

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Daun Sirih Merah (*Piper crocatum L.*)

Daun sirih merah (*Piper crocatum L.*) dikenal sebagai satu dari berbagai anggota dalam famili Piperaceae. Tumbuhan ini dikenal daunnya yang berwarna merah keunguan dengan sedikit perak di sebelah atas serta berwarna hijau di sebelah bawah. Daun sirih merah memiliki panjang yang dapat mencapai 15 cm hingga 20 cm, dan bentuknya menyerupai hati dengan tepi yang sedikit bergelombang dan pucuk daun yang meruncing. Pada permukaan dari daun mengkilah dan tidak merata. Tumbuhan daun sirih merah biasa tumbuh menjalar pada pohon maupun pagar. Hal yang membedakannya dengan tumbuhan sirih lain ialah keluarnya lendir saat daun disobek dan memiliki aroma yang lebih harum.



Sumber : (Sutrisno, 2020)

**Gambar 1 Daun Sirih Merah (*Piper crocatum L.*)**

Klasifikasi ilmiah daun sirih merah (*Piper crocatum L.*) menurut Artha da Hendrayana, (2022) sebagai berikut:

Kingdom : *Plantae* (tumbuhan)  
Sub kingdom : *Tracheobionta* (tumbuhan berpembuluh)  
Super divisi : *Spermatophyta* (menghasilkan biji)  
Divisi : *Magnoliophyta* (tumbuhan berbunga)  
Kelas : *Magnoliopsida* (berkeping dua/dikotil)  
Sub Kelas : *Magnoliidae*  
Ordo : *Piperales*  
Famili : *Piperaceae*  
Genus : *Piper*  
Spesies : *Piper crocatum*.

Menurut Sakmawati, (2021), daun sirih merah mempunyai sejumlah senyawa bioaktif serta berfungsi dalam memberikan manfaat kesehatan seperti, tanin, alkaloid, minyak atsiri, dan flavonoid. Flavonoid bersifat antibakteri, antioksidan, antiinflamasi, antivirus, dan antifungi (Arsy, Salsabil, dan Chatri, 2023). Flavonoid memiliki kandungan dalam daun sirih merah yang dikenal sebagai antioksidan kuat, berperan melawan radikal bebas dan mampu menjaga struktur seluler tubuh dari faktor oksidatif. Di samping itu flavonoid yang terdapat didalamnya bersifat antiinflamasi yang dapat meredakan peradangan. Tanin yang terdapat di daun sirih merah memiliki astrigen yang dapat mengecilkan pori-pori dan mempercepat penyembuhan luka. Senyawa alkaloid dalam daun ini berperan sebagai antibakteri yang efektif yang mampu menekan atau menghambat perkembangan bakteri patogen. Minyak astiri,

memiliki bau yang khas pada daun sirih merah, juga bersifat antiseptik dan antijamur yang dapat bermanfaat untuk menjaga kebersihan dan kesehatan kulit.

Daun sirih merah (*Piper crocatum*) dikenal secara tradisional berperan dalam pengobatan untuk sejumlah penyakit, di antaranya diabetes melitus, batu ginjal, stroke, hepatitis, asam urat, kolesterol tinggi, prostatitis, hipertensi, infeksi parasit Plasmodium, peradangan mata, nyeri sendi, maag, dan keputihan. Selain itu, daun ini juga memiliki sifat antiseptik dan mampu memperbaiki tekstur kulit. Daun sirih merah sering dimanfaatkan untuk pengobatan tradisional untuk meredakan biang keringat (*mastocytosis*), yang disebabkan oleh penumpukan histamin pada permukaan kulit. Untuk pengobatan, rebusan daun sirih merah yang dikombinasikan dengan kunyit dan sambiloto dapat dijadikan kompres untuk meredakan inflamasi, sementara campurannya dengan lidah buaya efektif untuk mengobati *pruritus ani*. Daun ini juga berguna dalam pengobatan dermatitis, batuk, sinusitis, dan mimisan, meskipun penggunaannya untuk mimisan dilakukan secara eksternal, bukan melalui rebusan (Rahmi dan Atikah, 2023).

Penelitian terkini mengungkapkan bahwa daun sirih merah memiliki aktivitas signifikan sebagai agen antiinflamasi, antibakteri, dan antioksidan. Studi yang dilakukan oleh (Ronaldo, Putri and Narsa, 2024) pada tahun 2024 menemukan bahwa ekstrak daun ini memiliki kemampuan antiinflamasi sebesar 21%, efektivitas antibakteri pada bakteri Gram positif dengan diameter zona hambatan 5,7 mm, dan pada bakteri Gram negatif sebesar 8,74 mm. Selain itu, aktivitas antioksidannya tercatat mencapai 47,45 ppm. Penelitian lain oleh Kasudaha dan kolega pada tahun yang sama mengindikasikan ekstrak daun sirih merah dengan konsentrasi 80% dapat

mengurangi aktivitas pertumbuhan *Salmonella typhi*, menunjukkan adanya daerah hambat rata-rata sebesar 14,13 mm. Temuan ini menegaskan potensi daun sirih merah sebagai bahan alami dalam pengembangan terapi antimikroba dan antioksidan (Kasudaha, dkk., 2024).

## **B. Antibakteri**

Aktivitas antibakteri adalah mekanisme penting di mana senyawa antibakteri bekerja untuk menghambat atau membunuh bakteri penyebab penyakit. Proses ini dapat melibatkan gangguan sintesis dinding sel, penghambatan produksi protein, gangguan replikasi DNA, atau kerusakan membran sel. Contohnya, beta-laktam mencegah pembentukan dinding sel bakteri, sedangkan aminoglikosida mengganggu fungsi ribosom untuk menghambat sintesis protein. Senyawa antibakteri dapat bersifat bakteristatik, yang menghentikan pertumbuhan bakteri sementara, atau bakterisid, yang langsung membunuh bakteri. Pendekatan kombinasi keduanya sering digunakan untuk meningkatkan efektivitas terapi. Penelitian terbaru juga mengeksplorasi penggunaan kombinasi antibiotik dan molekul tambahan untuk menargetkan resistensi bakteri, seperti kombinasi aminoglikosida dengan adjuvan yang meningkatkan permeabilitas membran bakteri (Halawa, dkk., 2023).

## **C. Simplisia**

Simplisia ialah komponen alami yang telah dikeringkan dan dipakai dalam memproduksi obat tradisional tanpa mengalami proses pengolahan lebih lanjut. Simplisia ini bisa didapat melalui berbagai sisi tumbuhan, seperti daun, batang, dan akar. Proses pengeringan dilakukan dengan beberapa metode, antara lain penjemuran

di bawah sinar matahari, pengeringan dengan cara diangin-anginkan, atau menggunakan oven dengan suhu yang tidak melebihi 60°C°, kecuali jika suhu telah ditentukan. Proses pembuatan simplisia mencakup beberapa tahap seperti pengeringan, penghausan dan ekstraksi untuk menghasilkan produk yang siap digunakan (Kemeterian Kesehatan Republik Indonesia Direktorat Jendral Kefarmasian dan Alat Kesehatan, 2017).

Simplisia dikategorikan dalam tiga macam, yakni simplisia pelican (mineral), simplisia hewani, dan simplisia nabati (Niluwih et al., 2023). Simplisia nabati merupakan simplisia yang berasal dari seluruh sisi tumbuhan, sisi tertentu dari tumbuhan maupun zat yang dihasilkan oleh tumbuhan. Eksudat tumbuhan adalah zat maupun cairan yang dikeluarkan melalui sel tumbuhan secara alami ataupun melalui suatu cara, serta zat nabati lain diambil dari tumbuhan dengan cara khusus (Kemeterian Kesehatan Republik Indonesia Direktorat Jendral Kefarmasian dan Alat Kesehatan, 2017). Proses ini dapat berupa metode seperti pengepresan, pemanasan, atau penggunaan pelarut khusus untuk mengeluarkan cairan dari sel tumbuhan. Misalnya, seperti getah dari tanaman tertentu dapat diekstraksi dan digunakan sebagai bahan dasar pembuatan obat.

Berdasarkan Badan Pengawas Obat dan Makanan No. 29 Tahun 2023, dalam menentukan simplisia yang berkualitas baik, simplisia harus memenuhi beberapa persyaratan terkait cemaran mikroba. Angka Lempeng Total (ALT) tidak boleh lebih dari  $5 \times 10^7$  koloni/gram, sedangkan Angka Kapang Khamir (AKK) tidak boleh melebihi  $5 \times 10^5$  koloni/gram. *Escherichia coli* tidak boleh melebihi batas 10

CFU/gram (*Colony Forming Units*) atau unit pembentuk koloni, sementara Enterobacteriaceae tidak boleh melebihi  $10^3$  CFU/gram. Simplisia harus bebas dari *Clostridia*, *Salmonella*, dan *Shigella* yang harus negatif pergram.

#### **D. Ekstrak**

Menurut Farmakope Herbal Indonesia (2017) definisi ekstraksi adalah proses memisahkan satu atau beberapa kandungan dari suatu zat melalui penggunaan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi dimulai dengan memilih bahan sumber, yang bisa berupa daun, akar, bunga, atau bagian lain dari tanaman, serta memilih pelarut yang sesuai berdasarkan sifat kimia senyawa yang diinginkan. Ekstrak pekat dihasilkan melalui penguapan pelarut yang mengandung senyawa aktif, sehingga menghasilkan konsentrat yang lebih tinggi dari zat tersebut. Jenis ekstrak yang dihasilkan, apakah berbentuk kental atau kering akan ditentukan dengan seberapa banyak pelarut yang dihasilkan diuapkan selama proses ekstraksi (Dewi, 2019). Teknik ini sangat penting dalam berbagai disiplin ilmu seperti kimia, farmasi, biologi, dan industri makanan karena memungkinkan pemisahan senyawa bioaktif yang bermanfaat dari bahan mentah alami.

Terdapat sejumlah metode ekstraksi yang secara umum dipakai meliputi perkolasi, maserasi dan refluks. Beberapa metode tersebut melibatkan penggunaan pelarut organik jumlah besar serta memerlukan durasi waktu yang relatif lama dalam prosesnya (Hidayat dan Wulandari, 2021). Di bawah ini adalah penerapan beberapa metode ekstraksi.

##### **1. Maserasi**

Maserasi adalah teknik ekstraksi dari simplisia dengan merendamkannya pada pelarut tertentu selama waktu dan suhu yang telah ditentukan hingga senyawa aktif dapat larut sepenuhnya (Julianto, 2019). Proses diawali dengan difusi pelarut ke dalam sel melalui dinding sel, untuk mencapai kompartemen internal yang mengandung senyawa aktif. Pelarut yang sudah masuk melarutkan senyawa aktif dan menyebabkan peningkatan konsentrasi senyawa dalam sel, yang mengakibatkan ketidakseimbangan konsentrasi antara pelarut di luar dan di dalam sel. Ketidakseimbangan ini menyebabkan terjadinya tahapan penyebaran larutan antarabagian luar serta dalam sel. Senyawa aktif dengan konsentrasi yang tinggi dalam larutan bakal mengalami difusi keluar dari sel, sedangkan larutan dengan konsentrasi lebih rendah akan masuk ke dalam sel. Proses tersebut seterusnya terjadi sampai konsentrasi larutan yang berada di dalam serta luar sel mencapai titik keseimbangan (Dewi, 2019).

## 2. Perkolasi

Perkolasi yakni satu dari beberapa metode yang sering dipakai guna mengekstrak material aktif dari tumbuhan. Peralatan yang digunakan disebut perkolator yang mempunyai wujud seperti kerucut sempit dengan bukaan pada ujungnya. Proses dimulai ketika membasahi sampel tumbuhan menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian dibiarkan selama  $\pm 4$  jam di dalam wadah tertutup. Setelah itu, bagian atas percolator ditutup dan pelarut ditambahkan hingga seluruh sampel terendam. Campuran pelarut tersebut kemudian dibiarkan mengalami proses maserasi di dalam percolator tertutup selama 24 jam. Selanjutnya, saluran keluar pada percolator dibuka untuk memungkinkan cairan menetes secara perlahan. Jika diperlukan, pelarut

tambahan dapat ditambahkan hingga jumlah larutan perkolasi mencapai sekitar tiga perempat dari volume produk akhir yang diinginkan.

### 3. Soxhlet

Metode soxhlet digunakan ketika senyawa hanya dapat terlarut sebagian dalam pelarut tertentu, sementara zat pengotor tidak larut dalam pelarut tersebut. Jika pada senyawa yang mudah larut, pemisahan cukup dilakukan dengan penyaringan biasa. Keunggulan metode ini adalah proses ekstraksi yang berlangsung hanya dalam satu alat, pelarut yang menguap akan kembali terkondensasi, menetes secara terus-menerus, dan langsung membawa senyawa yang terlarut ke labu penampung. Namun, metode ini tidak cocok untuk senyawa yang mudah rusak oleh panas, karena pemanasan yang lama dapat merusak senyawa tersebut.

### **E. Fitokimia**

Fitokimia merupakan ilmu yang mendalami tentang struktur kimia, sifat dan bagaimana senyawa metabolit sekunder dalam tumbuhan berinteraksi dengan jaringan tanaman serta berkontribusi pada fungsi biologis tanaman. Metabolisme sekunder menghasilkan kurang lebih 200.000 senyawa khusus yang berfungsi untuk memberikan perlindungan dan membantu tumbuhan beradaptasi dengan perubahan lingkungan serta berfungsi sebagai hormon pada tumbuhan yang berperan dalam komunikasi antar tumbuhan (Julianto, 2019).

Skrining fitokimia adalah tahap awal dalam analisis senyawa bioaktif pada tumbuhan, yang bertujuan untuk mendeteksi keberadaan golongan senyawa tertentu. Metode ini umumnya bersifat sederhana, cepat, dan efisien, karena hanya memerlukan sedikit peralatan, memiliki selektivitas terhadap senyawa spesifik, serta mampu

memberikan indikasi awal tentang komponen fitokimia yang terkandung dalam tanaman.

Menurut Julianto (2019), senyawa-senyawa kimia yang dihasilkan melalui proses metabolit sekunder dalam tumbuhan antara lain:

a. Alkaloid

Alkaloid yaitu jenis senyawa metabolit yang mempunyai struktur molekul beragam dan kompleks merupakan sekelompok senyawa kimia alami yang di dalamnya terkandung satu ataupun banyak atom nitrogen yang dapat ditemukan pada berbagai tumbuhan. Senyawa ini memiliki aktivitas antimikroba yang signifikan, yang dapat menjadikannya alternatif yang menjanjikan untuk antibiotik konvensional, terutama ditengah meningkatnya resistensi antimikroba. Alkaloid dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur melalui mekanisme seperti dinding sel yang berinteraksi secara langsung dengan DNA mikroorganisme, sehingga mengganggu replikasi dan proses pertumbuhan mereka. Beberapa contoh alkaloid yang telah terbukti menunjukkan bahwa senyawa ini mampu memperlambat atau menghentikan infeksi mikroba seperti, morfin, kafein, nikotin, dan atropine (Othman, Sleiman dan Abdel-masih, 2019).

Alkaloid dapat diklasifikasikan berdasarkan struktur kimianya maupun asal alaminya. Jika ditinjau dari struktur kimianya, alkaloid terbagi menjadi dua kelompok utama. Kelompok pertama mencakup alkaloid non-heterosiklik serta alkaloid atipikal, yang sering dinamakan juga protoalkaloid maupun amina biologis, contohnya *Erythromycin* (sebagai antibiotik), *Colchicine*, *N-Methyltyramine*, dan *Hordenine*. Di sisi lain, kelompok kedua terdiri dari alkaloid heterosiklik maupun alkaloid tipikal,

yang kemudian dibagi dalam 14 subkelompok berlandaskan struktur cincin kimianya (Othman, Sleiman dan Abdel-masih, 2019).

b. Flavonoid

Flavonoid yaitu jenis senyawa polifenol yang dapat dijumpai pada beberapa tumbuhan . Senyawa ini memiliki struktur yang terdiri dari dua cincin dengan tiga atom karbon yang menghubungkannya, serta gugus hidroksil fenolik yang memberikan sifat antioksidan (Khoirunnisa, dkk., 2019). Senyawa ini adalah turunan sekunder yang termasuk dalam kelompok senyawa fenol, dimana struktur benzene mereka memiliki gugus OH yang dapat digantikan. Flavonoid dikenal dengan kemampuannya untuk melawan radikan bebas, mengurangi penyakit degeneratif, serta memiliki sifat anti-inflamasi, antikarsinogenik dan antimutagenik (Widiasriani, dkk., 2024). Penelitian terbaru (Khoirunnisa, dkk., 2019) menunjukkan bahwa flavonoid juga dapat mengurangi gejala inflamasi, perlindungan terhadap kanker, dan peningkatan kesehatan jantung.

c. Tanin

Tanin merupakan kelompok senyawa fenolik polimerik yang terbagi dalam 2 kategori yakni tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Tanin terhidrolisis berbasis asam galat dan biasanya diesterifikasi di berbagai lokasi glukosa, sedangkan tanin terkondensasi berasal dari molekul flavonoid yang belum terikat dengan molekul lain yang disebut proantosianidin. Aktivitas biologis dari tanin selalu berkaitan dengan pola oksidasi dan polimerisasi (Othman, Sleiman dan Abdel-masih, 2019).

Tanin memiliki efek antimikroba melalui pelekatan protein dengan interaksi kovalen dan non-kovalen, serta dapat mengompleks dengan polisakarida. Tanin

terkondensasi diketahui bisa mengamankan dinding sel pada suatu bakteri, menghentikan pertumbuhan serta aktivitas enzim protease, serta memperlihatkan aktivitas antibakteri yang efektif pada beberapa bakteri Gram-positif dan Gram-negatif (Othman, Sleiman & Abdel-massih, 2019). Di samping itu, tanin diketahui berperan dalam aktivitas farmakologi seperti antioksidan, anti-diare, dan astringen yang berkontribusi pada potensi penggunaannya dalam pengobatan. Senyawa tanin dapat mengendapkan protein pada permukaan usus halus, yang mengakibatkan berkurangnya penyerapan makanan (Sunani dan Hendriani, 2023).

#### d. Terpenoid

Terpena ialah senyawa hidrokarbon organik yang diproduksi beberapa tumbuhan serta merupakan komponen utama dalam minyak atsiri. "Terpena" berasal dari kata *turpentine*. Senyawa tersebut juga berperan penting pada biosintesis, misalnya sebagai prekursor steroid yang berasal dari triterpena skualena (Julianto, 2019).

Terpen merupakan senyawa yang dibentuk melalui jalur metabolisme isoprenoid yang tersusun atas unit isoprena ( $C_5$ ). Berdasarkan jumlah unit isoprena yang menyusunnya, terpen diklasifikasikan menjadi beberapa jenis, yaitu: karotenoid ( $C_{40}$ ), triterpene ( $C_{30}$ ), sesquiterpenes ( $C_{15}$ ), diterpene ( $C_{20}$ ), sesquiterpenes ( $C_{15}$ ), dan monoterpen ( $C_{10}$ ). Senyawa terpen mempunyai berbagai kumpulan fungsi kimia, antara lain: alkohol (misalnya geraniol, linalool, citronellol, carveol, mentol, terpineol, bisabolol, serta borneol), keton (carvone dan kamper), aldehida (seperti citral dan citronellal), fenol (timol dan carvacrol), aldehida (seperti citral dan citronellal), hidrokarbon (pinene, cymene, phellandrene, dan limonene), serta eter (eukaliptol) (Guimarães *et al.*, 2019).

Kemampuan antibakteri terpena beragam tergantung pada tipe minyak atsiri dan bakteri yang diuji. Struktur terpena yang memiliki cincin aromatik dan gugus polar diketahui berperan dalam aktivitas antimikroba, antara lain dengan merusak membran plasma serta memengaruhi saluran ion ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ), yang meningkatkan permeabilitas selaput, menyebabkan keluarnya zat intraseluler penting, serta menghambat enzim tertentu (Guimarães *et al.*, 2019).

e. Saponin

Saponin merupakan senyawa metabolit sekunder yang biasanya dijumpai pada berbagai jenis tumbuhan obat. Senyawa tersebut terbentuk dari bagian gula dan aglikon (non-gula) yang terikat melalui ikatan glikosidik, serta berstruktur steroid atau triterpenoid. Aktivitas biologis saponin sangat beragam, termasuk sebagai antibakteri, antijamur, antiinflamasi, dan antivirus, berdasarkan struktur kimianya, saponin diketahui memiliki aktivitas antimikroba yang kuat, dengan menunjukkan efek bakteriostatik maupun bakterisidal secara signifikan pada bakteri Gram positif, contohnya *Bacillus cereus*, *Staphylococcus epidermidis*, serta *Staphylococcus aureus*. Mekanisme kerjanya menyerupai antibiotik sefalosporin, yaitu dengan menargetkan sistem selaput sel bakteri (Dong, *et al.*, 2020).

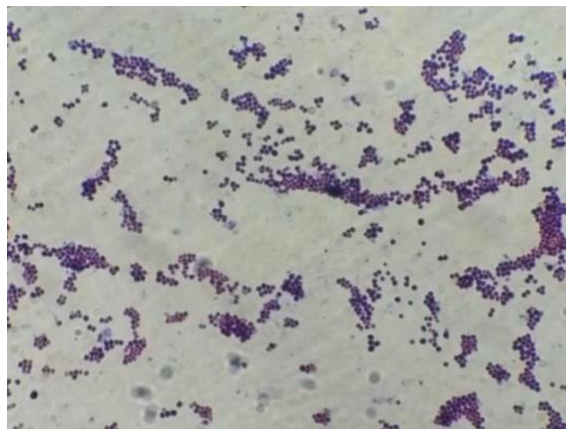
f. Steroid

Menurut Nasrudin, Wahyoni, dan Mustofa (2017) steroid adalah lipid terpenoid yang terdiri dari kerangka dasar karbon dengan empat cincin yang menyatu. Struktur senyawa ini sangat beragam, adanya kelompok fungsional teroksidasi yang terikat pada cincin dan tahapan oksidasi di cincin karbon merupakan penyebab utama terbentuknya senyawa steroid. Steroid memiliki peran penting dalam Kesehatan

tubuh, seperti mengatur keseimbangan elektrolit, mengontrol proses metabolisme, mendukung fungsi organ reproduksi, serta mempengaruhi perbedaan aktivitas biologis antara laki-laki dan perempuan.

#### **F. *Staphylococcus aureus***

*Staphylococcus aureus* yaitu jenis bakteri Gram-positif pada keluarga Staphylococceae dan berdiameter sekitar 1  $\mu\text{m}$  (Raineri, dkk., 2022). Bakteri ini berbentuk bulat yang tampak tersusun dalam kelompok menyerupai anggur secara tidak teratur, bakteri ini tidak menghasilkan spora, bersifat anaerob fakultatif, serta tidak mempunyai kesanggupan untuk bergerak. Idealnya suhu guna pertumbuhannya ialah  $37^{\circ}\text{C}$ , dan saat berada di suhu  $20^{\circ}\text{C}$  -  $25^{\circ}\text{C}$ , bakteri tersebut akan memproduksi pigmen yang berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, dengan koloni yang mempunyai bentuk bundar, permukaan menonjol, halus, dan berkilau (Rianti, Tania dan Listyawati, 2022).



Sumber : (Hayati, dkk., 2019)

**Gambar 2 *Staphylococcus aureus***

Sebagai bagian dari flora normal, *Staphylococcus aureus* banyak dijumpai pada kulit dan membran mukosa manusia. Namun, dalam kondisi tertentu, *Staphylococcus aureus* mempunyai sifat patogen dan menyebabkan hemolisis darah serta mengkoagulasi plasma. Selain itu, bakteri ini juga dapat memproduksi berbagai enzim serta toksin ekstraseluler. Enzim dan toksin ini berpotensi menyebabkan infeksi dan kerusakan pada jaringan yang dapat berdampak serius pada Kesehatan manusia (Maddiboyina, dkk., 2023).

Menurut Soedarto (2015), pengelompokan ilmiah bakteri *Staphylococcus aureus* diuraikan, yakni:

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

*Staphylococcus aureus* merupakan mikroba yang menyebar luas di dalam tubuh dan terkenal menyebabkan berbagai infeksi serius yang dapat mengancam nyawa. Selain itu, bakteri ini memiliki kemampuan adaptasi tinggi yang memungkinkan bakteri ini untuk mengembangkan resistensi terhadap berbagai jenis obat. Bakteri ini juga memiliki kemampuan untuk bertahan di tubuh manusia yang menyebabkan infeksi

kronis berulang. Kemampuan *Staphylococcus aureus* untuk menyembunyikan diri di area-area pelindung, baik ekstraseluler maupun intraseluler, merupakan faktor penting yang memicu terjadinya infeksi berulang. *Staphylococcus aureus* dapat bertahan hidup dalam sel fagositik sistem kekebalan tubuh dan memanfaatkannya sebagai alat untuk menyebar, berkoloni, dan menyerang berbagai bagian tubuh manusia (Raineri, dkk., 2022).

### **G. Aktivitas Daya Hambat Antibakteri**

Antibakteri merupakan senyawa yang berfungsi mencegah pertumbuhan bakteri dan dimanfaatkan secara terarah dalam pengobatan suatu penyakit. Berdasarkan sistem kerjanya, antibakteri dapat dikelompokkan dalam dua jenis yakni bakteriostatik serta bakterisidal. Antibakteri bakteriostatik berfungsi untuk menghentikan pertumbuhan bakteri tanpa membunuh bakteri secara langsung, sedangkan antibakteri bakterisidal bekerja dengan membunuh bakteri secara aktif. Beberapa senyawa antibakteri menunjukkan sifat bakteriostatik pada konsentrasi rendah, namun dapat bersifat bakterisidal ketika digunakan dalam konsentrasi yang lebih tinggi. Secara umum, cara kerja antibakteri bisa dikategorikan menjadi lima cara, yakni: mengganggu permeabilitas membran sel, menghambat sintesis dinding sel, mengganggu proses sintesis protein dan asam nukleat, merusak struktur asam nukleat, menghambat aktivitas enzim, juga merusak struktur asam nukleat. (Wilapangga dan Syaputra, 2018).

Aktivitas daya hambat antibakteri merupakan salah satu parameter dalam menilai efektivitas suatu senyawa atau ekstrak alami sebagai zat antimikroba, yang diukur oleh terwujudnya zona bening (clear zone) yang ada pada sekitaran kertas cakram yang

sudah mengandung senyawa atau ekstrak dan diletakkan pada media. Zona bening ini menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan antibakteri, dengan ukuran zona bening yang lebih besar mengindikasikan aktivitas antibakteri yang lebih kuat (Bian, Kandou and Rumondor, 2015).

Uji daya hambat bakteri merupakan metode utama dalam penelitian mikrobiologi untuk mengevaluasi kemampuan suatu bahan dalam menghambat pertumbuhan atau aktivitas bakteri. Penelitian terbaru menunjukkan bahwa berbagai ekstrak tumbuhan berpotensi sebagai zat antimikroba alami. Sebagai contoh, studi oleh (Magvirah, Marwati dan Ardhani, 2020) mengungkapkan bahwa ekstrak daun tahongai (*Kleinhovia hospita L.*) terbukti sanggup menghambat laju pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* di konsentrasi tertentu. Penelitian ini memakai rancangan acak lengkap dan lima pengulangan, menghasilkan zona hambat dengan diameter 13,048 mm, meskipun efektivitasnya masih lebih rendah dibandingkan dengan antibiotik kloramfenikol.

#### **H. Metode *Disc Diffusion***

Di antara metode manual yang paling umum digunakan ialah metode difusi kertas cakram (Kirby Bauer). Teknik ini melibatkan inokulasi agar dengan kultur bakteri, di mana senyawa uji diaplikasikan pada kertas cakram steril yang ditempatkan di bagian atas media MHA yang sebelumnya sudah diinokulasikan bakteri. Dilanjutkan dengan tahapan inkubasi, antibiotik akan berdifusi ke dalam agar, menciptakan zona bening atau zona hambat (*zone of inhibition, ZOI*) yang menunjukkan area tanpa adanya pertumbuhan bakteri, menandakan terjadinya penghambatan. Diameter ZOI kemudian

diukur dan dibandingkan dengan standar baku untuk menentukan kerentanan atau resistensi bakteri terhadap antibiotik tersebut. Tingginya efektivitas antibakteri dari suatu senyawa atau ekstrak ditunjukkan oleh semakin besarnya diameter zona hambat yang terbentuk (Chandana, dkk., 2024).

Menurut penelitian terbaru oleh Putri dkk., (2023) metode disk diffusion merupakan pendekatan yang sangat efektif untuk mengevaluasi aktivitas antimikroba terhadap berbagai macam mikroorganisme patogenik, seperti *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini menunjukkan bahwa metode disk diffusion menghasilkan data yang signifikan, terutama dalam mengukur kemampuan agen antimikroba untuk menghambat pertumbuhan mikroba tertentu melalui terbentuknya area hambat di sekeliling cakram kertas yang mengandung senyawa antimikroba. Konsentrasi yang lebih tinggi dari senyawa antimikroba cenderung menghasilkan efikasi antibakteri yang lebih kuat tercermin dari ukuran zona hambat yang lebih besar. Selain itu, waktu inkubasi yang optimal diperlukan untuk memastikan pertumbuhan bakteri yang cukup agar hasil pengamatan lebih akurat.

**Tabel 1**  
**Kategori Diameter Zona Hambat**

| <u>Diameter Zona Hambat</u> | <u>Kekuatan Daya Hambat</u> |
|-----------------------------|-----------------------------|
| $\geq 21$ mm                | Sangat <u>kuat</u>          |
| 11 – 20 mm                  | Kuat                        |
| 6 – 10 mm                   | Sedang                      |
| $\leq 5$ mm                 | <u>Lemah</u>                |

Sumber : (Susanti, Putra and Putri, 2023)

Hasil pengujian daya hambat antibakteri menggunakan metode difusi cakram dibaca melalui cara mengamati terwujudnya zona bening pada kertas cakram (*disk*). Kemudian, rata-rata diameter zona hambat dihitung dan kemampuan antibakterinya diklasifikasikan sesuai dengan Tabel 1.