

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Meniran (*Phyllanthus sp.*)

1. Definisi meniran

Tanaman meniran atau yang juga disebut *Phyllanthus sp.* adalah tanaman yang tumbuh liar di daerah tropis seperti Indonesia. Meniran ini sering dijumpai tumbuh liar di ladang, hutan, ditempat yang lembab, berpasir, di tepi sungai bahkan tumbuh di pekarangan rumah.

Meniran adalah tumbuhan herbal yang tumbuh tegak dengan daun hijau dan batang bulat bercabang yang tidak memiliki getah. Meniran memiliki jumlah daun majemuk genap dan tinggi batang kurang dari 50 cm. Daun majemuk kecil berbentuk oval dengan panjang sekitar 5 mm dan lebar 3 mm membentuk setiap tangkai daun. Bunga meniran berukuran kecil, berwarna hijau keputihan, dan memiliki tangkai bunga pendek berukuran 2 mm dengan putik dan benang sari yang menonjol. Tanaman kecil berbentuk bulat berwarna hijau muda yang menghasilkan buah meniran tumbuh di sepanjang tangkai daun (Dyana, 2019). Tanaman meniran bisa dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Tanaman Meniran

2. Asal usul meniran

Tanaman meniran ini diperkirakan berasal dari Asia Tropik yang tersebar di daratan Amerika, Asia, Afrika dan Australia. Di India tanaman meniran sudah digunakan sebagai obat tradisional sekitar 2.000 tahun silam yang disebut *Ayurveda*. Di India tanaman ini digunakan sebagai pengobatan kurap, hepatitis, sifilis, diabetes, asma, TBC, masalah persendian, kudis, tumor serta gangguan tenggorokan (Rahmat, 2020).

Tanaman meniran dengan nama latin *Phyllanthus sp.* merupakan tanaman obat yang berasal dari *Family Phyllanthaceae*. Kata “meniran” dalam Bahasa Indonesia memiliki arti “tumbuhan yang tumbuh di batu”. Meniran memiliki perbedaan dalam penyebutan dalam berbagai daerah. Di Makasar, meniran kerap disebut dengan *Camba-camba sibokoi*. Di Maluku disebut *Gosau ma dungi roriha*, di Jawa meniran dikenal sebagai meniran merah atau meniran hijau, di Sunda disebut memeniran. Di Banjar meniran dikenal dengan nama *Hambin buah*, pada Suku Dayak Ngaju tanaman ini disebut *Uru Handalai*, dan di Sumatera meniran ini dikenal dengan sebutan *Ba'me tano*, *sidukung anak*, *bakret sikolot*. Di berbagai Negara meniran juga memiliki sebutan yang berbeda-beda (Muliana, 2023).

Secara ekologis di wilayah Indonesia, kondisi iklim tropis yang hangat dan lembap seperti yang terdapat di Bali memungkinkan *Phyllanthus sp.* untuk berkembang dengan baik. Walaupun belum banyak studi ilmiah yang secara khusus memetakan distribusi meniran di Bali, karakter lingkungan tropis pulau ini berupa suhu tinggi, kelembapan cukup, dan keberagaman habitat terbuka seperti kebun dan ladang sangat mendukung pertumbuhan meniran secara alami. Dengan demikian, keberadaan meniran di Bali diperkirakan merupakan hasil adaptasi ekologis dari

populasi tanaman yang menyebar di wilayah Asia Tenggara dan tumbuh liar memenuhi berbagai jenis habitat tropis di pulau ini (Supriyadi & Iftitah, 2019).

Peran masyarakat lokal juga turut memperkuat kehadiran meniran di lingkungan Bali. Dalam praktik pengobatan tradisional dan sistem jamu yang terus diwariskan turun-temurun di berbagai wilayah Indonesia, tanaman meniran dibawa, dipertahankan, dan dikembangkan oleh masyarakat sebagai bagian dari kebiasaan pengobatan herbal sehari-hari. Hal ini juga berkontribusi pada persebaran dan keberlanjutan keberadaan meniran di Bali sebagai bagian dari ekosistem lokal. Dengan demikian, penyebaran meniran di Bali merupakan kombinasi dari adaptasi ekologis terhadap lingkungan tropis dan praktek tradisional penggunaan tanaman obat oleh masyarakat lokal, yang bersama-sama mendukung keberadaan tanaman ini sampai saat ini.

Sampai saat ini berbagai penelitian masih dilakukan terkait pemanfaatan tanaman meniran sebagai obat tradisional, dari segi dosis yang tepat maupun dihasilkan ekstrak tanaman meniran yang sesuai untuk dijadikan obat.

3. Klasifikasi meniran

Menurut Cronquist (1981), tanaman meniran memiliki klasifikasi :

Kingdom : *Plantae*
Divisio : *Magnoliophyta*
Classis : *Magnoliopsida*
Ordo : *Euphorbiales*
Familia : *Euphorbiaceae*
Genus : *Phyllanthus*

4. Kegunaan meniran

Manfaat tanaman meniran (*Phyllanthus sp.*) meliputi antivirus, antiinflamasi, menurunkan demam dan batuk, hipoglikemik (menurunkan kadar glukosa darah), dan imunostimulan (meningkatkan aktivitas sel imun). Ekstrak meniran dapat digunakan sebagai pengobatan pendukung untuk sejumlah gangguan infeksi karena sifat antibakteri dan antioksidannya (*imunomodulator*). *Imunomodulator* ini akan membantu tubuh memaksimalkan kinerja sistem imun. Sistem imun adalah mekanisme pertahanan utama tubuh, dan sebagian besar individu rentan terhadap penyakit sistem imun. Salah satu cara untuk menggambarkan meniran adalah sebagai penyeimbang sistem imun (Dyana, 2019).

5. Kandungan kimia meniran

Tanaman meniran ini kaya akan berbagai kandungan senyawa fitokimia, diantaranya alkaloid, fenol, flavonoid, terpenoid, steroid, cardiac glycosides, saponin, tanin, glikosida, serta senyawa sianogenik. Menurut temuan analitis, *Phyllanthus sp.* memiliki jumlah serat dan karbohidrat yang cukup banyak. “Komponen kimia penting yang telah berhasil diisolasi dari tanaman *Phyllanthus sp.* meliputi *phyllanthin*, *hypophyllanthin*, *niranthin*, *nirtetralin*, *phyltetralin*, *phyllangin*, *nirphilin*, *phyllnirurin*, dan *corilagin*.” Zat-zat ini berkontribusi pada aksi farmakologis tanaman meniran. Meniran juga memiliki kadar glikosida sianogenik yang moderat dan konsentrasi tanin dan saponin yang tinggi hingga substansial (Perdana, 2022a).

B. Bakteri *Staphylococcus aureus*

1. Definisi *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus berasal dari Bahasa Yunani yaitu kata *staphyle* dan *kokkos* yang berarti kelompok anggur yang berbentuk kokus atau bulat. Sedangkan *aureus* berasal dari Bahasa latin yaitu *gold* (emas) yang berarti bahwa bakteri yang berkembang biak dalam koloni besar berwarna keemasan. *Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram-positif yang tidak bergerak aktif. Tubuh manusia merupakan tempat tinggal bagi banyak koloni *Staphylococcus aureus*, terutama pada kulit dan selaput hidung. Berbagai penyakit, termasuk pneumonia, impetigo, selulitis, sindrom kulit melepuh, mastitis, korioamnionitis, dan sepsis neonatal, dapat disebabkan oleh infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* (Agape, 2019)

2. Klasifikasi *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus mempunyai klasifikasi sebagai berikut :

Kingdom : *Bacteria*

Filum : *Firmicutes*

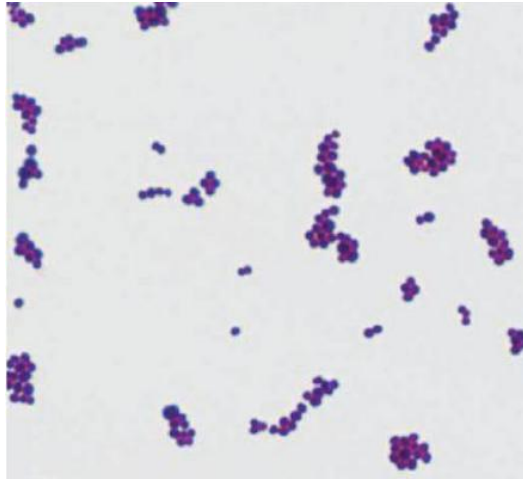
Class : *Bacili*

Ordo : *Bacillales*

Famili : *Staphylococcaceae*

Genus : *Staphylococcus*

Species: *Staphylococcus aureus*



Gambar 2. *Staphylococcus aureus* dengan pewarnaan gram

3. Tempat tumbuh bakteri *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri yang dapat kita temukan hampir diseluruh lingkungan, seperti di udara, debu, air, susu, makanan, peralatan makan, serta pada tubuh manusia dan hewan khususnya di kulit, rambut atau bulu bahkan saluran pernapasan. Sumber utama penyebaran infeksi adalah manusia dan hewan (Sihombing & Mantiri, 2022).

Perkembangan dan keberlangsungan hidup bakteri ini dipengaruhi oleh berbagai kondisi lingkungan, misalnya suhu, aktivitas air, pH, keberadaan oksigen, dan jenis bahan pangan. Setiap strain memiliki karakteristik pertumbuhan fisik yang berbeda. Bakteri ini dapat tumbuh pada suhu 12-44°C dengan suhu optimal sekitar 37°C. *Staphylococcus aureus* juga tahan terhadap proses pembekuan dan mampu bertahan dalam makanan yang disimpan pada suhu dibawah -20°C, meskipun kelangsungan hidupnya menurun atau berkurang pada suhu -10°C hingga 0°C. Bakteri ini mudah mati melalui proses pasteurisasi atau pemasakan. Pertumbuhan optimal bakteri terjadi pada pH sekitar 7,4. Sebagai bakteri anaerob fakultatif, *Staphylococcus aureus* dapat berkembang baik dalam kondisi aerob maupun

anaerob, namun laju pertumbuhannya cenderung lebih lambat ketika berada dalam lingkungan tanpa oksigen (Sihombing & Mantiri, 2022).

4. Morfologi dan identifikasi *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* gram-positif memiliki bentuk kokus dan diameter sekitar 1 µm. Di bawah mikroskop, bakteri ini menyerupai buah anggur, tidak bergerak aktif, dan tidak menghasilkan spora. Koloni bakteri memiliki diameter yang sangat besar yaitu 6-8 mm, dan transparan. Biasanya strain koloni berbentuk pigmen berwarna kuning gading atau jingga. Koloni *Staphylococcus aureus* akan berwarna abu-abu kekuningan dan berdiameter 3-4 mm dengan zona transparan disekitaran koloni yang bertanda terjadinya hemolisis, koloni seperti ini menandakan bahwa perbenihan terjadi menggunakan *Blood Agar Plate* (Agape, 2019).

Sebagai anaerob fakultatif, *Staphylococcus aureus* berkembang biak di udara yang mengandung hidrogen. Dengan kisaran suhu pertumbuhan 15°C hingga 40°C, bakteri ini dapat tumbuh paling baik pada suhu 35°C. Selama tiga puluh menit, bakteri ini dapat mentolerir suhu setinggi 50°C. Asam laktat dan katalase diproduksi oleh *Staphylococcus aureus*, meskipun gas tidak diproduksi.

Kemampuan untuk memfermentasi mannitol terdapat pada *Staphylococcus aureus*. Fermentasi mannitol oleh *Staphylococcus aureus* dalam *Mannitol Salt Agar* (MSA) menghasilkan zat asam yang menurunkan pH media dan mengubah fenol menjadi kuning. Faktor koagulase darah yang ditemukan dalam *Staphylococcus aureus* menyumbat fibrinogen dalam plasma untuk mencegah fagositosis (Agape, 2019).



Gambar 3. Koloni *Staphylococcus aureus* pada perbenihan *Blood Agar Plate* setelah inkubasi 24 jam.

5. Pencegahan dan pengobatan *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan kuman flora normal kulit dan selaput lendir manusia, tetapi bakteri ini juga dapat menimbulkan infeksi. Makanan berprotein tinggi, termasuk yang terbuat dari daging dan telur, seringkali mengandung *Staphylococcus aureus*. Baik manusia maupun hewan seringkali memiliki *Staphylococcus aureus* di kulit bagian luar, di lubang hidung, dan di tenggorokan mereka. Namun, bakteri ini dapat berkembang biak dengan cepat dan akhirnya menyebabkan penyakit jika masuk ke dalam makanan. Diare, kram dan rasa tidak nyaman di perut, mual, dan muntah adalah tanda-tanda infeksi (Sihombing & Mantiri, 2022).

Pengobatan untuk infeksi *Staphylococcus aureus* meliputi :

a. Antibiotik

Biasanya, dokter akan melakukan tes untuk menentukan jenis infeksi *Staphylococcus aureus* sebelum meresepkan antibiotik yang tepat. Antibiotik seperti cefazolin, nafcillin atau oxacillin, vancomycin, daptomycin, telavancin,

dan linezolid sering diresepkan. Infeksi *Staphylococcus aureus* biasanya disebut sebagai infeksi MRSA (*methicillin-resistant Staphylococcus aureus*).

b. Drainase luka

Jika mengalami infeksi pada bagian kulit, Dokter biasanya akan membuat sayatan pada luka untuk mengalirkan cairan yang terkumpul jika Anda mengalami infeksi kulit.

c. Pengangkatan perangkat

Jika infeksi yang muncul diakibatkan karena adanya perangkat atau prostetik yang diletakkan pada dalam tubuh, pengangkatan ini diperlukan. Tetapi, terdapat beberapa perangkat yang memerlukan proses pembedahan.

C. Antibiotik

Antibiotik adalah obat yang digunakan untuk mengobati penyakit yang disebabkan oleh bakteri. Antibiotik memiliki aksi bakterisida (membunuh kuman) dan bakteristatik (mencegah pertumbuhan bakteri). Antibiotik biasanya berfungsi dengan membatasi produksi protein dan asam nukleat, mencegah pembentukan dinding sel, mengganggu kerja membran sel, dan menghambat enzim bakteri serta proses metabolisme (Fadrian, 2023).

Masalah penggunaan antibiotik sudah menjadi masalah global yang membutuhkan solusi bersama. Pemakaian antibiotik yang kurang tepat dapat menyebabkan peningkatan resistensi antibiotik secara signifikan. Penggunaan antibiotik harus dilakukan sesuai aturan yang dianjurkan agar dapat menurunkan tingkat beban penyakit, terutama penyakit infeksi. Bakteri resisten yang menyebabkan infeksi lebih sulit diobati karena bakteri resisten ini menghasilkan protein atau enzim yang melemahkan bahkan menghancurkan antibiotik. Dimana,

proses bakteri dalam melemahkan efektivitas antibiotik ini biasa disebut dengan resisten.

Bakteri tertentu lebih mungkin mengembangkan resistensi ketika jenis antibiotik golongan tertentu digunakan. Misalnya, bakteri gram-negatif, defisiensi Clostridium, ESBL, dan infeksi *Enterococcus faecium* yang resisten terhadap vankomisin semuanya telah dikaitkan dengan penggunaan sefalosporin. Penggunaan kuinolon dikaitkan dengan infeksi MRS dan dengan meningkatnya resistensi kuinolon pada basil gram negatif seperti *pseudomonas aeruginosa* (Fadrian, 2023).

1. Antibiotik kloramfenikol

Antibiotik yang populer digunakan adalah *Kloramfenikol* (CAP). Infeksi pada hewan dan manusia diobati dan dicegah dengan kloramfenikol, atau yang biasanya disingkat dengan CAP (*chloramphenicol*). Kloramfenikol digunakan sebagai antibiotik karena aksi spektrum luasnya, yang memungkinkannya untuk menargetkan bakteri gram positif dan gram negatif. Antibiotik ini bekerja dengan menghambat aktivitas *enzim peptidyl transferase*, yang bertanggung jawab pada pembentukan ikatan peptide pada bakteri selama proses sintesis protein. Oleh karena itu, selama obat tersebut terikat pada ribosom, proses ini akan tetap tertekan (Asni & Sianita, 2020).

Kloramfenikol dimetabolisme di dalam tubuh menjadi bentuk yang aktif mudah diserap oleh dinding sel saluran pencernaan. Kloramfenikol tersebar ke seluruh cairan dan jaringan tubuh setelah dikonsumsi. 90% senyawa kloramfenikol diubah menjadi bentuk yang tidak aktif melalui dua tahap yaitu konjugasi dengan asam glukoronat di hati dan direduksi menjadi arilamin.

D. Ekstraksi

1. Definisi ekstraksi

Istilah "ekstraksi" merujuk pada metode untuk memperoleh metabolit sekunder dari tumbuhan atau hewan dengan memisahkan komponen aktifnya menggunakan pelarut sesuai dengan protokol yang telah ditentukan. Selama proses ekstraksi ini, pelarut berdifusi ke dalam bahan padat tumbuhan atau hewan sehingga dinding sel mengalami pembengkakan dan struktur selulosanya melonggar. Akibatnya, pori-pori dinding sel melebar, memudahkan masuknya pelarut ke dalam sel. Kemudian, komponen isi sel akan teruarai dan berbagai zat yang ada didalamnya akan terlarut ke dalam pelarut sesuai dengan kelarutannya. Bahan kimia ini berdifusi karena konsentrasinya berbeda di dalam dan di luar sel. Banyaknya dan jenis senyawa yang terekstraksi sangat dipengaruhi oleh jenis pelarut yang digunakan (Wahyuni dkk., 2024)

2. Metode ekstraksi

a. Ekstraksi padat-cair

Ekstraksi padat-cair adalah proses pemisahan zat terlarut dari padatan yang tidak larut. Pelarut dan padatan inert berinteraksi dalam proses ini, menghasilkan lapisan pelarut pada permukaan padatan. Pada tahap ini, pelarut berdifusi dari permukaan padatan inert ke dalam pori-porinya. Karena pelarut perlu menembus dinding sel padatan, laju difusinya relatif lambat. Campuran zat terlarut yang telah larut dalam pelarut kemudian akan bercampur dengan sisa pelarut setelah berdifusi keluar dari permukaan padatan inert.

b. Ekstraksi cara dingin

Untuk mencegah kerusakan pada bahan kimia target, pendekatan ekstraksi dingin ini digunakan tanpa pemanasan selama proses ekstraksi. Di antara teknik ekstraksi dingin adalah :

1) Maserasi

Maserasi adalah metode paling sederhana yang banyak digunakan karena dapat digunakan dalam skala kecil maupun skala industri. Maserasi dilakukan cara bubuk tanaman dan pelarut dimaserasi pada suhu kamar dalam wadah inert yang tertutup rapat. Hentikan proses ekstraksi jika konsentrasi zat dalam pelarut dan konsentrasi dalam sel tanaman sama.

2) Perkolasi

Metode ekstraksi perkolasi melibatkan pengaliran pelarut melalui simplisia bubuk yang telah dibasahi. Pelarut melarutkan bahan aktif dalam sel hingga mencapai kejenuhan saat bergerak melalui bubuk dari atas ke bawah. Untuk meningkatkan efisiensi ekstraksi, menurunkan konsumsi energi, dan menjaga stabilitas suhu selama operasi, prosedur ini dilakukan pada suhu ruang. Proses perkolasi melibatkan pertama-tama memasukkan kapas dan kertas saring ke dalam tabung berdasar bulat, kemudian mengambil bubuk simplisia dan pelarut pada suhu ruang dan merendamnya selama satu jam. Cairan ekstrak dapat melewati simplisia dari atas ke bawah ketika gelas beker ditempatkan di bawah tabung berdasar bulat. Pelarut akan melarutkan bahan aktif dalam sel simplisia hingga jenuh. Setelah mengumpulkan perkolat yang dihasilkan selama ekstraksi, ekstrak dikentalkan dengan menguapkannya dalam penangas air.

c. Ekstraksi cara panas

Teknik ekstraksi panas ini melibatkan pemanasan proses ekstraksi. Dibandingkan dengan ekstraksi dingin, pemanasan ini mempercepat proses ekstraksi. Berikut ini termasuk dalam metode ekstraksi panas :

1) Ekstraksi refluks

Pendekatan ini mudah ditingkatkan ke skala industri, terjangkau, dan sederhana. Karena panas menghilangkan bahan kimia dalam obat mentah, ekstraksi refluks menghasilkan hasil maksimum dibandingkan dengan maserasi dan ekstraksi Soxhlet. Obat mentah yang telah direduksi dimasukkan ke dalam labu alas, pelarut ditambahkan hingga terendam sepenuhnya, dan labu dipanaskan hingga 70°C selama empat jam. Untuk memisahkan filtrat dan ampas, saring ekstrak setelahnya. Evaporator putar digunakan untuk menguapkan ekstrak cair yang dihasilkan hingga diperoleh ekstrak kental.

Metode untuk menghitung hasil ekstrak :

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat simplisia kering}} \times 100\%$$

2) Soxhletasi

Cara kerja metode ini dengan meletakkan sampel pada kertas saring, sampel diletakkan diatas labu dan dibawah kondensor. Masukkan pelarut kedalam labu dan atur suhu penangas dibawah suhu reflux. Keuntungan dari metode Soxhlet ini proses ekstraksi kontinyu, tidak membutuhkan banyak pelarut, waktu yang digunakan tidak lama.

d. Ekstraksi cair-cair

Metode ekstraksi ini merupakan pemisahan secara kimia-fisika antara zat yang di ekstraksi akan dipisahkan dari fasa air menggunakan pelarut organik, yang tidak larut dalam air secara langsung baik secara kontinyu dan diskontinyu.

E. Jenis Pelarut

Pelarut adalah zat yang berfungsi melarutkan senyawa lain hingga membentuk campuran homogen. Dalam proses ekstraksi, pemilihan pelarut menjadi faktor krusial karena sangat memengaruhi efektivitas hasil ekstraksi. Penentuan pelarut harus mempertimbangkan jenis metabolit sekunder yang akan dianalisis, terutama berdasarkan tingkat kepolarannya. Prinsip yang digunakan adalah “*like dissolves like*”, yaitu senyawa polar cenderung larut dalam pelarut polar, sedangkan senyawa nonpolar larut dalam pelarut nonpolar. Selain itu, pelarut yang digunakan dalam ekstraksi sebaiknya memenuhi beberapa kriteria penting, antara lain memiliki selektivitas tinggi, tidak bersifat korosif maupun berbahaya, aman (tidak toksik), ekonomis, tidak merusak struktur kimia senyawa yang diekstrak, mudah diuapkan, serta memiliki perbedaan titik didih yang cukup dengan zat terlarut (Sayuti, 2017).

Berdasarkan tingkat kepolarannya, pelarut dalam ekstraksi dapat dibedakan menjadi dua kelompok utama, yaitu pelarut polar dan nonpolar.

1. Pelarut polar

a. Etanol

Etanol merupakan pelarut polar yang paling umum digunakan dalam ekstraksi karena efektivitasnya yang tinggi. Senyawa ini memiliki rumus kimia C_2H_5OH dan titik didih sekitar $78,29^{\circ}C$. Etanol mampu melarutkan berbagai senyawa seperti flavonoid, tanin, fenol, dan minyak atsiri. Selain itu, etanol banyak dipilih karena relatif aman, mudah diperoleh, ramah lingkungan, dan memiliki harga yang terjangkau. Konsentrasi etanol (biasanya dicampur air dalam persen tertentu) memengaruhi hasil ekstraksi. Etanol juga memiliki sifat antimikroba yang

dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur sehingga membantu memperpanjang umur simpan ekstrak.

Berdasarkan konsentrasinya, etanol umumnya dibedakan menjadi etanol absolut ($\pm 99-100\%$), etanol 96%, etanol 70%, dan etanol dengan konsentrasi lebih rendah. Etanol absolut memiliki kandungan air yang sangat sedikit sehingga lebih efektif untuk mengekstraksi senyawa nonpolar hingga semi-polar. Namun, karena minimnya kandungan air, kemampuannya dalam mengekstraksi senyawa polar menjadi terbatas.

Etanol 96% merupakan jenis yang paling sering digunakan dalam penelitian karena mampu mengekstraksi senyawa dalam rentang polaritas yang luas, baik polar maupun semi-polar. Sementara itu, etanol 70% (campuran etanol dan air) lebih efektif untuk mengekstraksi senyawa polar seperti flavonoid, tanin, dan glikosida, karena adanya air yang membantu meningkatkan penetrasi pelarut ke dalam jaringan bahan (Luhurningtyas & Surya, 2021)

b. Air

Air merupakan pelarut dengan tingkat kepolaran paling tinggi sehingga efektif untuk melarutkan berbagai senyawa polar. Keunggulannya meliputi sifatnya yang aman, tidak mudah terbakar, murah, dan ramah lingkungan. Namun, kelemahannya adalah dapat mendukung pertumbuhan mikroorganisme, sehingga ekstrak yang dihasilkan cenderung memiliki daya simpan yang lebih pendek

c. Methanol

Metanol juga sering digunakan dalam ekstraksi, terutama pada metode maserasi. Pelarut ini mampu mengekstraksi senyawa seperti flavonoid, saponin, tanin, dan terpenoid. Metanol memiliki kemampuan melarutkan berbagai senyawa

baik yang bersifat polar maupun sebagian nonpolar, sehingga sering dianggap sebagai pelarut yang cukup universal dalam ekstraksi bahan alam (Leksono et al., 2018).

2. Pelarut non-polar

a. Eter

Eter merupakan pelarut nonpolar yang tidak berwarna dan memiliki bau khas. Titik didihnya relatif rendah sehingga mudah menguap dan mempermudah proses pemisahan dari ekstrak. Eter efektif untuk melarutkan senyawa seperti terpenoid, steroid, dan beberapa flavonoid

b. Kloroform

Kloroform termasuk pelarut nonpolar yang banyak digunakan untuk mengekstraksi senyawa seperti lemak, minyak, flavonoid, dan terpenoid. Pelarut ini memiliki karakteristik tidak berwarna, berbau khas (manis), dan mudah menguap. Namun demikian, penggunaannya perlu hati-hati karena bersifat toksik dan berpotensi karsinogenik serta berdampak buruk bagi lingkungan

c. N-heksan

n-Heksana adalah pelarut nonpolar yang umum digunakan untuk mengekstraksi lipid, minyak, dan lemak dari bahan alami, termasuk sereal. Pelarut ini memiliki sifat stabil, selektif, dan mudah menguap. Namun, kelemahannya adalah mudah terbakar serta memiliki sifat toksik sehingga penggunaannya harus dikontrol dengan baik (Leksono et al., 2018).

F. Uji Aktivitas Antibakteri

1. Metode dilusi

Teknik kuantitatif untuk menentukan konsentrasi hambat minimum antibiotik terhadap mikroorganisme yang diuji adalah metode pengenceran dalam pengujian sensitivitas. Pengenceran serial antibiotik dibuat dalam agar dan kemudian dipindahkan ke cawan petri menggunakan teknik pengenceran ini. Setelah agar dilelehkan dan didinginkan hingga tidak lebih dari 60°C, sedikit air ditambahkan untuk membuat pengenceran. Salah satu manfaat menggunakan pendekatan pengenceran agar ini adalah memungkinkan untuk menghitung jumlah bakteri di setiap cawan yang berisi larutan antibiotik (Apriani dkk., 2023).

2. Metode difusi

a. Metode sumuran

Metode difusi sumuran ini adalah salah satu metode yang digunakan untuk menilai potensi antimikroba yang dimiliki oleh senyawa aktif dari tumbuhan ataupun ekstrak. Prinsip metode ini yaitu dengan pembuatan sumuran pada media yang sudah ditanami dengan bakteri menggunakan alat cork borer dengan diameter 6-8 mm. Lalu pada tiap sumuran yang telah dibuat diisi dengan antibiotik yang akan diuji sebanyak 20-100 ul. Selanjutnya plate agar tersebut diinkubasi selama 16-24 jam pada suhu 37°C. Setelah inkubasi dilakukan pengukuran zona jernih yang dihasilkan di sekitar sumuran. Metode ini dimanfaatkan untuk mengidentifikasi konsentrasi terendah dari senyawa antimikroba yang masih mampu menghambat pertumbuhan bakteri (Kusumastuti, 2025).

b. Metode cakram

Metode difusi cakram merupakan metode yang sudah diterapkan, akurat dan terstandarisasi, yang bisa disesuaikan dengan kebutuhan laboratorium diagnostik. Waktu inkubasi selama 16-18 jam untuk Sebagian besar spesies dan kombinasi obat telah direkomendasikan oleh *The European Committee on Antimicrobial Susceptibility* (EUCAST) ataupun *Clinical & Laboratory Standards Institute* (CLSI). Metode difusi cakram Kirby-Bauer yang biasa dilakukan menjadi alternatif yang layak untuk metode broth (Maharani, 2025).

Teknik difusi cakram bekerja dengan memasukkan cakram kertas yang mengandung antibiotik ke dalam cawan agar yang terinfeksi mikroorganisme tertentu. Setelah itu, cawan diinkubasi selama 18 hingga 24 jam. Setelah inkubasi, zona bersih akan muncul di sekitar cakram, yang menandakan tidak adanya pertumbuhan bakteri.

3. Interpretasi diameter zona hambat metode difusi cakram

Aktivitas antibakteri diukur menggunakan teknik difusi cakram Kirby-Bauer, yang mengamati zona jernih yang terbentuk di sekitar cakram yang mengandung obat antibakteri pada media agar. Zona jernih tersebut menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan bakteri akibat aktivitas senyawa yang diuji. Besarnya diameter zona hambat diukur menggunakan satuan milimeter (mm) dan digunakan sebagai dasar interpretasi aktivitas antibakteri (Apriani dkk., 2023).

Pada bakteri *Staphylococcus aureus*, interpretasi diameter zona hambat umumnya mengacu pada pedoman uji difusi cakram yang direkomendasikan oleh *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). Namun, dalam penelitian bahan alam yang menggunakan ekstrak tanaman, interpretasi aktivitas antibakteri

tidak didasarkan pada breakpoint antibiotik tertentu, melainkan dikategorikan berdasarkan besar kecilnya diameter zona hambat.

Aktivitas antibakteri ekstrak dapat dikategorikan sebagai berikut, menurut buku teks "Bakteriologi dan Mikrobiologi Kesehatan": diameter zona inhibisi lebih dari 20 mm dianggap sangat kuat, diameter 10–20 mm dianggap kuat, diameter 5–10 mm dianggap sedang, dan diameter kurang dari 5 mm dianggap lemah atau tidak aktif. Studi in vitro pada produk alami sering menggunakan kategorisasi ini untuk mempermudah analisis dan perbandingan temuan studi (Apriani dkk., 2023).

G. Pemilihan Variasi Konsentrasi Ekstrak

Pemilihan variasi konsentrasi ekstrak dalam uji aktivitas antibakteri bertujuan untuk mengetahui hubungan antara peningkatan konsentrasi senyawa aktif dengan kemampuan ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Secara teori, semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin besar jumlah senyawa bioaktif yang terkandung di dalamnya sehingga potensi interaksi antara senyawa antibakteri dengan sel bakteri juga semakin meningkat.

Penggunaan variasi konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 80% didasarkan pada prinsip *dose-response relationship*, yaitu hubungan antara dosis atau konsentrasi suatu senyawa dengan respon biologis yang dihasilkan. Prinsip ini menyatakan bahwa peningkatan dosis atau konsentrasi suatu zat akan diikuti oleh peningkatan efek biologis hingga mencapai titik tertentu (Atmodjo dkk., 2023).

Konsentrasi 20% digunakan untuk mengetahui kemampuan awal ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Konsentrasi menengah, yaitu 40% dan 60% digunakan untuk mengamati peningkatan daya hambat secara bertahap, sedangkan konsentrasi 80% digunakan untuk melihat potensi maksimum aktivitas

antibakteri ekstrak sebelum terjadi kondisi jenuh atau hambatan difusi senyawa aktif pada media agar.

Penggunaan rentang konsentrasi tersebut didukung penelitian terdahulu yang menggunakan variasi konsentrasi ekstrak tanaman dalam uji antibakteri metode difusi cakram. Penelitian yang dilakukan Trisia *et al.* (2018) menggunakan konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 80% pada uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun *Guazuma ulmifolia* terhadap *Staphylococcus aureus* dan menunjukkan adanya peningkatan diameter zona hambat seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak.

Metode difusi cakram juga dipengaruhi oleh kemampuan senyawa aktif untuk berdifusi ke dalam media agar. Konsentrasi yang terlalu rendah dapat menghasilkan zona hambat yang kecil atau bahkan tidak terbentuk, sedangkan konsentrasi yang terlalu tinggi dapat menyebabkan viskositas ekstrak meningkat sehingga menghambat difusi.