

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Pegagan

Centella asiatica L. atau pegagan merupakan tanaman tropis yang banyak dijumpai di wilayah Asia Selatan, termasuk India, Sri Lanka, Tiongkok, Indonesia, dan Malaysia, serta ditemukan pula di Afrika Selatan dan Madagaskar. Daunnya dapat dikonsumsi, berwarna hijau hingga kekuningan, tipis, bertangkai panjang, berbentuk bulat atau elips-oblong dengan tujuh tulang daun. Tanaman ini tumbuh secara merambat horizontal dengan tangkai berwarna hijau hingga kemerahan yang saling menopang dan menancap ke tanah (Hidayat, 2018).

Di Indonesia, pegagan termasuk tumbuhan liar yang mudah ditemukan, biasanya tumbuh di pekarangan, kebun, maupun sepanjang jalan. Sejak lama tanaman ini digunakan sebagai obat tradisional karena memiliki berbagai khasiat, antara lain sebagai antimikroba, antioksidan, antiinflamasi, dan antikanker (Yasurin *et al.*, 2015).

1. Klasifikasi pegagan

Kingdom : *Eukaryot*
Subkingdom : *Embryophyta*
Subdivisi : *Angiospermaae*
Class : *Dicotyledoneae*
Subclass : *Rosidae*
Superorder : *Aralianae*
Order : *Araliales (Umbelliflorae)*
Family : *Apiaceae* atau *Umbelliferae*

Subfamily : *Hydrocotyle*
Genus : *Centella*
Species : *Centella asiatica* L

2. Morfologi

Tanaman ini memiliki ciri berwarna hijau dengan bentuk ramping, tumbuh menjalar, serta menghasilkan stolon dan aroma yang samar. Tingginya dapat mencapai sekitar 15 cm dengan batang panjang yang merambat dari ketiak daun bagian bawah. Batang bercorak lurik, berwarna kemerahan, dan memiliki ruas yang cukup panjang. Daunnya muncul bergantian pada batang induk, tipis, berukuran 1,3–3,6 cm dengan tangkai 2–6 cm, serta lebar helai daun 1,5–5 cm. Bentuk daun bervariasi, mulai dari bulat menyerupai ginjal, membulat penuh, hingga seperti cangkir, dengan tangkai yang dapat mencapai panjang 7,5–15 cm. Stipula berukuran pendek dan menempel dekat tangkai daun. Bunga memiliki tangkai sekitar 6 mm, tersusun sessile dengan 1–5 kuntum berwarna putih atau kemerahan. Buahnya kecil, berukuran ± 8 mm, melengkung, bulat pada bagian atas, serta memiliki tujuh gerigi utama dan tambahan (Ambrose *et al.*, 2016).

Secara habitus, pegagan termasuk terna tahunan tanpa batang yang nyata, tetapi memiliki rimpang pendek dan stolon menjalar dengan panjang 10–80 cm. Daunnya tunggal, tersusun roset 2–10 helai, kadang sedikit berbulu. Tangkai daun dapat mencapai 50 mm, helai daun berbentuk ginjal, lebar dan bulat dengan diameter 1–7 cm, serta pinggir berlekuk bergerigi terutama di bagian pangkal. Perbungaan berupa payung tunggal atau berkelompok 3–5, muncul dari ketiak daun. Tangkai perbungaan sepanjang 5–50 mm, lebih pendek dari tangkai daun, dengan 3 bunga di tiap payung (satu di tengah tanpa tangkai, dua di samping

bertangkai pendek). Daun pelindung berbentuk bundar telur sepanjang 3–4 mm, sedangkan mahkota bunga berwarna merah lembayung dengan panjang 1–1,5 mm. Buah berbentuk pipih, berukuran $\pm 7 \times 3$ mm, berwarna kuning kecokelatan, berusuk jelas, berlekuk dua, dan berdinding agak tebal (Hidayat, 2018).

3. Kandungan metabolit sekunder

Tanaman pegagan diketahui mengandung berbagai senyawa bioaktif, antara lain *centella saponin*, *asiaticoside*, *madecassoside*, *sceffoleoside*, *pektin*, *castilliferol-1*, dan *castillisetin-2*. Selain itu, beberapa jenis asam lemak juga berhasil diisolasi, seperti gliserida dari oleat, linoleat, centoat, linolenat, lignoserat, palmitat, dan stearat. Pada daunnya terdapat senyawa triterpen, asam madasiatik, serta flavonoid berupa glikosida kuersetin dan kaempferol. Kandungan pektat dan rein ditemukan pada bagian daun dan akar, sedangkan asiaticosida dan oksiasiatikosida terbukti aktif dalam terapi lepra maupun tuberkulosis. Aktivitas antibakteri pegagan memberikan potensi pemanfaatannya terhadap bakteri patogen, khususnya dalam mengatasi penyakit diare dan disentri (Hidayat, 2018).

Komponen utama yang berperan sebagai bahan aktif pegagan adalah triterpen, terutama asam asiatik, asam *madecassic*, dan *asiaticoside*. Asam asiatik sendiri merupakan aglikon dari *asiaticoside* yang berperan penting dalam proses penyembuhan luka, bersifat antibakteri dan antijamur, memiliki aktivitas antioksidan untuk melawan radikal bebas, merangsang pembentukan kolagen pada jaringan dermis, serta bermanfaat sebagai anti-aging melalui perbaikan biomekanis kulit (Hidayat, 2018).

B. Simplisia

1. Penggolongan simplisia

Simplisia atau herbal merupakan bahan alami yang sudah dikeringkan, dimanfaatkan sebagai obat, dan belum melalui proses pengolahan. Berdasarkan asal bahan bakunya, simplisia dikelompokkan menjadi tiga jenis utama, yaitu :

a. Simplisia nabati

Simplisia nabati merupakan simplisia yang berasal dari tumbuhan, baik berupa tanaman utuh, bagian tertentu dari tumbuhan, maupun eksudatnya. Eksudat tumbuhan sendiri adalah isi sel yang keluar secara alami atau dikeluarkan dengan cara tertentu, serta dapat berupa zat nabati yang dipisahkan dari bagian tumbuhan tersebut.

b. Simplisia hewani

Simplisia hewani adalah simplisia yang berasal dari hewan, baik berupa hewan secara keseluruhan maupun produk bermanfaat yang dihasilkan olehnya. Contoh simplisia jenis ini antara lain madu dan minyak ikan.

c. Simplisia pelikan atau mineral

Simplisia mineral atau pelikan merupakan simplisia yang berasal dari bahan mineral atau pelikan, baik yang masih dalam bentuk alami maupun yang telah melalui proses sederhana. Contohnya adalah serbuk seng (Maslahah, 2024).

2. Faktor-faktor penentu kualitas simplisia

Kualitas simplisia dipengaruhi oleh dua faktor yaitu bahan baku simplisia dan proses pembuatannya.

a. Bahan Baku Simplisia

Berdasarkan asal bahan bakunya, simplisia dapat diperoleh dari tumbuhan

liar maupun tanaman hasil budidaya. Meskipun tumbuhan liar sering dimanfaatkan, kualitas simplisia yang dihasilkan cenderung kurang stabil dibandingkan dengan yang berasal dari tanaman budidaya.

b. Proses Pembuatan Simplisia

Seluruh tahapan, mulai dari pengumpulan bahan baku hingga pengujian mutu, harus dilakukan sesuai dengan SOP yang berlaku. Mutu simplisia sangat dipengaruhi oleh setiap proses yang dilalui; misalnya, kesalahan dalam pengaturan suhu pengeringan dapat merusak kandungan bahan aktif sehingga menurunkan efektivitas produk akhir.

3. Persyaratan baku dan standarisasi simplisia

Standarisasi simplisia merupakan persyaratan yang harus dipenuhi sebagai bahan baku obat herbal. Menurut (BPOM RI, 2014) persyaratan baku simplisia terdiri dari :

- a. Kadar air : tidak lebih dari 10%
- b. Angka lempeng total : tidak lebih dari 5×10^7 koloni/g
- c. Angka kapang dan khamir : tidak lebih dari 5×10^6 koloni/g
- d. Mikroba patogen : negatif
- e. Alfatoksin : tidak lebih dari 30 bagian per juta

Tahapan pemanenan dan persiapan simplisia berpengaruh terhadap mutu simplisia, terutama terkait kandungan senyawa kimia, potensi kontaminasi, serta stabilitas bahan. Berdasarkan Maslahah (2024), standarisasi simplisia mencakup:

- 1) Kebenaran jenis (identifikasi spesies tumbuhan) mencakup parameter makroskopis, yaitu deskripsi morfologi simplisia, serta parameter mikroskopis melalui pengamatan penampang melintang simplisia atau

fragmen serbuk simplisia. Selain itu, dilakukan pula uji identifikasi seperti reaksi warna dan pemeriksaan kemurnian simplisia.

- 2) Kemurnian (terbebas dari kontaminasi kimia maupun biologis) pada simplisia umumnya sulit diperoleh secara absolut, karena biasanya tetap terdapat kontaminan dalam jumlah kecil yang tidak membahayakan. Namun demikian, simplisia harus dipastikan bebas dari serangga, sisa atau kotoran hewan, serta tidak mengandung zat lain yang berpotensi berbahaya.

C. Ekstrak

Ekstrak merupakan sediaan kental yang diperoleh melalui proses penarikan senyawa aktif dari simplisia nabati maupun hewani dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Setelah itu, sebagian besar atau seluruh pelarut diuapkan hingga menyisakan massa atau serbuk yang kemudian diproses lebih lanjut agar memenuhi standar yang telah ditetapkan. Pada umumnya, pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode perkolasi, di mana hasil perkolat kemudian diuapkan menggunakan destilasi dengan tekanan rendah untuk meminimalkan paparan panas terhadap bahan (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2020). Faktor-faktor yang dapat memengaruhi kualitas ekstrak antara lain:

1. Faktor biologi

Kualitas ekstrak ditentukan oleh bahan asalnya, yaitu tumbuhan obat, terutama jika dilihat dari aspek biologis. Faktor biologis ini berlaku baik pada tanaman obat hasil budidaya maupun yang berasal dari tumbuhan liar, dengan mencakup beberapa aspek, yaitu :

- a. Identitas jenis (spesies) : jenis tumbuhan ditinjau dari keanekaragaman hayati dapat dipastikan hingga tingkat informasi genetik, yang berperan sebagai faktor internal dalam validasi spesies.
- b. Lokasi tumbuhan asal : faktor eksternal yang meliputi kondisi lingkungan tempat tumbuhan tumbuh, seperti tanah dan atmosfer. Lingkungan ini mencakup unsur energi (misalnya cuaca, suhu, cahaya) serta materi (air, senyawa organik, dan anorganik) yang memengaruhi pertumbuhan tanaman.
- c. Periode pemanenan hasil tumbuhan : faktor ini berkaitan dengan dimensi waktu dalam siklus kehidupan tanaman, khususnya proses metabolisme yang memengaruhi kandungan senyawa aktif. Hal ini menentukan kapan kadar senyawa mencapai titik optimal melalui biosintesis, serta waktu yang tepat untuk memanen sebelum senyawa tersebut mengalami konversi, biotransformasi, atau degradasi menjadi bentuk lain.
- d. Penyimpanan bahan tumbuhan : merupakan faktor eksternal yang dapat dikendalikan, karena berpengaruh terhadap stabilitas bahan serta potensi terjadinya kontaminasi, baik yang bersumber dari faktor biotik maupun abiotik. Selain itu, umur tanaman dan bagian yang digunakan juga turut memengaruhi kualitasnya (Setiawan, 2019).

2. Faktor kimia

Kualitas ekstrak ditentukan oleh bahan asalnya, yakni tumbuhan obat, terutama jika ditinjau dari kandungan kimianya. Faktor kimia, baik pada bahan yang berasal dari tumbuhan liar, mencakup beberapa aspek, yaitu:

- a. Faktor internal
 - 1) Jenis senyawa aktif dalam bahan

- 2) Komposisi kualitatif senyawa aktif
- 3) Komposisi kuantitatif senyawa aktif
- 4) Kadar total rata-rata senyawa aktif
- b. Faktor eksternal
 - 1) Metode ekstraksi
 - 2) Perbandingan ukuran alat ekstraksi
 - 3) Ukuran, kekerasan dan kekeringan bahan
 - 4) Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi
 - 5) Kandungan logam berat
 - 6) Kandungan peptisida

Kualitas ekstrak dinilai berdasarkan kandungan senyawa kimianya, sejalan dengan pandangan ilmu kedokteran modern yang menegaskan bahwa respons biologis pada manusia akibat penggunaan ekstrak berasal dari zat kimia di dalamnya, bukan dari faktor lain seperti bioenergi maupun aspek spiritual (Setiawan, 2019)

D. Pemilihan Pelarut Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan senyawa kimia yang larut dari simplisia sehingga terpisah dari bagian yang tidak larut. Pengetahuan tentang jenis senyawa aktif dalam simplisia sangat membantu dalam menentukan pelarut yang sesuai serta metode ekstraksi yang tepat (Setiawan, 2019).

Pemilihan pelarut dipengaruhi oleh beberapa pertimbangan. Pertama, pelarut harus memiliki selektivitas, yakni hanya melarutkan senyawa yang diinginkan tanpa melarutkan komponen lain. Kedua, pelarut sebaiknya mampu melarutkan senyawa dengan optimal. Ketiga, pelarut harus memiliki sifat tidak bercampur

dengan komponen lain dalam bahan ekstraksi. Keempat, pelarut idealnya tidak menyebabkan perubahan kimia pada senyawa yang diekstraksi. Selain itu, pelarut yang dipilih sebaiknya murah, tidak beracun, tidak mudah terbakar, tidak korosif, serta stabil baik secara kimia maupun teknis (Setiawan, 2019). Jenis-jenis pelarut ekstraksi antara lain:

1. Pelarut polar

Pelarut dengan tingkat kepolaran tinggi umumnya digunakan untuk mengekstraksi senyawa-senyawa polar dari tumbuhan. Jenis pelarut ini juga efektif memperoleh senyawa dengan kepolaran yang relatif rendah. Contoh pelarut golongan ini antara lain air, metanol, etanol, dan asam asetat.

a. Air

Air merupakan pelarut polar alami dengan konstanta dielektrik yang sangat tinggi. Air efektif dalam melarutkan senyawa-senyawa yang sangat polar, seperti gula, garam, tanin, saponin, dan sebagian flavonoid. Selain itu, air bersifat tidak toksik, murah, dan mudah diperoleh, sehingga sering digunakan dalam pengobatan tradisional dan penelitian awal tanaman obat. Namun, kelemahan air sebagai pelarut adalah mudah menyebabkan pertumbuhan mikroorganisme serta kurang efektif dalam mengekstraksi senyawa yang bersifat kurang polar (Hidayat, 2018).

b. Metanol

Metanol merupakan pelarut polar protik dengan kemampuan penetrasi jaringan yang baik, sehingga efektif dalam mengekstraksi senyawa polar dan semipolar. Metanol sering digunakan dalam penelitian laboratorium karena kemampuannya melarutkan flavonoid, fenolik, alkaloid, dan glikosida dengan

baik. Meskipun memiliki efektivitas tinggi dalam proses ekstraksi, metanol bersifat toksik sehingga penggunaannya lebih dibatasi pada penelitian laboratorium dan tidak dianjurkan untuk aplikasi sediaan yang ditujukan bagi konsumsi manusia (Susanti & Widiastuti, 2020).

c. Etanol

Etanol merupakan pelarut polar yang paling banyak digunakan dalam ekstraksi tanaman obat karena relatif aman, mudah menguap, serta memiliki kemampuan melarutkan senyawa polar dan semipolar. Etanol dapat digunakan dalam berbagai konsentrasi, seperti etanol 70% dan 96%, yang memungkinkan selektivitas ekstraksi terhadap senyawa tertentu. Etanol efektif dalam mengekstraksi flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid, dan senyawa fenolik yang berpotensi sebagai antibakteri (Rohman & Riyanto, 2017).

d. Pelarut polar lainnya

Selain air, metanol, dan etanol, beberapa pelarut polar lain yang juga digunakan dalam ekstraksi bahan alam antara lain aseton dan propanol. Aseton memiliki kepolaran yang tinggi dan kemampuan melarutkan senyawa fenolik serta flavonoid tertentu, sedangkan propanol digunakan dalam beberapa penelitian untuk meningkatkan efisiensi ekstraksi senyawa polar tertentu. Namun, penggunaannya relatif lebih terbatas dibandingkan air, metanol, dan etanol (Hidayat, 2018).

2. Pelarut semi polar

Pelarut dengan tingkat kepolaran sedang atau lebih rendah dibanding pelarut polar, umumnya digunakan untuk mengekstraksi senyawa-senyawa semi-polar dari tumbuhan. Beberapa contoh pelarut yang termasuk dalam kelompok ini

adalah aseton, etil asetat, dan kloroform.

a. Etil asetat

Etil asetat merupakan pelarut semipolar yang paling umum digunakan dalam ekstraksi tanaman obat. Pelarut ini mampu melarutkan flavonoid aglikon, terpenoid, dan senyawa fenolik dengan baik. Etil asetat bersifat relatif tidak toksik, mudah menguap, dan memiliki selektivitas yang baik terhadap senyawa semipolar, sehingga sering digunakan dalam fraksinasi ekstrak untuk memisahkan senyawa aktif dari senyawa polar dan nonpolar (Hidayat, 2018).

b. Aseton

Aseton merupakan pelarut dengan kepolaran sedang yang mampu melarutkan berbagai senyawa semipolar dan sebagian senyawa polar. Dalam ekstraksi bahan alam, aseton sering digunakan untuk mengekstraksi senyawa fenolik, flavonoid, dan terpenoid tertentu. Aseton memiliki keunggulan berupa daya penetrasi yang baik ke jaringan tanaman, namun penggunaannya terbatas karena sifatnya yang mudah menguap dan mudah terbakar (Hidayat, 2018).

c. Kloroform

Kloroform termasuk pelarut semipolar yang digunakan untuk mengekstraksi senyawa seperti alkaloid, steroid, dan terpenoid. Pelarut ini memiliki kemampuan melarutkan senyawa yang lebih nonpolar dibandingkan etil asetat. Namun, karena bersifat toksik, penggunaan kloroform saat ini lebih dibatasi dan umumnya hanya digunakan dalam penelitian laboratorium (Hidayat, 2018).

3. Pelarut non polar

Pelarut non-polar memiliki sifat hampir tidak mengandung kepolaran, sehingga efektif digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang tidak dapat larut

dalam pelarut polar. Jenis pelarut ini umumnya dipakai untuk mengekstraksi minyak, dengan contoh yang sering digunakan yaitu n-heksana dan eter.

a. N-heksana

N-heksana merupakan pelarut nonpolar yang paling umum digunakan dalam ekstraksi bahan alam. Pelarut ini efektif dalam melarutkan senyawa lipofilik seperti minyak atsiri, lemak, lilin, dan pigmen nonpolar. n-Heksana sering digunakan pada tahap awal ekstraksi atau fraksinasi untuk menghilangkan komponen nonpolar sebelum dilakukan ekstraksi lebih lanjut menggunakan pelarut polar atau semipolar (Rohman & Riyanto, 2017).

b. Eter

Petroleum eter merupakan campuran hidrokarbon nonpolar yang digunakan untuk mengekstraksi minyak atsiri dan senyawa lemak. Pelarut ini memiliki sifat volatil dan mudah menguap, sehingga mudah dihilangkan dari hasil ekstraksi. Petroleum eter sering digunakan sebagai alternatif n-heksana dalam proses ekstraksi senyawa nonpolar (Rohman & Riyanto, 2017).

Pelarut yang sering digunakan dalam proses ekstraksi antara lain metanol, etanol, air, kloroform, etil asetat, dan n-heksana. Pada penelitian ini dipilih tiga jenis pelarut untuk melihat perbedaan daya hambat antibakteri ekstrak daun pegagan berdasarkan variasi pelarut yang digunakan, yaitu etanol 96%, etil asetat, dan n-heksana.

a. Etanol 96%

Etanol 96% termasuk salah satu pelarut yang sering digunakan untuk mengekstraksi senyawa aktif dari bahan alam (Kusumayanti, 2019). Pelarut ini berasal dari golongan alkohol rantai tunggal dengan rumus kimia C_2H_5OH dan

rumus empiris C_2H_6O . Etanol 96% berbentuk cairan tidak berwarna, mudah menguap, serta memiliki bau khas. Sifatnya yang serbaguna membuatnya dapat larut dalam air maupun dalam berbagai pelarut organik, seperti asam asetat, aseton, benzena, karbon tetraklorida, kloroform, dietil eter, etilen glikol, gliserol, nitrometana, piridina, dan toluena. Karena sifatnya yang polar, etanol 96% mampu menghasilkan ekstrak kental (murni) yang memudahkan identifikasi senyawa metabolit sekunder. Selain itu, pemilihannya juga didasarkan pada pertimbangan harga yang terjangkau, ketersediaannya yang mudah, dan tingkat keamanan penggunaannya.

b. Etil asetat

Etil asetat adalah senyawa organik dengan rumus kimia $CH_3CH_2OC(O)CH_3$, yang termasuk dalam golongan ester hasil reaksi antara etanol dan asam asetat. Senyawa ini berupa cairan bening tidak berwarna dengan aroma khas. Dalam skala industri, etil asetat banyak digunakan sebagai pelarut pada proses ekstraksi. Bersifat semi-polar, mudah menguap (*volatile*), tidak beracun, serta tidak higroskopis, etil asetat efektif menarik senyawa-senyawa semi-polar, termasuk yang terkandung dalam daun pegagan. Dalam penelitian fitokimia, ekstraksi dengan pelarut etil asetat berhasil mengekstraksi tanin, polifenol, dan flavonoid dari daun simpor dan bagian tanaman kesambi, mendukung penggunaan etil asetat sebagai pelarut ekstraksi efektif pada penelitian bahan alam di Indonesia. (Andre Yusuf Trisna Putra *et al.*, 2019; Nursamsiar *et al.*, 2024)

c. N-heksana

N-heksana adalah senyawa hidrokarbon dari golongan alkana dengan rumus kimia C_6H_{14} . Pada kondisi standar, senyawa ini berbentuk cairan bening tidak berwarna dan tidak larut dalam air. Bersifat non-polar, n-heksana banyak

dimanfaatkan dalam proses ekstraksi karena tergolong cukup aman, tidak mudah bereaksi, mudah menguap, serta memiliki harga yang ekonomis (Ardiansyah, 2020).

D. Bakteri *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus adalah bakteri Gram positif bersifat fakultatif anaerob dengan suhu pertumbuhan optimal sekitar 34°C, serta mampu menghasilkan pigmen berwarna kuning keemasan (Sari *et al.*, 2022). Bakteri ini dapat dijumpai pada tubuh manusia, antara lain di rongga hidung sekitar 30%–50% orang dewasa sehat, pada tinja sekitar 20%, serta di permukaan kulit 5%–10% (Manaroinsong *et al.*, 2015).

1. Klasifikasi bakteri

Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* menurut Soedarto (2015), dijabarkan sebagai berikut:

Domain : *Bacteria*

Kingdom : *Eubacteria*

Phylum : *Firmicutes*

Kelas : *Bacilli*

Ordo : *Bacillales*

Famili : *Staphylococcaceae*

Genus : *Staphylococcus*

Spesies : *Staphylococcus aureus*

2. Morfologi

Staphylococcus aureus adalah bakteri Gram positif berbentuk kokus dengan diameter sekitar 1 µm. Di bawah mikroskop, susunan bakteri ini tampak

menyerupai buah anggur. Bakteri ini bersifat nonmotil, tidak menghasilkan spora, serta katalase positif. *Staphylococcus aureus* tersebar luas di lingkungan dan berperan sebagai flora normal, terutama pada kulit, misalnya di area ketiak (Soedarto, 2015).

Koloni *Staphylococcus aureus* umumnya berukuran cukup besar dengan diameter 6–8 mm. Banyak strain yang menghasilkan pigmen berwarna kuning gading hingga jingga. Bakteri ini memiliki sifat katalase positif dan mampu memfermentasi manitol. Pada media MSA (*Mannitol Salt Agar*), fermentasi manitol oleh *Staphylococcus aureus* menghasilkan asam yang menurunkan pH medium, sehingga mengubah warna media dari merah menjadi kuning. Sifat ini dapat dimanfaatkan untuk membedakan *Staphylococcus aureus* dari spesies lain (Soedarto, 2015).

3. Infeksi *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan flora normal pada kulit manusia, namun dalam kondisi tertentu dapat menjadi penyebab infeksi. Bakteri ini dapat menimbulkan penyakit melalui invasi jaringan atau efek toksin yang dihasilkannya. Karena sifat destruktif lokalnya, *Staphylococcus aureus* sering menimbulkan peradangan piogenik khas, baik pada kulit, tulang, maupun katup jantung (Komala, 2023). Infeksi dapat terjadi melalui udara, air, debu, limbah, makanan dan minuman, maupun peralatan yang telah terkontaminasi (Salim, 2016). Penularan ke dalam tubuh juga bisa terjadi melalui tangan yang menyentuh luka, area pasca operasi, lokasi pemasangan kateter vaskuler, atau bagian kulit dengan pertahanan lemah seperti eksim dan luka lecet (Soedarto, 2015).

Infeksi kulit akibat *Staphylococcus aureus* biasanya ditandai dengan

terbentuknya abses sebagai tahap awal penyebaran patogen. Pada individu dengan sistem imun yang terganggu, seperti pasien kanker dengan neutropenia atau penerima terapi intravena, bakteri ini dapat menyebabkan infeksi berat hingga komplikasi serius. Pada penderita fibrosis kistik, keberadaan *Staphylococcus aureus* bahkan dapat memicu resistensi antibiotik. Selain itu, enzim proteolitik yang dihasilkan bakteri mampu menimbulkan pneumonia, infeksi tulang dan sendi, serta endokarditis.

Prevalensi *Staphylococcus aureus* cukup tinggi pada penderita dermatitis atopik, terutama di area ketiak, rambut, dan kulit kepala. Infeksi juga dapat muncul pada bisul besar yang lecet. Jika bakteri berhasil masuk ke jaringan dalam, penyakit serius seperti artritis septik, endokarditis, dan pneumonia dapat terjadi (Soedarto, 2015).

E. Antibakteri

Resistensi antibiotik merupakan kondisi ketika bakteri mengalami perubahan kemampuan sehingga menjadi kebal terhadap jenis antibiotik tertentu. Hal ini menyebabkan bakteri sulit dimusnahkan dengan terapi antibiotik dan tetap dapat berkembang biak, sehingga berpotensi mengancam kesehatan (Seko *et al.*, 2021). Salah satu bakteri yang diketahui resisten terhadap sistem imun maupun obat-obatan adalah *Staphylococcus aureus*.

Upaya penanganan resistensi bakteri perlu didukung dengan pengobatan yang tepat, salah satunya melalui pemberian zat antibakteri (Seko *et al.*, 2021). Menurut (Septiani *et al.*, 2017), antibakteri adalah senyawa yang mampu membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri, termasuk dalam kelompok antimikroba. Mekanisme kerja senyawa aktif antibakteri meliputi perusakan dinding sel,

perubahan permeabilitas membran, gangguan pada protein dan asam nukleat, penghambatan kerja enzim, serta penghambatan sintesis protein maupun asam nukleat bakteri.

Salah satu alternatif solusi untuk mengurangi resistensi bakteri adalah pemanfaatan tumbuhan herbal sebagai sumber antibakteri alami. Tanaman obat dinilai efektif sebagai pengganti antibiotik sintetis karena mengandung metabolit sekunder yang berfungsi menghambat pertumbuhan bakteri (Seko *et al.*, 2021). Senyawa fitokimia seperti fenol, flavonoid, dan alkaloid berperan penting dalam aktivitas antibakteri dengan cara merusak dinding sel, sehingga berpotensi digunakan sebagai antibakteri alami terhadap bakteri patogen (Septiani *et al.*, 2017).

F. Kloramfenikol

Kloramfenikol adalah antibiotik yang bekerja dengan cara menghambat enzim *peptidyl transferase*, enzim yang berperan dalam pembentukan ikatan peptida selama sintesis protein bakteri. Selama obat ini berikatan dengan ribosom, pembentukan ikatan peptida akan terhenti (Jamilah, 2015). Kloramfenikol digunakan untuk terapi maupun pencegahan infeksi pada manusia dan hewan, dengan keunggulan spektrum kerjanya yang luas (broad spectrum), sehingga efektif melawan bakteri Gram positif maupun Gram negatif (Asni & Sianita, 2020).

Antibiotik ini bersifat bakteristatik, namun dapat bertindak sebagai bakterisidal pada konsentrasi tinggi. Mekanisme kerjanya adalah dengan menghambat sintesis protein bakteri melalui ikatan reversibel pada subunit ribosom 50S, sehingga proses pembentukan peptida bakteri terhambat.

Kloramfenikol sering dipilih sebagai terapi konjungtivitis bakteri karena harganya relatif murah namun tetap efektif. Menurut Nabila & Oktarlina (2021), kloramfenikol terbukti sensitif dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

Pemilihan kloramfenikol sebagai kontrol positif dalam penelitian aktivitas antibakteri didasarkan pada kemampuannya yang telah teruji dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Antibiotik ini menghasilkan zona hambat yang jelas dan konsisten pada metode difusi cakram, sehingga dapat digunakan sebagai pembanding efektivitas aktivitas antibakteri ekstrak tanaman obat. Selain itu, kloramfenikol memiliki difusibilitas yang baik dalam media agar, sehingga sesuai digunakan dalam metode difusi cakram untuk evaluasi aktivitas antibakteri (Sari *et al.*, 2020).

Meskipun penggunaan kloramfenikol dalam terapi klinis saat ini semakin dibatasi karena potensi efek samping serius, seperti supresi sumsum tulang, antibiotik ini masih banyak digunakan dalam penelitian laboratorium. Hal ini disebabkan oleh kestabilannya, spektrum aktivitasnya yang luas, serta kemampuannya menghasilkan respon daya hambat yang terukur secara jelas terhadap bakteri uji (Sari *et al.*, 2020). Oleh karena itu, kloramfenikol tetap relevan digunakan sebagai kontrol positif dalam penelitian aktivitas antibakteri ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica L.*) terhadap *Staphylococcus aureus*.

G. Pengukuran Aktivitas Antibakteri

Penentuan aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode standar agar semua faktor yang memengaruhi uji dapat terkontrol dengan baik. Di Amerika Serikat, pengujian antimikroba mengacu pada metode *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) dengan menggunakan organisme uji standar serta obat pembanding yang sudah ditetapkan. Metode ini bertujuan untuk menilai potensi

antibiotik dalam sampel maupun tingkat kerentanan mikroorganisme (Soedarto, 2015). Secara umum, aktivitas antibakteri dapat diuji melalui dua pendekatan, yaitu metode dilusi dan difusi.

1. Metode dilusi

Metode dilusi digunakan untuk memastikan kembali aktivitas antimikroba pada sampel yang telah melalui uji difusi namun menunjukkan zona hambat yang tidak konsisten. Kelebihan metode ini adalah satu konsentrasi zat antimikroba dapat dipakai untuk menguji beberapa jenis mikroorganisme sekaligus. Parameter yang diamati meliputi Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) (Sari *et al.*, 2022).

Metode ini terbagi menjadi dua, yaitu dilusi cair dan dilusi padat. Dilusi cair dilakukan menggunakan media cair seperti *Nutrient Broth* (NB) dengan membuat seri pengenceran zat antimikroba pada medium cair, kemudian ditambahkan mikroba uji. Umumnya, metode ini digunakan untuk menentukan nilai KHM. Sementara itu, dilusi padat dilakukan dengan cara menumbuhkan mikroba pada media agar yang telah dicampur agen antimikroba, dan metode ini biasanya dipakai untuk menentukan nilai KBM (Fitriana *et al.*, 2022).

2. Metode difusi

Metode difusi merupakan teknik yang digunakan untuk mengetahui tingkat sensitivitas mikroorganisme terhadap suatu zat antimikroba. Umumnya, metode ini dilakukan dengan kertas cakram, yaitu dengan menempatkan cakram berisi senyawa uji pada media agar yang sudah diinokulasi dengan mikroba. Daerah bening yang terbentuk di sekitar cakram menunjukkan adanya aktivitas antimikroba. Kelebihan metode difusi adalah prosedurnya sederhana, tidak

membutuhkan peralatan khusus, serta memberikan fleksibilitas lebih luas dalam pemilihan obat yang diuji (Fitriana *et al.*, 2022). Metode difusi dapat dilakukan melalui tiga pendekatan, yaitu:

- a. Metode silinder dilakukan dengan meletakkan silinder kaca steril di atas media agar yang sudah berisi suspensi mikroba dan dibiarkan membeku. Selanjutnya, ke dalam silinder tersebut ditambahkan zat uji, kemudian diinkubasi pada suhu 35°C selama 18–24 jam. Setelah inkubasi, zona hambat yang terbentuk diukur diameternya. Kelebihan metode ini adalah jumlah zat uji yang diteteskan ke media dapat terkontrol dengan baik, namun kelemahannya yaitu memiliki risiko tinggi karena silinder berpotensi jatuh.
- b. Metode perforasi dilakukan dengan mencampurkan media agar cair pada suhu 45–50°C dengan suspensi mikroba ke dalam cawan petri steril, kemudian dibiarkan hingga memadat. Setelah agar mengeras, dibuat lubang menggunakan perforator, lalu ke dalam lubang tersebut ditambahkan zat uji untuk mengetahui aktivitas antimikrobanya. Cawan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18–24 jam, dan diameter zona hambat yang terbentuk diukur. Kelebihan metode ini adalah ketebalan media yang digunakan relatif tipis, sedangkan kekurangannya yaitu lubang yang dibuat terkadang tidak sempurna.
- c. Metode cakram kertas dilakukan dengan menggunakan kertas saring berbentuk cakram yang telah diberi zat antimikroba dengan konsentrasi tertentu. Cakram tersebut ditempatkan di atas permukaan media agar yang telah diinokulasikan mikroba uji, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18–24 jam. Setelah inkubasi, zona hambat yang terbentuk diukur

diameternya. Keunggulan metode ini adalah jumlah zat uji dapat ditentukan sesuai kebutuhan, sedangkan kelemahannya yaitu hasilnya tidak bersifat kuantitatif karena tidak semua senyawa aktif dapat berdifusi sempurna ke dalam agar.

H. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Antimikroba

Aktivitas antimikroba umumnya diuji secara *in vitro* untuk menilai potensi suatu agen dalam larutan, kadar konsentrasinya di dalam cairan tubuh atau jaringan, serta tingkat sensitivitas mikroorganisme terhadap konsentrasi tertentu dari obat. Beberapa faktor dapat memengaruhi aktivitas antimikroba dan perlu diperhatikan karena dapat berdampak pada hasil pengujian, antara lain:

1. pH lingkungan

pH lingkungan memiliki peran penting dalam pertumbuhan bakteri karena aktivitas enzim diperlukan untuk mengkatalisis berbagai reaksi yang mendukung pertumbuhan tersebut. Jika kondisi pH tidak sesuai, fungsi enzim akan terganggu sehingga proses pertumbuhan bakteri pun terhambat (Fajar *et al.*, 2022).

2. Komponen medium

Komposisi media dapat memengaruhi besar kecilnya zona hambat melalui pengaruhnya terhadap laju pertumbuhan mikroba, kecepatan difusi senyawa antimikroba, serta aktivitas obat itu sendiri. Misalnya, *sodium polyanetholsulfonate* pada media kultur darah maupun deterjen anionik diketahui dapat menghambat kerja aminoglikosida. Selain itu, protein serum juga dapat berikatan dengan penisilin pada tingkat yang berbeda, mulai dari sekitar 40% pada metisilin hingga mencapai 98% pada dikloksasilin.

3. Kestabilan obat

Pada kondisi suhu inkubasi, sejumlah agen antimikroba dapat mengalami penurunan efektivitas. Misalnya, penisilin dapat mengalami inaktivasi secara bertahap, sedangkan golongan aminoglikosida dan siprofloksasin cenderung tetap stabil dalam jangka waktu yang lebih lama.

4. Lama inkubasi

Semakin panjang durasi inkubasi, semakin besar kemungkinan munculnya mutan resisten atau meningkatnya jumlah mikroba yang kurang sensitif terhadap antimikroba, karena efek obat berangsur berkurang seiring waktu.

5. Aktivitas metabolisme organisme

Secara umum, mikroba yang sedang aktif dan tumbuh cepat lebih sensitif terhadap efek obat dibandingkan mikroba yang berada dalam fase istirahat. Mikroba yang metabolisme-nya rendah dan mampu bertahan terhadap paparan obat dalam waktu lama bisa tetap menghasilkan keturunan yang sepenuhnya sensitif terhadap obat yang sama.

6. Kekeruhan suspensi bakteri

Suspensi yang lebih encer cenderung menghasilkan zona hambat yang lebih luas, sedangkan suspensi yang lebih keruh akan menghasilkan zona hambat yang lebih sempit (Kuswiyanto, 2016).

7. Ketebalan media

Ketebalan media agar sebaiknya sekitar 4 mm, karena jika lebih tipis, difusi obat menjadi terlalu cepat, sedangkan jika lebih tebal, difusi obat menjadi lebih lambat (Kuswiyanto, 2016).