibuat menjadi 6 konsentrasi yaitu 0,5%, 1%, 5%, 10%, 15%, dan 20%. Ekstrak kemudian diuji dengan metode dilusi agar. Hasil yang didapat yaitu ekstrak daun sirih menunjukan aktivitas antibakteri yang cukup baik, bahkan ekstrak etanolnya mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans, Lactobacillus kaesal,* dan [*Actinomycosis*](https://hellosehat.com/hidup-sehat/fakta-unik/actinomycosis-adalah-infeksi-bakteri/) *viscosus*  dengan diameter daya hambat yang masih terlihat dengan jelas sampai pada konsentrasi sebesar 0,5% (b/v). Hal ini menunjukkan ekstrak etanol daun sirih menunjukkan aktivitas antibakteri yang paling kuat diantara semua ekstrak yang diuji (Hasballah, Murniana dan Azhar, 2008).

Penelitian aktivitas antimikroba dari ekstrak etanol daun sirih dievaluasi terhadap bakteri patogen manusia (baik gram positif maupun gram negatif). Ekstrak mengkonfirmasi aktivitas antimikroba yang signifikan terhadap semua strain bakteri yang diuji. Konsentrasi hambat minimum untuk strain bakteri berada dalam kisaran 25 μg hingga 40 μg. Sesuai dengan hasil difusi cakram, konsentrasi hambat minimum dari *Proteus vulgaris* ditemukan setidaknya 25 μg sedangkan untuk *Staphylococcus aureus* sekitar 40 μg. Ekstrak etanol daun sirih menunjukkan aktivitas antimikroba yang kuat terhadap strain bakteri patogen yang diuji (Datta, Ghoshdastidar, dan Singh, 2011).

Penelitian yang dilakukan oleh Sarma *et al.*, (2018), ekstrak air suling, heksana, aseton, dan etanol dari dua varietas daun sirih: *Meetha paan* dan *Banarasi paan* digunakan. Uji antimikroba (kerentanan antibakteri dan antijamur) terhadap empat patogen yaitu, *Bacillus subtilis, Escherichia coli, Aspergilus niger* dan Saccharomyces *cerevisiae* ditentukan. Aktivitas antibakteri tertinggi dari ekstrak etanol (*Banarasi paan*) dapat dikaitkan dengan keberadaan pitosterol dalam varietas daun.

## Virgin Coconut Oil (VCO)

1. **Sifat-sifat dan karakteristik**

VCO merupakan produk olahan dari daging kelapa yang berupa cairan berwarna jernih, tidak berasa, dengan bau khas kelapa. Pembuatan VCO ini tidak membutuhkan biaya yang mahal, karena bahan baku mudah didapat dengan harga yang murah dan pengolahan yang sederhana. Minyak kelapa murni merupakan hasil olahan kelapa yang bebas dari *transfatty acid* (TFA) atau asam lemak-trans. Asam lemak trans ini dapat terjadi akibat proses hidrogenasi. Agar tidak mengalami proses hidrogenasi, maka ekstraksi minyak kelapa ini dilakukan dengan proses dingin. Misalnya, secara fermentasi, pancingan, pemanasan terkendali, pengeringan parutan kelapa secara cepat dan lain-lain (Aziz, Olga, dan Puspita Sari, 2017).

Minyak kelapa murni memiliki sifat kimia-fisika antara lain organoleptis (tidak berwarna dan berbentuk kristal seperti jarum) dan bau (ada sedikit berbau asam ditambah bau caramel). Kelarutan dari VCO yaitu tidak larut dalam air, tetapi larut dalam alcohol (1:1). pH VCO tidak terukur, karena tidak larut dalam air. Namun karena termasuk dalam senyawa asam maka dipastikan memiliki pH di bawah 7. Berat jenis 0,883 pada suhu 200C. Persentase penguapan yaitu VCO tidak menguap pada suhu 210C (0%). Titik cair 20-250C, titik didih : 2250C, dan kerapatan udara (Udara = 1): 6,91. Tekanan uap (mmHg) yaitu 1 pada suhu 1210C (Darmoyuwono, 2006).

1. **Kandungan aktif**

Kandungan utama VCO adalah asam lemak jenuh sekitar 90% dan asam lemak tak jenuh sekitar 10%. Komponen kimia asam lemak yang terkandung dalam VCO adalah asam lemak jenuh rantai sedang dan pendek, asam lemak jenuh rantai sedang dan pendek mudah dicerna dan diserap tubuh. Adapun senyawa asam lemak jenuhnya adalah asam laurat (41-52 %), asam lemak miristat (13-19%), asam lemak palmitat (7,5-10,5%), asam lemak kaprilat (5-10 %), asam lemak kaprat (4-5,8%), asam lemak stearat (1-3%). Sementara asam lemak tak jenuh terdiri dari asam oleat (omega 9) (5-8%), asam linoleat (omega 6) (1,5-2,5%), dan asam palmitoleat (1,3%). Sedangkan komposisi kimia minyak kelapa murni diantaranya ± 66% minyak, protein 6-7% dari berat keringnya, air 48%, serat kasar 5%, kadar abu ±2%. Selain asam lemak, beberapa komponen kimia lain yang telah diketahui terkandung dalam VCO adalah sterol, vitamin E dan fraksi polifenol (asam fenolat) (Pulung, Yogaswara, dan Sianipar, 2016).

Komponen kimia tersebut telah dilaporkan mempunyai aktifitas antioksidan pada berbagai bahan tanaman, produk makanan dan pada sistem biologis (Pulung, Yogaswara, dan Sianipar, 2016). Di samping itu VCO pun efektif dan aman digunakan sebagai *moisturizer* pada kulit sehingga dapat meningkatkan hidratasi kulit dan ketersediaan VCO yang melimpah di Indonesia membuatnya berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan pembawa sediaan obat (Lucida, Salman, and Hervian, 2008).

1. **Manfaat VCO**

Pemanfaatan VCO dalam pengolahan berbagai produk dapat digolongkan dalam tiga kelompok, yaitu produk pangan, farmasi dan kosmetik. Pembuatan produk pangan dari VCO bertujuan untuk mensubstitusi penggunaan minyak dari bahan dasar lain sehingga diharapkan produk pangan yang dihasilkan masih memiliki sifat fungsional yang berperan dalam meningkatkan kesehatan. Selain itu, karena mengkonsumsi VCO biasanya konsumen merasa tidak enak, maka dengan menggunakan VCO dalam pembuatan pangan diharapkan sifat fungsionalnya dapat dinikmati semua lapisan konsumen (Barlina dan Torar, 2018).

Di bidang kosmetika, VCO digunakan untuk perawatan tubuh. Teknologi pengolahan VCO telah menghasilkan VCO yang sangat baik untuk kesehatan tubuh dan kulit. Karakteristik VCO yang memiliki kandungan asam lemak jenuh dan aroma yang lebih baik dibandingkan minyak kelapa konvensional memberikan keunggulan tersendiri dalam pemanfaatan VCO untuk produk perawatan kulit dan kecantikan. Susunan molekul VCO yang kecil memudahkan penyerapannya, serta memberikan tekstur yang lembut dan halus pada kulit dan rambut. VCO mampu memulihkan kulit yang kering, kasar, dan keriput. Produk perawatan kulit yang ideal adalah yang tidak hanya melembutkan kulit, tetapi juga mampu melindungi kulit dari kerusakan, mempercepat perbaikan kulit, dan memberikan penampilan yang lebih muda dan sehat. Semua manfaat tersebut ada pada VCO karena minyak jenuh ini mampu menghilangkan sel-sel kulit mati dan memperkuat jaringan kulit sehingga kulit tidak kendur dan keriput. VCO tidak hanya memulihkan kulit secara cepat tetapi juga membantu dalam proses penyembuhan dan perbaikan kulit yang rusak (Syah, 2005).

VCO sebagai bahan kecantikan atau kesehatan kulit, bermanfaat untuk: mencegah infeksi topical bila dioleskan (pada kulit), mengurangi gejala psoriasis, eksim dan dermatitis, mendukung keseimbangan kimiawi kulit secara alami, melembutkan kulit dan mengencangkan kulit dan lapisan lemak di bawahnya, mencegah keriput, kulit kendor dan bercak-bercak penuaan, mengendalikan ketombe, mencegah kerusakan yang ditimbulkan radiasi sinar ultra violet pada kulit, mengatasi jerawat dengan cara diminum dan dioleskan, mengatasi biang keringat, gatal-gatal pada kulit dengan cara dioleskan, mengatasi kelelahan dengan pemijatan, sekaligus merawat kulit agar kulit tetap lentur dan halus serta untuk perawatan kulit dengan cara mandi spa (Barlina dan Torar, 2018).

 Selain dimanfaatkan dalam bidang kosmetika dan pangan, VCO juga dimanfaatkan sebagai antibakteri. Komponen asam lemak dalam VCO yang dilaporkan bermanfaat untuk kesehatan terutama adalah asam laurat. Asam laurat adalah sejenis asam lemak jenuh dengan rantai karbon C menengah (C-12) yang juga merupakan komponen terbesar dalam minyak kelapa murni. Asam laurat dalam tubuh manusia dirubah menjadi suatu bentuk senyawa monogliserida yakni monolaurin. Monolaurin merupakan senyawa yang bersifat antivirus, antibakteri, dan antijamur. Dalam mekanismenya monolaurin dapat merusak membran lipid (lapisan pembungkus virus) diantaranya virus HIV, influenza, dan beberapa virus lainnya. Beberapa jenis bakteri seperti *Staphylococcus aureus*, *Heliecobacter pylori* (bakteri penyebab sakit maag) dilaporkan dapat dimatikan oleh senyawa monolaurin (Pulung, Yogaswara, and Sianipar, 2016).

1. **Penelitian terkait VCO sebagai antibakteri**

Penelitian yang dilakukan oleh Widianingrum, Noviandi, dan Salasia, (2019) VCO dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri. Dengan menggunakan bakteri uji *Staphylococcus aureus* yang diisolasi dan diidentifikasi dari susu kambing etawa persilangan mastitis dari Riau, Indonesia dan diuji menggunakan metode dilusi agar. Uji in vitro mengkonfirmasi efek penghambatan VCO pada pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 200 μl. Studi ini menyimpulkan bahwa VCO dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan mekanisme destruktif dinding sel bakteri.

VCO juga telah terbukti memberikan efek antimikroba pada pertumbuhan bakteri *Clostridium difficile*. Data menunjukkan bahwa paparan asam laurat (C12) adalah yang paling menghambat pertumbuhan (P<0,001), sebagaimana ditentukan oleh pengurangan unit pembentuk koloni per mililiter. Pertumbuhan terhambat ketika sel-sel bakteri terpapar minyak kelapa lipolisis 0,15-1,2%. *Transmission electron microscopy* (TEM) menunjukkan gangguan pada membran sel dan sitoplasma sel yang terpapar 2 mg/mL asam laurat. Penelitian ini menunjukkan penghambatan pertumbuhan *Clostridium difficile* yang dimediasi oleh asam lemak rantai sedang yang berasal dari VCO (Shilling et al., 2013).

 Penelitian lain menguji daya hambat VCO terhadap pertumbuhan *Candida albicans* isolat vagina. Uji daya hambat VCO terhadap *Candida albicans* isolat vagina dilakukan dengan metode difusi cakram. VCO mampu menghambat pertumbuhan *Candida albicans* isolat vagina. VCO pada konsentrasi 90% memiliki daya hambat tertinggi, dengan nilai zona hambat minimum 24,0 mm, lebih besar dibandingkan konsentrasi 75% (20 mm), 50% (9,7 mm), 25% (1,9 mm), dan kontrol negatif (0,0 mm). Hal ini karena VCO mengandung berbagai zat aktif yang dapat bekerja sebagai anti fungi, seperti asam laurat, asam kaprilat, dan asam kaprat. Zat monolaurin dan monokaprin yang dihasilkan VCO dapat merusak membran sel jamur. Berdasarkan hasil tersebut VCO berpotensi digunakan sebagai obat alternatif untuk infeksi *Candida albicans* (Burhannuddin et al., 2017)

VCO telah teruji memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis* berasarkan penelitian yang dilakukan oleh Tumbel, Wowor, dan Siagian, (2017). Metode pengujian menggunakan metode modifikasi *Kirby-Bauer* dengan *paper disk*. Dari hasil uji daya hambat didapatkan VCO memiliki efek antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *Enterococcus faecalis* dengan zona hambat sebesar 10 mm.

Selain itu telah dilakukan penelitian terhadap VCO yang dihidrolisis oleh Putri (2016). Hidrolisis minyak kelapa murni menggunakan *enzim lipozyme* yang aktif spesifik pada rantai asam lemak posisi *sn-*1 dan *sn*-3. Aktivitas antibakteri ditentukan dengan metode difusi agar terhadap *Salmonella typhi* dan *Lactobacillus plantarum* dengan variasi konsentrasi mulai dari 100% untuk hasil hidrolisis VCO sampai didapatkan kadar hambat minimum (KHM). Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi hidrolisis VCO maka aktivitas antibakterinya akan semakin meningkat. KHM dari VCO yang dihidrolisis adalah 0,25% dengan diameter zona hambat 6,2 mm terhadap *Salmonella typhi*, dan 25% dengan diameter zona hambat 7,71 mm terhadap *Lactobacillus plantarum*.

Berdasarkan hasil penelitian Pulung, Yogaswara, dan Sianipar (2016) menunjukkan bahwa VCO fermentasi dan VCO dengan pemanasan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Diameter zona hambat yang terbentuk pada pemberian VCO termasuk dalam kategori sedang (0,5-1cm) dalam merespon hambatan pertumbuhan bakteri.

1. **VCO yang digunakan pada penelitian**

VCO yang digunakan pada penelitian ini menggunakan VCO produksi Kelompok Wanita Tani (KWT) BaliCocos. KWT BaliCocos merupakan kelompok wanita tani di Desa Tengkudak, Kabupaten Tabanan. VCO yang digunakan telah melalui proses analisis kandungan VCO sehingga telah memenuhi standar, hasil analisis VCO dibandingkan dengan persyaratan SNI 7381:2008 disajikan pada Tabel 1 (Karta dan Sarasmita, 2013).

VCO yang dihasilkan oleh produk kelompok wanita tani mengandung asam laurat yang cukup tinggi yaitu 47,301% dari kadar asam laurat tertinggi kelapa yaitu ±54%. Senyawa ini merupakan lemak jenuh dengan rantai karbon sedang (C12) yang biasa disebut *medium chaintrygliceride* (MCT). Senyawa ini adalah komponen yang dianggap sebagai lemak berserat ideal karena sifat anti mikroba yang dimilikinya. Produk VCO KWT BaliCocos juga mengandung asam kaprat (C10) sebesar 5,832%. Jenis asam berantai sedang ini juga bermanfaat untuk kesehatan, karena di dalamtubuh diubah menjadi *monocaprin*. *Monocaprin* bermanfaat untuk mengatasi penyakit-penyakit seksual, seperti virus HSV-2 dan HIV-1, dan bakteri *Neisseria gonorrhoeae* (Karta dan Sarasmita, 2013).

Tabel 1

Tabel Hasil Analisis VCO

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **No** | **Kriteria uji** | **Satuan** | **Persyaratan SNI 7381** | **Hasil uji VCO** |
| **1** | **2** | **3** | **4** | **5** |
| 1 | Keadaan: |  |  |
| 1.1 | Bau | - | Khas kelapa segar,tidak tengik | Khas kelapa segar, tidak tengik |
| 1.2 | Rasa | - | Normal, khas minyak kelapa | Normal khas minyak |
| 1.3 | Warna | - | Tidak berwarna hingga kuning pucat | Tidak berwarna |
| 2 | Air dan senyawa yang menguap | % | maks. 0,2 | 0,153 |
| 3 | Bilangan iod | g iod/100 g | 4,1 – 11,0 | 4,526 |
| 4 | Asam lemak bebas (asam laurat) | % | maks. 0,2 | 0,145 |
| 5 | Bilangan peroksida | mg ek/kg | Maks. 2.0 | 0,986 |
| 6 | Asam lemak: |  |  |
| 6.1 | Asam kaproat (C6 : 0) | % | ND-0,7 | 0,287 |
| 6.2 | Asam kaprilat (C8 : 0) | % | 4,6 – 10,0 | 6,115 |
| 6.3 | Asam kaprat (C10 : 0) | % | 5,0 – 8,0 | 5,832 |
| 6.4 | Asam laurat (C12 : 0) | % | 45,1 – 53,2 | 47,301 |
| 6.5 | Asam miristat (C14 : 0) | % | 16,8 – 21 | 18,505 |
| 6.6 | Asam palmitat (16 : 0) | % | 7,5 – 10,2 | 8,754 |
| 6.7 | Asam stearate (18) | % | 2,0 – 4,0 | 2,606 |
| 6.8 | Asam oleat (C18 : 1) | % | 5,0 – 10,0 | 10,476 |
| 6.9 | Asam linoleat (C18 : 2) | % | 1,0 – 2,5 | 0,060 |
| 6.10 | Asam linolenat (C18 : 3) | % | ND – 0,2 | 0,062 |
| 7 | Cemaran mikroba:Angka lempeng total | Koloni/ml | Maks 10 | - |
| **CATATAN:** ND = *No detection* (tidak terdeteksi) |  |

Sumber: (Karta dan Sarasmita, 2013)

## Uji Aktivitas Antibakteri

1. **Tujuan**

Uji aktivitas antibakteri dilakukan untuk mengetahui efektifitas suatu senyawa antibakteri dalam menghambat pertumbuhan suatu bakteri. Efektifitas senyawa antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya konsentrasi zat antibakteri, jenis, jumlah, umur dan keadaan bakteri, sifat-sifat kimia dan fisik makanan termasuk kadar air, pH, jenis dan jumlah komponen di dalamnya, suhu, serta waktu kontak (Jawetz, Melnick, dan Adelberg, 2012).

1. **Metode**

Penentuan kepekaan bakteri patogen terhadap antimikrobia dapat dilakukan dengan salah satu dari dua metode pokok yakni dilusi atau difusi (Jawetz, Melnick, dan Adelberg, 2012).

1. Metode Dilusi

Metode ini menggunakan antimikrobia dengan kadar yang menurun secara bertahap baik dengan medium cair atau padat. Kemudian medium diinokulasi bakteri uji dan dieramkan. Tahap akhir metode ini, dilarutkan antimikrobia dengan kadar yang menghambat atau mematikan. Uji kepekaan cara dilusi cair dengan menggunakan tabungreaksi, tidak praktis dan jarang dipakai, namun kini ada cara yang lebih sederhana dan banyak dipakai, yakni menggunakan *microdilution plate*. Keuntungan uji mikrodilusi cair adalah bahwa uji ini memberi hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri (Jawetz, Melnick, dan Adelberg, 2012).

1. Metode Difusi

Metode yang paling sering digunakan adalah metode difusi agar. Cakram kertas saring berisi sejumlah tertentu obat ditempatkan pada medium padat yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji pada permukaannya. Setelah diinkubasi, diameter zona hambat sekitar cakram dipergunakan untuk mengukur kekuatan hambatan obat terhadap organisme uji. Metode ini dipengaruhi beberapa faktor fisik dan kimia, selain faktor antara obat dan organism (misalnya sifat medium dan kemampuan difusi, ukuran molecular dan stabilitas obat). Meskipun demikian, standardisasi faktor-faktor tersebut memungkinkan melakukan uji kepekaan dengan baik (Jawetz, Melnick, dan Adelberg, 2012).

Penggunaan cakram tunggal pada setiap antibiotik dengan standardisasi yang baik, bisa menentukan apakah bakteri peka atau resisten dengan cara membandingkan zona hambatan standar bagi obat yang sama. Daerah hambatan sekitar cakram yang berisi sejumlah tertentu antimikrobia tidak mencerminkan kepekaan pada obat dengan konsentrasi yang sama per millimeter medium, darah atau urin. Ada beberapa cara pada metode difusi ini, yaitu:

1. *Kirby- Bauer*

Cara Kirby Bauer (diambil dari nama ahli mikrobilogi W. Kirby dan A. W. Bauer di tahun 1966), atau disebut filter paper disk agar diffusion method, juga dikenal sebagai *National Committee For Clinical Laboratory Standars* (NCCLS). Prosedur difusi-kertas cakram-agar yang terstandardisasikan merupakan cara untuk menentukan sensitivitas antibiotika untuk bakteri. Sensitivitas suatu bakteri terhadap antibiotik ditentukan oleh diameter zona hambat yang terbentuk. Semakin besar diameternya maka semakin terhambat pertumbuhannya, sehingga diperlukan standar acuan untuk menentukan apakah bakteri itu resisten atau peka terhadap suatu antibiotik.

Cara Kirby-Bauer merupakan suatu metode uji sensitivitas bakteri yang dilakukan dengan membuat suspense bakteri pada medium *Brain Heart Infusion* (BHI) cair dari koloni pertumbuhan kuman 24 jam, selanjutnya disuspensikan dalam 0,5 ml BHI cair (diinkubasi 4-8 jam pada suhu 37°C). Hasil inkubasi bakteri diencerkan sampai sesuai dengan standar konsentrasi kuman. Suspensi bakteri diuji sensitivitas dengan meratakan suspensi bakteri tersebut pada permukaan medium agar. Piringan antibiotik diletakkan di atasmedium tersebut dan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 19-24 jam. Dibaca hasilnya sebagai:

1. Zona radikal

Suatu daerah di sekitar piringan yang sama sekali tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri. Potensi antibiotik diukur dengan mengukur diameter dari zona radikal.

1. Zona iradikal

Suatu daerah di sekitar piringan yang menunjukkan pertumbuhan bakteri dihambat oleh antibiotik tersebut, tapi tidak dimatikan. Disini akanterlihat adanya pertumbuhan yang kurang subur atau lebih jarang disbanding dengan daerah di luar pengaruh antibiotik tersebut (Jawetz, Melnick, dan Adelberg, 2012).

1. Cara sumuran

Suspensi bakteri diratakan pada medium agar, kemudian agar tersebut dibuat sumuran dengan garis tengah tertentu menurut kebutuhan. Larutan antibiotik yang digunakan diteteskan kedalam sumuran. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Dibaca hasilnya, seperti pada cara Kirby-Bauer (Jawetz, Melnick, dan Adelberg, 2012).

1. Cara *Pour Plate*

Setelah dibuat suspense kuman dengan larutan BHI sampai konsentrasi standar, lalu diambil satu dimasukkan kedalam 4 ml agar base 1,5% dengan suhu 50oC. Suspensi kuman tersebut dibuat homogen dan dituang pada medium agar MHA. Setelah beku, kemudian dipasang disk antibiotik (diinkubasi 15-20 jam pada suhu 37oC) dibaca dan disesuaikan dengan standar masing-masing antibiotik.

1. Cara Joan-Stokes

Yaitu dengan cara membandingkan radius zona hambatan yang terjadi antara bakteri kontrol yang sudah diketahui kepekaannya terhadap obat tersebut dengan isolate bakteri yang diuji. Pada cara ini, prosedur tes sensitivitas untuk bakteri control dan bakteri uji dilakukan bersama-sama dalam satu piring agar.

Interprestasi hasil metode difusi dibagi menjadi kategori daya hambat lemah, sedang, kuat, dan sangat kuat, berdasarkan pengukuran diameter zona hambat yang didapatkan seperti pada Tabel 2.

Tabel. 2

Tabel kategori diameter zona hambat

|  |  |
| --- | --- |
| **Diameter Zona Hambat** | **Kategori** |
| ≤ 5 mm | Lemah |
| 6-10 mm | Sedang |
| 11-20 mm | Kuat |
| ≥ 21 | Sangat kuat |

Sumber: Susanto, Sudrajat, dan Ruga (2012)

## Teknik Ekstraksi

Ekstraksi adalah penyaringan atau pengambilan zat-zat berkhasiat atau zat-zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan atau berbagai jenis biota laut. Ekstrak adalah suatu produk hasil pengambilan zat aktif melalui proses ekstraksi menggunakan pelarut, dimana pelarut yang digunankan 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 (Majekodunmi. 2015).

Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Sebelum memilih suatu metode, target ekstraksi perlu ditentukan terlebih dahulu. Ada beberapa target ekstraksi, diantaranya (Mukhriani, 2014):

* 1. Senyawa bioaktif yang tidak diketahui
	2. Senyawa yang diketahui ada pada suatu organisme
	3. Sekelompok senyawa dalam suatu organisme yang berhubungan secara struktural.

Dalam proses maserasi sampel dihancurkan dan dibuat menjadi serbuk. Tujuan dijadikan serbuk yaitu untuk memperluas permukaan, memperluas kontak dan meningkatkan daya interaksinya dengan pelarut. Semakin kecil ukuran bahan yang digunakan maka semakin luas bidang kontak antara bahan dengan pelarut sehingga pelarut lebih mudah menarik senyawa yang terkandung di dalam sel tersebut sehingga jumlah ekstrak yang diperoleh optimal (Mukhriani, 2014). Jenis-jenis metode ekstraksi yang dapat digunakan adalah sebagai berikut:

1. **Maserasi**

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industri. Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah yang tertutup rapat pada suhu kamar. Maserasi merupakan teknik ekstraksi yang dilakukan untuk sampel yang tidak tahan panas. Dalam proses ekstraksi suatu bahan tanaman, banyak faktor yang dapat mempengaruhi kandungan senyawa hasil ekstraksi diantaranya: jenis pelarut, konsentrasi pelarut, metode ekstraksi dan suhu yang digunakan untuk ekstraksi. Teknik ini mempunyai beberapa kelebihan antara lain alat yang dipakai sederhana, hanya dibutuhkan bejana perendaman tetapi menghasilkan produk yang baik, selain itu dengan teknik ini zat-zat yang tidak tahan panas tidak akan rusak. Proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam, karena selama perendaman terjadi peristiwa plasmolisis yang menyebabkan terjadi pemecahan dinding sel akibat perbedaan tekanan di dalam dan di luar sel, sehingga senyawa yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik. Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam dalam pelarut tersebut (Senja, *et al*., 2014).

Pemilihan pelarut pada proses maserasi didasarkan pada prinsip kelarutan yaitu suatu pelarut akan cenderung melarutkan senyawa yang mempunyai tingkat kepolaran yang sama. senyawa polar hanya larut dalam pelarut polar, begitu juga sebaliknya untuk senyawa-senyawa semipolar dan non polar. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Susmitha *et al.,* (2013) dilakukan uji fitokimia pada 5 jenis ekstrak daun intaran (*Azadirachta indica)* dengan pelarut aseton, etanol, metanol, eter, dan aquades. Dari hasil uji fitokimia, metabolit sekunder yang larut pada masing-masing jenis pelarut seperti pada Tabel 3. Berdasarkan hasil pengujian, pada eksrak dengan pelarut etanol dan metanol paling banyak senyawa metabolit sekunder yang didapakan hal ini didasarkan pada sifat kedua pelarut tersebut yang semi polar sehingga senyawa metabolit sekunder yang yang bersifat polar maupun non polar dapat larut.

Tabel. 3

Hasil uji fitokimia daun intaran dengan variasi jenis pelarut

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **No** | **Senyawa fitokimia** | **Jenis Pelarut** |
| **Aseton** | **Etanol** | **Metanol** | **Eter** | **Aquades** |
| 1 | Alkaloid | + | + | + | + | + |
| 2 | Steroid | + | + | + | - | - |
| 3 | Tanin | - | + | + | - | - |
| 4 | Saponin | + | + | + | - | - |
| 5 | Flavonoid | + | + | + | + | + |

Sumber: (Susmitha et al., 2013)

1. ***Ultrasound - Assisted Solvent Extraction***

Merupakan metode maserasi yang dimodifikasi dengan menggunakan bantuan *ultrasound* (sinyal dengan frekuensi tinggi, 20 kHz). Wadah yang berisi serbuk sampel ditempatkan dalam wadah *ultra-sonic* dan *ultrasound.* Hal ini dilakukan untuk memberikan tekanan mekanik pada sel hingga menghasilkan rongga pada sampel. Kerusakan sel dapat menyebabkan peningkatan kelarutan senyawa dalam pelarut dan meningkatkan hasil ekstraksi (Maran, et al., 2017).

1. **Perkolasi**

Pada metode perkolasi, serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya). Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah. Kelebihan dari metode ini adalah sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Selain itu, metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan memakan banyak waktu (Majekodunmi, 2015).

1. ***Soxhlet***

Metode ini dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel dalam sarung selulosa (dapat digunakan kertas saring) dalam klonsong yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam labu dan suhu penangas diatur di bawah suhu refluks. Keuntungan dari metode ini adalah proses ektraksi yang kontinyu, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Kerugiannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus-menerus berada pada titik didih (Azwanida. 2015).

1. **Refluks dan Destilasi Uap**

Pada metode reflux, sampel dimasukkan bersama pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap terkondensasi dan kembali ke dalam labu.

Destilasi uap memiliki proses yang sama dan biasanya digunakan untuk mengekstraksi minyak esensial (campuran berbagai senyawa menguap). Selama pemanasan, uap terkondensasi dan destilat (terpisah sebagai 2 bagian yang tidak saling bercampur) ditampung dalam wadah yang terhubung dengan kondensor. Kerugian dari kedua metode ini adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi (Mukhriani, 2014).