

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Legundi

1. Definisi

Vitex trifolia merupakan tumbuhan perdu yang tumbuh di daerah tropis. Tumbuhan ini tersebar di Asia Pasifik, Australia, dan benua Afrika. Legundi (*Vitex trifolia* L.) merupakan salah satu spesies tumbuhan yang telah digunakan sebagai obat herbal. Di Indonesia, tanaman yang sering disebut legundi ini merupakan bagian dari keanekaragaman tanaman obat yang tumbuh subur dan lazim dimanfaatkan sebagai pagar pelindung. Lebih dari sekadar tanaman hias, legundi menyimpan potensi besar sebagai bahan baku obat tradisional dan tidak jarang dikonsumsi secara langsung oleh warga. Berdasarkan tingkat taksonomi, buah legundi dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotylendoneae
Ordo	: Lamiales
Famili	: Verbenaceae
Genus	: Vitex
Spesies	: <i>Vitex trifolia</i>

Vitex mempunyai banyak jenis diantaranya adalah *V. agnuscastus*, *V. incisa*, *V. divaricata*, dan *V. incisa* berasal dari Asia. *Vitex trifolia* mempunyai beberapa nama lokal yaitu langgundi (Minangkabau), gandasari (Palembang), lagundi (Melayu),

lagondi (Sunda), legundi (Jawa Tengah), langgundi (Madura), galumi (Sumba), sangan (Bima), laura (Makassar), lawarani (Bugis), man jing zi (China), dan di wilayah dikenal dengan sebutan liligundi yang dimanfaatkan sebagai komponen dasar obat nyamuk. Tanaman ini mempunyai ciri khas tersendiri, bagian buahnya menghasilkan aroma rempah yang kuat serta berbau aromatik yang tajam (Arneti dkk., 2018).



Gambar 1 Tanaman Buah Legundi (*Vitex trifolia*)

(Sumber: Wikipedia)

2. Morfologi

Vitex trifolia adalah semak atau pohon kecil dari famili Verbenaceae yang tumbuh liar di daerah pantai berpasir wilayah tropis dan subtropis, termasuk Asia hingga Australia. Tanaman ini umumnya memiliki tinggi 1–4 m dengan batang berkayu berwarna cokelat dan permukaan yang berambut halus (Arpiwi *et al.*, 2020) Nona dkk., 2022). Daunnya hijau tua, berbentuk bulat telur, dapat berupa daun tunggal atau trifoliat, dengan permukaan atas halus mengilap dan permukaan bawah berambut abu-abu (Haryanto dkk., 2025). Bunganya berwarna putih hingga biru keunguan dan tersusun sebagai malai terminal sepanjang 5–10 cm (Chan *et al.*, 2016). Buahnya kecil berbentuk bulat, berdaging, berdiameter sekitar 5 mm dan berisi 1–4 biji hitam kecil dengan rasa pahit, pedas dan sejuk (Nisa *et al.*, 2023).

3. Manfaat

Legundi merupakan salah satu tanaman obat berhabitus semak yang telah banyak dimanfaatkan masyarakat untuk pengobatan. *Vitex trifolia* di Indonesia telah digunakan sebagai obat tradisional dalam industri jamu modern. Efek farmakologis daun *V. trifolia* antara lain sebagai obat penenang, obat demam, mengurangi nyeri, rematik, alergi, laksatif urin, dan insektisida, serta meredakan sakit kepala, rematik, migrain, sakit mata, dan pilek (Nisa *et al.*, 2023), antiinflamasi, sifat antiangiogenik (Ramchandani *et al.*, 2020), penambah berat badan, penyembuhan luka, antirepelan terhadap nyamuk (Arpiwi *et al.*, 2020), antibakteri (Sukarsih *et al.*, 2021), anti-HIV, ekstrak buah legundi terbukti bersifat sitotoksik terhadap beberapa lini sel kanker dan memiliki aktivitas antimikroba (Gong *et al.*, 2021), antiasma, antialergi (Hanudin *et al.*, 2015), antioksidan (Musa *et al.*, 2021), dan antipiretik (Chan *et al.*, 2016), hepatoprotektif, efek antimikroba, antivirus, antimalaria, dan antispasmodic yang telah terkonfirmasi semakin menggarisbawahi khasiat obat yang melekat pada *V. trifolia* (Mottaghipisheh *et al.*, 2024). Selain itu, buah Legundi juga dapat digunakan untuk mengobati pembengkakan dan nyeri gusi, tumor ganas, dan lain-lain (Cindykia *et al.*, 2025). Ekstrak tanaman digunakan untuk meningkatkan daya ingat, mengurangi rasa sakit (analgesik), serta berpotensi sebagai anti diabetes (Haryanto dkk., 2025).

4. Kandungan dan mekanisme kerja senyawa sekunder buah legundi

Berbagai penelitian menunjukkan bahwa seluruh bagian *Vitex trifolia*, daun, batang, buah, dan biji memiliki manfaat biologis. Tanaman ini mengandung metabolit sekunder seperti terpenoid (khususnya diterpena labdane), flavonoid,

lignan, fitosterol, antrakuinon, dan asam lemak, dengan terpenoid dan flavonoid sebagai senyawa bioaktif utamanya (Yan *et al.*, 2023).

Beberapa studi telah mengkaji kandungan senyawa aktif dalam tanaman legundi. Daunnya diketahui mengandung alkaloid, saponin, flavonoid, polifenol, serta minyak atsiri. Pada buahnya ditemukan diterpen-haliman vitetrifolins D–G (Nona dkk., 2022). Penelitian lain (Indriatie *et al.*, 2023) membuktikan bahwa pada buah legundi ditemukan senyawa sabinene (13.17%), eucalyptol (23.07%), terpinen-4-ol (4.26%), α -terpineol (5.19%), d-Limonene (7.25%), and caryophyllene (14.72%). Senyawa aktif utama pada buah legundi didominasi oleh terpenoid golongan diterpen Labdane, seperti 1,1,4a-trimethyl-5-6-dimethylenedecahydronaphthalene (Lubis *et al.*, 2022).

Antibakteri merupakan pengobatan yang bekerja dengan cara mengganggu stabilitas hidup mikroorganisme tersebut. mikroba patogen dan merugikan bagi tubuh. Berdasarkan kelompok besarnya mekanisme kerja dan target kerja antibakteri dibagi menjadi 3, yaitu antibakteri yang menargetkan dinding sel pada bakteri, antibakteri yang menghambat produksi protein baru/sintesis protein, dan antibakteri yang menargetkan pada DNA/replikasi DNA (Imelda, dkk., 2023).

Genus *Vitex* terdiri dari lebih dari 270 spesies yang tersebar di seluruh dunia dan mengandung banyak komponen aktif yang bermanfaat. Berikut adalah karakteristik senyawa metabolit sekunder yang ditemukan dalam buah legundi, menurut (Cindykia *et al.*, 2025):

a. Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenolik terbesar dengan kerangka dasar C6–C3–C6 dan umumnya tersimpan di dalam vakuola sel. Variasi struktur

flavonoid dipengaruhi oleh tingkat hidroksilasi, alkoksilasi, dan glikosilasi (Julianto, 2019). Berbagai jenis tanaman dan bahan pangan diketahui kaya akan senyawa ini, yang menyimpan beragam khasiat biologis, serta memiliki berbagai aktivitas biologis seperti antikanker, antibakteri, antiinflamasi, dan perlindungan kardiovaskular (Arifin dan Ibrahim, 2018). Flavonoid juga menunjukkan aktivitas antimikroba luas, misalnya flavanon yang efektif terhadap MRSA, serta isoflavon yang aktif melawan spesies *Streptococcal* (Imelda dkk., 2023).

Sebagai kelompok metabolit sekunder yang paling dominan pada tumbuhan, flavonoid menunjukkan efikasi antibakteri melalui tiga jalur biokimia utama. Pertama, interaksi antara basa nukleat dengan cincin A dan B pada struktur flavonoid mengakibatkan terhentinya sintesis DNA dan RNA. Kedua, pembentukan kompleks antara flavonoid dengan protein membran memicu kerusakan integritas sel yang menyebabkan kebocoran materi intraseluler. Terakhir, senyawa ini mengintervensi metabolisme energi di membran sitoplasma dengan menghambat konsumsi oksigen, sehingga secara signifikan melemahkan vitalitas bakteri (Nomer dkk., 2019).

b. Terpenoid

Terpena adalah senyawa hidrokarbon yang banyak ditemukan pada tumbuhan dan menjadi komponen utama minyak atsiri. Terpenoid umumnya memiliki ikatan rangkap sehingga mudah bereaksi, dan saat dipanaskan dapat melepaskan isoprena sebagai produk samping (Julianto, 2019). Senyawa ini memiliki beragam aktivitas biologis, termasuk antikanker, antialergi, antibakteri, dan antioksidan (Masyita *et al.*, 2022). Beberapa terpenoid yang bersifat antimikroba meliputi borneol, sineol, pinene, kamfene, dan kamfor. Senyawa seperti merediol, linalool, indol, dan

kadinen dilaporkan efektif menghambat pertumbuhan *B. subtilis*, *E. coli* dan *S. aureus* (Imelda dkk., 2023).

Sebanyak 75% senyawa terpenoid telah diidentifikasi memiliki efikasi sebagai agen antibakteri karena kemampuannya dalam menekan pertumbuhan bakteri, baik dari Gram positif maupun Gram negatif (Mahizan *et al.*, 2019). eberadaan terpenoid yang terdapat dalam suatu tanaman dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara berinteraksi dengan protein enzim dan merusak struktur membran sel, sehingga fungsi sel bakteri menjadi terganggu (Nurjanah dkk., 2019).

c. Alkaloid

Alkaloid merupakan kelompok metabolit sekunder utama pada tumbuhan yang biasanya terdiri atas beberapa jenis senyawa. Senyawa ini cenderung bersifat basa, memiliki rasa yang pahit, serta menunjukkan kelarutan yang tinggi dalam pelarut organik dibandingkan dalam air, serta umumnya berbentuk kristal (Julianto, 2019). Dalam bidang kesehatan, alkaloid berfungsi sebagai senyawa aktif yang berpotensi menjadi obat dan mampu menghambat atau merusak bakteri, virus, jamur, serta sel kanker (Nurlita dkk., 2024). Alkaloid memiliki aktivitas antimikroba, diantaranya kausenalen terhadap *B. subtilis*, *Salmonella lutea*, *Pseudomonas vulgaris*, *E. coli*, *S. aureus* dan murayanol terhadap *E. coli*, *S. aureus* dan *Candida parapsilasi* (Imelda dkk., 2023).

Alkaloid juga dikenal memiliki sifat bakterisidal kuat, mampu membunuh lebih dari 99,99% bakteri Gram positif maupun negatif dalam waktu 1–2 jam (Thawabteh *et al.*, 2019). Mekanisme kerja antimikroba alkaloid meliputi penghambatan enzim yang berperan dalam replikasi DNA, gangguan pembentukan dinding sel, kerusakan permeabilitas membran, serta penghambatan metabolisme

dan produksi energi dengan menargetkan ATP. Hambatan pada ATP sintase menyebabkan terganggunya proses metabolik penting dan berujung pada kematian bakteri (Yan *et al.*, 2021).

d. Tanin

Tanin dikategorikan sebagai senyawa fenolik yang memiliki kemampuan spesifik untuk mengikat sekaligus mengendapkan protein serta komponen organik lainnya, seperti alkaloid dan asam amino. Keberadaan senyawa ini ditandai dengan munculnya sensasi rasa sepat dan pahit yang dominan (Julianto, 2019). Tanin banyak ditemukan pada buah, daun, batang, dan kulit kayu, serta berperan sebagai pertahanan alami tanaman. Dalam bidang kesehatan, tanin diketahui memiliki aktivitas antidiare, antioksidan, antibakteri, dan astringen. Pengelompokan tanin didasarkan pada susunan molekul kimianya, yang secara garis besar terbagi menjadi bentuk yang dapat terhidrolisis maupun bentuk yang terkondensasi (Sunani dan Hendriani, 2023).

Sebagai antibakteri, tanin meningkatkan permeabilitas membran bakteri sehingga dinding sel mengerut dan mengalami lisis. Tanin berinteraksi dengan polipeptida dinding sel sehingga pembentukannya terhambat dan kemampuan bakteri untuk melekat pada inang dapat terinaktivasi. Tanin juga dapat menonaktifkan enzim, mengganggu transport protein, serta menurunkan motilitas bakteri (Kurama dkk., 2020).

e. Saponin

Saponin juga merupakan golongan metabolit sekunder yang terdistribusi luas di berbagai jaringan tanaman. Karakteristik utama saponin ditandai dengan kemampuannya dalam memicu pembentukan busa, yang disebabkan oleh struktur

molekulnya yang terdiri dari gugus gula yang terikat pada aglikon polisiklik (Suleman dkk., 2022). Saponin termasuk komponen organik yang memiliki karakteristik mirip steroid dan menunjukkan beragam aktivitas biologis, terutama sebagai antibakteri. Berkat sifat tersebut, saponin banyak digunakan dalam berbagai industri, seperti pembuatan sabun, sampo, kosmetik, produk pangan, dan obat-obatan. Dalam bidang kesehatan, saponin dilaporkan memiliki aktivitas antifungal, antibakteri, serta antitumor (Ngginak dkk., 2017).

Efek antibakteri dari saponin dihasilkan melalui gangguan pada permeabilitas membran serta penurunan tegangan permukaan pada dinding sel mikroba. Kerusakan membran ini menyebabkan kebocoran sitoplasma, yang akhirnya menghentikan aktivitas hidup bakteri (Nuryana dkk., 2024).

B. Ekstraksi

1. Simplisia

Simplisia didefinisikan sebagai bahan alam yang telah dikeringkan untuk digunakan sebagai bahan obat tanpa adanya modifikasi lebih lanjut. Prosedur pengeringannya dapat dilakukan dengan penjemuran, penganginan, atau metode oven dengan parameter suhu yang dibatasi hingga 60°C untuk mencegah degradasi zat aktif (Kemenkes RI, 2022). Jenis-jenis simplisia secara garis besar diklasifikasikan menjadi (Nasri dkk., 2023):

a. Simplisia nabati

Sumber simplisia dapat berupa seluruh organ tanaman yang dimanfaatkan dalam bentuk aslinya, atau berasal dari eksudat tanaman yang telah melewati proses pengeringan. Eksudat tanaman didefinisikan sebagai isi sel yang secara alami keluar dari bagian tanaman atau dengan cara pemisahan tertentu dari tumbuhannya.

b. Simplisia hewani

Simplisia yang diperoleh melalui pemanfaatan hewan secara utuh atau bagian-bagian tertentu untuk tujuan medis diklasifikasikan sebagai simplisia hewani. Contoh dari penggunaan bahan alam ini adalah madu dan minyak ikan.

c. Simplisia mineral

simplisia juga dapat diperoleh dari bahan mineral atau pelikan alami. Material ini digunakan tanpa melalui tahapan pengolahan yang rumit, seperti yang terlihat pada penggunaan serbuk tembaga maupun serbuk seng (Zn) sebagai bahan dasar sediaan obat.

2. Pengertian dan jenis ekstrak

Bahan alam mengandung senyawa aktif yang dapat dimanfaatkan sebagai alternatif obat, misalnya antikanker, antitumor, antimikroba, antioksidan, hingga antituberkulosis. Untuk memperoleh kandungan aktif tersebut, dalam praktik laboratorium, metode ekstraksi menjadi pilihan utama untuk memisahkan senyawa metabolit dari matriks asalnya. Ekstrak didefinisikan sebagai sediaan konsentrat zat aktif yang dihasilkan dari proses pelarutan simplisia menggunakan solven tertentu, guna mendapatkan efek farmakologis (Riyanto dan Haryanto, 2023). Ekstrak dapat dibagi menjadi beberapa jenis, yaitu (Hasnawati, 2024):

a. Ekstrak cair

Merupakan hasil ekstraksi yang masih berbentuk cair dan dapat dituang, biasanya karena kandungan airnya lebih dari 30%. Jenis ekstrak ini umum dipakai di industri makanan, minuman, farmasi, dan kosmetik karena mampu mempertahankan senyawa aktif atau aroma dari bahan alami.

b. Ekstrak kental

Memiliki kadar air sekitar 5–30%. Ekstrak ini sudah melalui proses penguapan pelarut, sehingga tidak lagi mengandung banyak cairan tetapi tetap bertekstur cair pada suhu ruang.

c. Ekstrak kering

Mengandung kurang dari 5% air. Ekstrak ini dibuat dengan mengeringkan ekstrak kental menggunakan oven bersuhu rendah hingga menjadi bentuk serbuk.

3. Metode ekstraksi

Ekstraksi merupakan metode untuk prosedur pemisahan zat aktif dari material asalnya di mana pelarut digunakan sebagai media untuk menarik senyawa yang diinginkan keluar dari campurannya. Proses ini dilakukan dengan mencampurkan bahan baku menggunakan pelarut untuk menarik senyawa aktif dari tumbuhan. Setelah itu, pelarut diuapkan sehingga tersisa ekstrak yang berisi senyawa-senyawa yang diinginkan (Hasnawati, 2024). Pelarut masuk ke dalam sel, membuat dinding sel mengembang hingga sel pecah, lalu senyawa di dalamnya larut dan keluar ke pelarut. Jenis dan jumlah senyawa yang terambil tergantung pada pelarut yang digunakan. Adapun metode-metode ekstraksi (Wahyuningsih dkk., 2024):

a. Ekstraksi padat-cair

Penarikan *solute* dari padatan yang tidak dapat larut dilakukan melalui metode ekstraksi padat-cair, di mana pelarut berperan sebagai media pembawa. Tahapan ini diawali dengan difusi pelarut ke dalam pori-pori padatan inert melewati membran dinding sel, yang menyebabkan proses ini berjalan lambat. Setelah melarutkan komponen target, cairan tersebut kembali keluar dari permukaan padatan untuk berdifusi dengan sisa pelarut lainnya.

b. Ekstraksi cara dingin

Guna menjaga stabilitas molekul target yang diinginkan tidak rusak, prosedur ekstraksi dingin dilakukan tanpa melibatkan intervensi panas di sepanjang tahapannya. Beberapa metode ekstraksi cara dingin:

1) Maserasi

Maserasi berfungsi baik untuk skala industri maupun skala kecil, maserasi adalah metode sederhana yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari pada kondisi suhu ruang. Prosedur ini umumnya dilaksanakan dalam wadah yang terlindung dari cahaya (tertutup dan gelap) untuk memastikan proses penarikan zat aktif berlangsung optimal tanpa bantuan pemanasan. Setelah tercapai keseimbangan, campuran disaring. Metode ini mudah dilakukan dan cocok untuk senyawa yang sensitif panas, tetapi memerlukan waktu lama dan banyak pelarut.

2) Perkolasi

Perkolasi merupakan teknik ekstraksi yang dilakukan dengan cara mengalirkan pelarut dari atas ke bawah melewati serbuk simplisia yang sudah dibasahi. Pelarut melarutkan zat aktif hingga jenuh, lalu perkolat dikumpulkan dan diuapkan untuk mendapatkan ekstrak. Proses dilakukan pada suhu ruang agar efisiensi tetap tinggi dan mencegah kerusakan senyawa.

c. Ekstraksi cara panas

Metode ini menggunakan pemanasan untuk mempercepat pelepasan senyawa aktif dari simplisia. Beberapa metode ekstraksi cara panas:

1) Refluks

Ekstraksi dilakukan dengan memanaskan simplisia dalam pelarut pada suhu tetap sehingga senyawa aktif lebih cepat tersari. Keunggulannya sederhana, murah, rendemen tinggi. Sedangkan kekurangan dari metode ini tidak cocok untuk senyawa termolabil.

2) Soxhletasi

Pelarut dipanaskan dan mengalir terus-menerus melalui sampel sehingga ekstraksi berlangsung berulang tanpa perlu banyak pelarut. Keunggulan dari metode ini proses kontinyu, lebih efisien, waktu cepat. Sedangkan kekurangannya senyawa mudah rusak karena pemanasan berulang pada titik didih.

d. Ekstraksi cair-cair

Metode ini menggunakan pelarut organik yang tidak bercampur dengan air untuk memisahkan zat dari fase air dikenal sebagai ekstraksi cair-cair. Ini efektif karena pelarut dapat digunakan kembali, dapat memisahkan asam-asam karboksilat, dan menghasilkan kemurnian tinggi. Pada dasarnya, larutan berinteraksi dengan pelarut lain yang tidak saling larut, menciptakan dua fase berdasarkan perbedaan densitas. Tetesan pelarut akan pecah dan bergabung dalam kolom ekstraksi, meningkatkan area dan waktu kontak dan meningkatkan efisiensi proses pemisahan.

4. Hal yang perlu diperhatikan dalam melakukan ekstraksi

Ekstraksi didefinisikan sebagai prosedur penarikan komponen dari material alam untuk mencapai target tertentu. Keberhasilan proses ini ditentukan oleh interaksi antara faktor internal dan eksternal. Parameter luar yang berpengaruh meliputi suhu operasional, kehalusan sampel, durasi ekstraksi, polaritas pelarut,

serta intensitas pengadukan. Sementara itu, faktor internal mencakup kualitatif dan kuantitatif serta karakteristik kimiawi dari senyawa aktif yang terkandung dalam bahan tersebut. Berikut faktor-faktor yang mempengaruhi ekstraksi (Wahyuningsih dkk., 2024):

a. Suhu

Suhu menentukan kelarutan dan kestabilan senyawa aktif. Peningkatan suhu dapat mempercepat pelarutan, namun suhu terlalu tinggi dapat merusak senyawa sensitif seperti vitamin, protein, dan komponen bioaktif. Suhu ideal umumnya berada pada kisaran 30–50°C, sedangkan pemanasan hingga 100°C digunakan bila pelarut air membutuhkan penguapan cepat. Pemilihan suhu harus disesuaikan dengan stabilitas senyawa target..

b. Ukuran bahan

Luasnya permukaan yang bersentuhan langsung dengan pelarut ditentukan oleh tingkat kehalusan partikel simplisia sehingga p memfasilitasi penetrasi solven ke dalam sel secara lebih masif dan mempercepat penarikan senyawa aktif serta mengoptimalkan rendemen yang diperoleh. Serbuk halus memberikan hasil optimal, namun ukuran partikel yang lebih besar kadang menghasilkan aktivitas senyawa tertentu lebih baik, tergantung jenis simplisia dan metode ekstraksi.

c. Waktu ekstraksi

Waktu yang terlalu singkat menyebabkan senyawa belum larut sempurna, sedangkan waktu terlalu lama dapat menyebabkan titik jenuh, penurunan aktivitas senyawa, atau kerusakan komponen bioaktif. Setiap bahan memiliki waktu ekstraksi optimum yang dipengaruhi jenis pelarut, karakter bahan, dan sifat senyawa aktifnya.

d. Pelarut

Pelarut dipilih berdasarkan kepolarannya agar sesuai dengan sifat senyawa yang diekstraksi. Kelarutan senyawa bahan alam mengikuti kaidah polaritas, di mana senyawa pelarut polar (metanol, etanol, dan air) digunakan untuk menarik senyawa polar, sementara pelarut non-polar (kloroform, n-heksana, dan eter) digunakan untuk mengekstraksi komponen non-polar. Prinsip ini menjamin proses pemisahan zat aktif berlangsung secara selektif. Pelarut yang lebih polar umumnya menghasilkan rendemen lebih tinggi. Etanol sering menjadi pilihan karena aman dan mampu melarutkan banyak metabolit sekunder. Pemilihan pelarut harus mempertimbangkan keamanan, efisiensi, dan jenis senyawa yang ditargetkan.

C. *Staphylococcus aureus*

1. Tempat tumbuhnya *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus dapat ditemukan hampir di semua tempat, termasuk debu, air, udara, makanan, peralatan makan, serta tubuh manusia dan hewan, terutama pada kulit, rambut/bulu, dan saluran pernapasan. Sumber utama penyebarannya adalah manusia dan hewan. Pertumbuhannya dipengaruhi suhu, pH, oksigen, dan faktor lingkungan lainnya, dengan suhu optimal 37°C dan kisaran 12–44°C. Bakteri ini mudah mati dengan pemanasan seperti pasteurisasi, tetapi tahan terhadap pembekuan hingga -20°C. *S. aureus* menunjukkan pertumbuhan optimal pada kondisi pH sekitar 7,4. Sebagai mikroorganisme anaerob fakultatif, bakteri ini memiliki fleksibilitas metabolisme untuk tetap bertahan hidup baik dalam lingkungan aerobik maupun anaerobik, yang berarti kelangsungan hidupnya tidak sepenuhnya bergantung pada keberadaan oksigen, meski efisiensi pertumbuhannya berkurang jika kadar oksigen berada di bawah level optimal (Pingkan dkk., 2022).

Sekitar 30% orang dewasa sehat membawa *S. aureus* di hidung dan 20% pada kulit, dengan angka lebih tinggi pada pasien atau petugas rumah sakit (Bush, 2025).

2. Morfologi *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus, yang merupakan anggota dari famili *Micrococcaceae*, diklasifikasikan sebagai mikroorganisme Gram-positif dengan morfologi sel berbentuk sferis berukuran 0,5–1,5 μm . Secara mikroskopis, sel-selnya menunjukkan formasi koloni yang tersusun berkelompok menyerupai buah anggur. Spesies ini bersifat non-spora, tidak bergerak, serta memiliki metabolisme anaerob fakultatif. Pengamatan pada media agar menunjukkan pertumbuhan koloni berbentuk bulat dengan tepi halus dan warna kuning keemasan yang mencolok.. *S. aureus* tumbuh optimal pada suhu 37°C dan mampu bertahan berminggu-minggu dalam kondisi kering. Bakteri ini mudah dibedakan dari spesies *Staphylococcus* lainnya karena bersifat koagulase positif dan dapat memfermentasi mannitol. Peningkatan faktor virulensi pada lebih dari 90% isolat didukung oleh adanya kapsul polisakarida (Pingkan dkk., 2022).

3. Patogenesis *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus bersifat patogen karena memiliki kapsul, enzim, dan toksin yang dapat merusak jaringan. Bakteri ini menyebabkan berbagai infeksi, mulai dari abses, impetigo, selulitis, hingga infeksi pasca operasi. Jika masuk ke aliran darah, *S. aureus* dapat menimbulkan bakteremia yang berlanjut menjadi endokarditis, meningitis, osteomielitis, atau pneumonia. Pada rongga mulut, bakteri ini juga dapat memicu parotitis, cellulitis, angular cheilitis, dan abses periodonta (Pingkan dkk., 2022).

Patogenisitas *S. aureus* dipengaruhi faktor virulensi berupa komponen struktural, enzim, toksin, dan faktor genetik. Pada tahap awal infeksi, bakteri mengekspresikan adhesin seperti protein A, *fibrinogen-binding protein*, *fibronectin-binding protein*, dan *collagen-binding protein*. Pada tahap berikutnya, penyebaran infeksi didukung oleh produksi toksin seperti hemolisin, lipase, dan protease (Octifani dkk., 2024).

Secara umum, terdapat dua mekanisme utama yang menjelaskan patogenitas bakteri dalam menyebabkan penyakit (Octifani dkk., 2024):

- a. Invasi, yaitu kemampuan bakteri menempel, berkembang biak, menghasilkan enzim invasif, dan menembus pertahanan tubuh.
- b. Toksogenesis, yaitu produksi eksotoksin dan endotoksin yang merusak jaringan selama kolonisasi maupun invasi..

4. Resistensi *Staphylococcus aureus* terhadap antibiotik

Sejak ditemukannya, antibiotik telah terbukti bermanfaat bagi kehidupan manusia. Namun, peningkatan penggunaannya dapat menyebabkan berbagai masalah. Banyak galur telah mengalami resistansi terhadap efek antibiotik. Jika pembawa meminum antibiotik, antibiotik tersebut dapat mematikan galur yang tidak resistan, meninggalkan galur yang sebagian besar resistan. Bakteri ini kemudian dapat berkembang biak dan menyebabkan infeksi yang lebih sulit untuk diobati (Bush, 2025). Kondisi ini membuat terapi menjadi tidak efektif, lebih mahal, dan pada kasus berat dapat mengancam jiwa karena antibiotik yang dibutuhkan tidak lagi bekerja (Kemenkes RI, 2023) .

Pengobatan utama untuk penyakit infeksi umumnya menggunakan antibiotik. Antibiotik merupakan senyawa antimikroba yang diproduksi oleh mikroorganisme

lain, terutama jamur, dan mampu menghambat atau membunuh mikroba tertentu (Hilda dan Berliana, 2015). Penanganan infeksi yang buruk juga memperparah resistensi (Mardiah, 2017). Resistensi antibiotik terjadi ketika bakteri menjadi kebal terhadap obat yang seharusnya menghentikan pertumbuhan mereka, misalnya akibat penggunaan antibiotik untuk infeksi virus atau terapi antibiotik yang tidak diselesaikan (Kemenkes RI, 2023a) .

Sebagai bakteri anaerob fakultatif yang sering mendiami kulit dan saluran napas atas, *Staphylococcus aureus* bagi individu yang sehat, bakteri ini sering kali bersifat komensal di mana inang hanya berperan sebagai pembawa (*carrier*) tanpa menunjukkan gejala klinis. Infeksi serius terjadi ketika resistensi inang melemah karena perubahan hormon, penyakit, luka, atau perawatan dengan steroid atau obat lain yang melemahkan imunitas (Hilda dan Berliana, 2015). Dengan demikian, penting untuk memberikan antibiotik yang sesuai.

Di Indonesia, antibiotik yang sering digunakan meliputi tetrasiklin, penisilin, kloramfenikol, eritromisin, dan streptomisin. *S. aureus* diketahui resisten terhadap penisilin, oksasilin, dan berbagai antibiotik β -laktam lainnya (Hilda dan Berliana, 2015). *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang mampu berkembang menjadi strain yang resisten terhadap berbagai antibiotik, terutama golongan β -laktam. Resistensi ini terutama dipicu oleh gen *mecA* yang menghasilkan protein PBP2a, yaitu protein yang memiliki afinitas sangat rendah terhadap antibiotik β -laktam. Akibatnya, MRSA (*Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*) kebal terhadap hampir seluruh β -laktam, sehingga infeksi menjadi lebih sulit diobati dan meningkatkan risiko kesakitan serta kematian.. Kondisi ini menyebabkan infeksi MRSA sulit diobati dan berhubungan dengan angka kesakitan serta kematian yang

lebih tinggi. Peningkatan resistensi *S. aureus* dipicu oleh penggunaan antibiotik berlebihan, terutama pada pasien rawat inap, pengguna kateter, ventilator, atau yang baru menerima antibiotik intravena. Resistensi yang meningkat terus menjadi tantangan besar dalam pelayanan klinis karena MRSA tidak hanya menyebabkan infeksi kulit dan jaringan lunak, tetapi juga pneumonia, bakteremia, serta infeksi berat lain yang membutuhkan pengobatan lebih agresif dan terarah (Fadrian, 2023).

5. Pengobatan *Staphylococcus aureus*

Pengobatan infeksi *S. aureus* biasanya memerlukan penggunaan antibiotik berdasarkan jenis bakteri yang ditemukan dalam hasil pemeriksaan laboratorium. Namun, pengobatan harus lebih spesifik pada kasus MRSA, atau *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap methicillin, karena bakteri ini telah resisten terhadap banyak antibiotik. Untuk menangani MRSA digunakan antibiotik alternatif seperti vankomisin, linezolid, daptomisin, klindamisin, tetrasiklin, kotrimoksazol, dan ceftarolin, yang masih efektif terhadap strain resisten. Jika infeksi menyebabkan penumpukan nanah, tindakan seperti drainase luka diperlukan selain antibiotik. Jika ada infeksi yang melibatkan alat medis atau prostetik di dalam tubuh, perangkat tersebut mungkin perlu dilepas, kadang-kadang bahkan harus dioperasi (Pingkan dkk., 2022).

D. Uji Aktivitas Antibakteri

1. Pengukuran Aktivitas Antibakteri

Berbagai penelitian dilakukan untuk menilai efektivitas senyawa antibakteri baru melalui metode pengujian yang terstandar. Aktivitas antibakteri dianalisis melalui dua metode yakni pengujian *in vivo* pada organisme hidup (seperti model hewan atau uji klinis) dan pengujian *in vitro* yang dilakukan di luar sistem biologis

hidup melalui metode difusi serta dilusi. Penentuan sensitivitas bakteri sangat bergantung pada efikasi agen antimikroba dalam menghambat proliferasi mikroba secara *in vitro* (Apriani dkk., 2023). Prosedur ini bertujuan untuk mengukur tingkat resistensi patogen terhadap antibiotik spesifik, sekaligus memprediksi potensi keberhasilan terapi dalam menangani infeksi yang disebabkan oleh bakteri tertentu (Octifani dkk., 2024).

a. Metode difusi

Prinsip metode ini adalah senyawa atau zat antimikroba yang akan diuji berdifusi dari reservoir (penampung senyawa uji, yang dapat berupa cakram atau sumur) ke dalam media agar yang telah diinokulasi dengan mikroorganisme uji. Metode difusi agar dibedakan menjadi dua metode umum, yaitu metode difusi cakram (*disk diffusion kirby bauer*) dan metode difusi sumur (*well diffusion*). Perbedaannya terletak pada wadah atau reservoir yang digunakan untuk menempatkan senyawa uji, metode cakram menggunakan kertas cakram, sedangkan metode sumur menggunakan sumur kecil yang dibuat pada permukaan agar. Laju difusi senyawa uji melalui media agar tergantung pada sifat difusi dan kelarutan senyawa uji dalam media agar dan berat molekul senyawa uji. Molekul yang lebih besar akan berdifusi pada tingkat yang lebih lambat dari pada senyawa dengan berat molekul lebih rendah (Imelda dkk., 2023).

Metode difusi cakram merupakan metode standar yang disarankan oleh CLSI (*Clinical and Laboratories Standards Institute*) di AS untuk pengujian kerentanan bakteri terhadap senyawa antimikroba secara *in vitro*. Untuk menentukan sensitivitas atau resistensi bakteri patogen aerobik dan fakultatif terhadap berbagai antibiotik, metode ini biasanya digunakan pada antibiotik yang baru dibuat. Metode

ini fleksibel dalam pemilihan jenis cakram dan hasilnya mudah diinterpretasikan. Namun, kelemahannya adalah tidak dapat menentukan nilai KHM secara tepat dan hasilnya cenderung lebih lambat (Octifani dkk., 2024). Metode difusi cakram pada agar tidak cocok digunakan untuk menentukan nilai KHM, karena jumlah agen antimikroba yang berdifusi ke dalam media agar tidak dapat diukur secara kuantitatif. Meskipun demikian, pada beberapa jenis mikroorganisme dan antibiotik, nilai KHM perkiraan masih dapat dihitung dengan membandingkan diameter zona hambat dengan algoritma yang telah ditetapkan (Balouiri *et al.*, 2016).

b. Metode dilusi

Metode dilusi merupakan teknik yang paling tepat untuk menentukan nilai KHM karena memungkinkan pengukuran konsentrasi agen antimikroba yang diuji, baik di dalam media agar maupun media cair. Aktivitas antimikroba dapat diukur secara kuantitatif melalui metode dilusi, baik menggunakan media cair maupun agar. Parameter utama yang diperoleh adalah nilai KHM, yaitu konsentrasi minimal agen antimikroba yang secara visual mampu menghambat proliferasi mikroorganisme, yang umumnya direpresentasikan dalam satuan mg/L (Balouiri *et al.*, 2016).

Teknik dilusi ini menjadi standar dalam menetapkan nilai KHM serta KBM. Selain berfungsi untuk memvalidasi temuan uji difusi cakram, metode ini menilai resistensi bakteri, serta menyediakan data kuantitatif bagi klinisi untuk menentukan rejimen antimikroba yang efektif untuk mengobati infeksi bakteri pada pasien (Octifani dkk., 2024).

Pada metode dilusi padat, setiap konsentrasi antibakteri dicampurkan ke dalam media agar. Pengamatan dilakukan dengan melihat ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri, atau jika memungkinkan, menilai tingkat kesuburan pertumbuhan dengan menghitung jumlah koloni (Octifani dkk., 2024).

Metode dilusi cair, metode ini menguji kemampuan suatu senyawa antimikroba dengan mengontakkannya langsung pada mikroorganisme di dalam media cair. Metode dilusi cair terbagi menjadi dua jenis, yaitu makrodilusi (*macrodilution*) yang menggunakan tabung uji dengan volume media lebih besar, dan mikrodilusi (*microdilution*) yang menggunakan *microplate* dengan volume media lebih sedikit. Perbedaan utama keduanya hanya terletak pada jumlah media yang dipakai (Imelda dkk., 2023).

Prinsip metode ini adalah membuat beberapa tingkat konsentrasi antibakteri melalui pengenceran secara seri dalam media cair, lalu mencampurnya dengan suspensi bakteri untuk mengamati titik konsentrasi yang mulai menghambat pertumbuhan. Kelebihan metode dilusi cair adalah luas permukaannya besar sehingga kontak antara antibakteri dan sel bakteri lebih optimal, serta lebih ekonomis dan mudah dilakukan. Namun, karena hanya menggunakan serial pengenceran tertentu, konsentrasi yang diuji terbatas dan mungkin tidak mencakup konsentrasi yang sebenarnya lebih rendah tetapi masih dapat menghambat bakteri (Octifani dkk., 2024)

European Comittee on Antimicrobial Susceptibility Testing umumnya merekomendasikan penggunaan metode dilusi, kecuali untuk beberapa antibiotik yang dinilai lebih tepat diuji dengan metode dilusi agar. Penentuan KHM menggunakan media *Mueller–Hinton* dalam bentuk cair, dengan antibiotik yang

sebelumnya dibuat sebagai larutan stok lalu diencerkan secara bertingkat. Inokulum bakteri juga harus berasal dari kultur murni yang tumbuh optimal dan disesuaikan dengan standar kekeruhan tertentu agar hasil konsisten. Setelah bakteri diinokulasikan ke berbagai konsentrasi antibiotik dan diinkubasi, nilai KHM diukur nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis yang ditentukan sebagai konsentrasi terendah yang masih mampu menghambat pertumbuhan bakteri sepenuhnya. Nilai ini kemudian dibandingkan dengan batas ambang KHM yang telah ditetapkan secara klinis untuk menilai apakah bakteri termasuk sensitif atau resisten terhadap antibiotik tersebut. Dalam beberapa kasus dapat muncul *Eagle effect*, yaitu kondisi ketika bakteri justru bertahan pada konsentrasi antibiotik yang sangat tinggi sehingga hasil perlu diuji ulang (Kowalska-krochmal and Dudek-wicher, 2021).

Beberapa faktor uji antibakteri yaitu:

1) Kondisi inkubasi (waktu, suhu)

Suhu dan lama inkubasi memengaruhi stabilitas senyawa dan viabilitas bakteri, sehingga hasil uji dapat berubah. Suhu lebih tinggi biasanya meningkatkan aktivitas antimikroba, sementara inkubasi terlalu lama berisiko munculnya bakteri resisten atau pertumbuhan ulang saat konsentrasi antimikroba menurun (Laure *et al.*, 2021).

Suhu 37°C digunakan karena merupakan suhu optimal bagi pertumbuhan bakteri patogen manusia, termasuk *Staphylococcus aureus*, yang secara fisiologis berkembang baik pada suhu tubuh manusia. (CLSI, 2018) dan (EUCAST, 2022) merekomendasikan suhu inkubasi 35–37°C selama 18–24 jam agar bakteri mencapai fase log dan pembacaan pertumbuhan lebih akurat dalam uji dilusi KHM pada kultur bakteri aerob seperti *S. aureus*.

2) Media

Setiap mikroorganisme memiliki pH optimal untuk tumbuh dan pH media yang tidak sesuai dapat menghambat pertumbuhan, sehingga sulit membedakan apakah hambatan disebabkan media atau zat antibakteri. Media dan kandungan di dalamnya (nutrien, ion, komponen organik) dapat memengaruhi aktivitas antimikroba atau bahkan menonaktifkan senyawa (Eloff, 2019).

Mueller Hinton Broth (MHB) digunakan sebagai media standar internasional untuk uji kepekaan antimikroba karena komposisinya stabil, tidak menonaktifkan senyawa, dan memudahkan reproduktifitas antar-studi. Oleh karena itu (EUCAST, 2022) merekomendasikan MHB untuk penentuan MIC dengan metode dilusi. (CLSI, 2018) menetapkan MHB harus memiliki pH 7,2–7,4 (ideal $7,3 \pm 0,1$) untuk memastikan stabilitas aktivitas antimikroba dan pertumbuhan optimal bakteri. pH di luar rentang tersebut dapat mengubah daya kerja antimikroba dan menyebabkan variasi sensitivitas bakteri. Pengukuran pH sebelum digunakan menjamin konsistensi kondisi media sesuai standar mikrobiologi.

3) Sterilisasi

Area kerja, alat, dan bahan harus disterilkan untuk mencegah kontaminasi dan menjaga akurasi hasil uji. Alat gelas disterilkan dengan oven panas kering pada 160°C selama 1 jam sesuai pedoman laboratorium mikrobiologi, karena panas kering efektif membunuh mikroorganisme tanpa merusak alat yang tidak memerlukan presisi tinggi. Bahan dan media cair disterilkan dengan autoklaf pada 121°C selama 15 menit setelah suhu dan tekanan tercapai, yang direkomendasikan CDC (2024), WHO, dan *Clinical and Laboratory Standards Institute* sebagai standar emas untuk sterilisasi karena mampu membunuh bakteri, spora, dan virus

secara konsisten. Pembungkusan alat dengan kertas buram dan penggunaan indikator sterilisasi memastikan keberhasilan proses.

4) Kekeruhan suspensi bakteri

Dalam penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM), ukuran inokulum memengaruhi dinamika pertumbuhan bakteri. Oleh karena itu, suspensi *Staphylococcus aureus* disesuaikan ke standar 0,5 McFarland (setara 1×10^6 CFU/mL) untuk memperoleh inokulum akhir sekitar 5×10^5 CFU/mL sesuai (ISO, 2019) dan (CLSI, 2018). Penyesuaian ini memastikan konsistensi jumlah bakteri, mengurangi variasi antar replikasi, dan menghasilkan data KHM yang akurat. Penggunaan McFarland densitometer memastikan akurasi kekeruhan dan mengurangi variasi antarreplikasi. Standarisasi ini penting karena jumlah inokulum yang terlalu besar dapat menaikkan nilai KHM atau menurunkan efektivitas zat antibakteri atau terlalu kecil membuat bakteri memerlukan waktu adaptasi lebih lama sehingga dapat menghasilkan hasil yang bias (Eloff, 2019). Tujuan penyesuaian suspensi bakteri *S. aureus* dengan standar Mc Farland 0,5 yaitu agar jumlah bakteri yang digunakan sama selama penelitian dan mengurangi kepadatan bakteri saat pengujian.

5) Kontrol antibiotik

Kontrol diperlukan untuk memastikan uji berjalan dengan benar. Kontrol positif menunjukkan bakteri bisa dihambat, kontrol negatif memastikan bakteri bisa tumbuh normal, dan kontrol media memastikan tidak ada kontaminasi. *Gentamicin* digunakan sebagai kontrol positif karena telah terbukti efektif menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, dan banyak penelitian sensitivitas bakteri masa kini masih melaporkan *gentamicin* sebagai antibiotik acuan untuk *S. aureus*.

Salah satu studi (Belete *et al.*, 2025) di sebuah rumah sakit di Gondar menunjukkan bahwa sebagian besar isolat *S. aureus* masih sensitif terhadap *gentamicin*. Sebagai kontrol positif, *gentamicin* memastikan bahwa kondisi uji (media, inokulum, inkubasi, oksigen) memungkinkan bakteri tumbuh ataupun terhambat dengan benar sehingga bila bakteri berhasil dihambat oleh *gentamicin*, tandanya uji berjalan benar, sehingga hambatan bakteri yang terlihat disebabkan oleh ekstrak, bukan kesalahan prosedur.

6) Penggunaan Spektrofotometri

Pengukuran OD600 memberi nilai kuantitatif untuk kekeruhan kultur (proxy konsentrasi sel). Ini memungkinkan perhitungan % inhibisi, analisis statistik, dan estimasi kurva dosis-respons. Namun punya keterbatasan (sensitivitas linear terbatas, interferensi warna/pigmen ekstrak dan pathlength alat) sehingga dilakukan koreksi (Mira *et al.*, 2022). Spektrofotometri menunjukkan apakah pertumbuhan terstop (bakteriostat), tetapi tidak memastikan apakah sel mati.

7) Pelarut

Pemilihan pelarut merupakan hal yang penting dalam metode ekstraksi pelarut. Selektivitas, kelarutan, biaya, dan keamanan perlu dipertimbangkan dalam pemilihan pelarut. Berdasarkan prinsip “*like dissolves like*”, pelarut dengan tingkat polaritas yang mendekati polaritas senyawa terlarut akan memberikan hasil ekstraksi yang lebih baik (Zhang *et al.*, 2018). Alkohol, seperti etanol (EtOH) Etanol sering kali dikategorikan sebagai pelarut universal dalam penelitian fitokimia karena kemampuannya yang luas dalam melarutkan senyawa dengan rentang polaritas yang berbeda (non-polar dan semi-polar), relatif aman, tidak beracun, bertitik didih rendah, serta meningkatkan efisiensi ekstraksi bahan aktif

(Surya dan Luhurningtyas, 2021). Namun demikian, etanol memiliki aktivitas antibakteri pada konsentrasi tertentu, terutama terhadap bakteri Gram-positif seperti *Staphylococcus aureus* (Lu *et al.*, 2025).

8) Kondisi lingkungan

pH, suhu, dan kelembapan memengaruhi aktivitas antimikroba. Kondisi yang tidak optimal dapat menurunkan efektivitas (Eloff, 2019). Kehadiran bahan organik seperti darah, feses, atau saliva dapat menghambat efektivitas antimikroba karena dapat membentuk endapan atau melapisi bakteri sehingga kontak langsung dengan antimikroba berkurang (Apriani dkk., 2023).