**2.1 Uraian Tumbuhan**

**BAB II TINJAUAN PUSTAKA**

Uraian tumbuhan meliputi sistematika tumbuhan, nama daerah, morfologi tumbuhan, kegunaan dan manfaat tumbuhan.

**2.1.1 Sistematika Tumbuhan**

Sistematika Daun Pletekan menurut (Ditjen POM 2009) sebagai berikut : Divisi : Spermatophyta

Kelas : Dicotyledoneae Ordo : Lamiales Family : Acanthaceae

Species : *Ruellia tuberosa* L.



**Gambar 2.1** Tanaman Pletekan (Hidayah et al., 2022)

**2.1.2 Morfologi tanaman pletekan**

Tanaman pletekan memiliki morfologi yaitu pangkalnya berbaring, dengan berkas akar bentuk umbi memanjang, tinggi 0,4 - 0,9 m. Batang segi empat tumpul. Tangkai daun 0,5 - 1,5 cm, helaian daun bentuk memanjang hingga bulat telur terbalik, dengan pangkal runcing, tepi bergigi tegak, licin, panjang 6 - 18 cm, lebar 3

- 9 cm, tangkai bunga 0,5 - 2,5 cm, tinggi kelopak 2 - 3 cm, tinggi mahkota 5 - 6 cm, kebanyakan ungu cerah, tangkai sari berletakan berpasangan pada pangkalnya, buah

gundul, panjang 2 - 3 cm, membuka dengan dua katup, biji tiap ruang 2 - 20, biji

6

tumbuhan ini berbentuk lonjong dan berwarna hijau, namun saat tumbuhan berumur tua biji berubah menjadi berwarna. *Ruelllia tuberosa* atau disebut dengan pletekan memiliki ciri khas yaitu warna bunga nya ungu. (Hidayah et al., 2022).

**2.1.3 Nama daerah tanaman**

Pletekan Tanaman pletekan sering disebut sebagai pletekan dan ceplikan

(Jawa) (Hidayah et al., 2022).

**2.1.4 Kegunaan tanaman pletekan**

Tanaman pletekan dapat digunakan sebagai obat kencing batu, dan obat jantung koroner. Akar pletekan dapat digunakan sebagai antijamur, antibakteri dan insektisida. Daun pletekan juga dapat digunakan sebagai antijamur yang juga digunakan sebagai agen antibakteri. Efek antibakteri tumbuhan disebabkan oleh produk metabolisme yang terkandung di dalamnya (Sari et al., 2020).

**2.2 *Salmonella typhi***

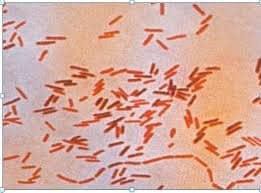
Taksonomi *Salmonella typhi* menurut (Jatmiko, 2020) Kingdom : Bacteria

Filum : Proteobacteria

Ordo : Gamma proteobacterial

Class : Enterobacterial Family : Enterobacteriaceae Genus : Salmonella

Spesies : *Salmonella typhi*



**Gambar 2.2** *Salmonella typhi* (Jatmiko, 2020)

**2.2.1 Morfologi**

*Salmonella typhi* merupakan bakteri berbentuk batang Gram negatif, tidak berspora, memiliki flagel periatrik, berkembang biak dengan cara membelah diri dan berukuran 0,5 - 1,5 µm. *Salmonella typhi* tumbuh pada suasana aerob dan fakulatif anaerob, pada suhu 15oC - 41oC dengan suhu optimal 37,5oC dengan pH media 6 - 8. *Salmonella typhi* akan mati pada suhu 56oC dalam keadaan kering, hidup subur pada medium yang mnegandung garam empedu (Jatmiko, 2020).

**2.2.2 Sifat Pertumbuhan *Salmonella typhi***

*Salmonella* termasuk dalam family *Enterobacteriaceae* yang kemudian dikelompokkan menjadi *salmonella typhi* dan *salmonella paratyphi*. Pertumbuhan terjadi antara suhu 4°C - 47°C (optimal pada suhu 37°C) dengan pH minimum 4. Bakteri ini bersifat parasit dan patogenik bagi banyak hewan dan manusia *Salmonella typhi* adalah bakteri penyebab salmonellosis yang merupakan penyakit serius di Indonesia dan masih bersifat endemis. Hal ini terjadi karena kendala dalam kelompok gambaran klinis, diagnose dan pengobatannya. Penyakit ini dianggap serius karena dapat disertai berbagai penyakit dan juga mempunyai angka kematian yang cukup tinggi, yaitu 1 - 5% dari penderita. Bakteri *Salmonella typhi* ditularkan melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi oleh kotoran atau tinja dari seseorang penderita demam typoid. Bakteri ini akan masuk melalui mulut bersama

makanan dan minuman kemudian hanyut ke saluran pencernaan. Apabila bakteri masuk ke dalam tubuh manusia, tubuh akan berusaha untuk mengeliminasinya. Tetapi bila bakteri dapat bertahan dan jumlah yang masuk cukup banyak, maka bakteri akan berhasil mencapai usus halus. Kemudian bakteri berusaha masuk ke dalam tubuh yang akhirnya dapat merangsang sel darah putih untuk menghasilkan interleukin yang merangsang terjadinya gejala demam, perasaan lemah, sakit kepala, nafsu makan berkurang, sakit perut, gangguan buang air besar (Silaban,

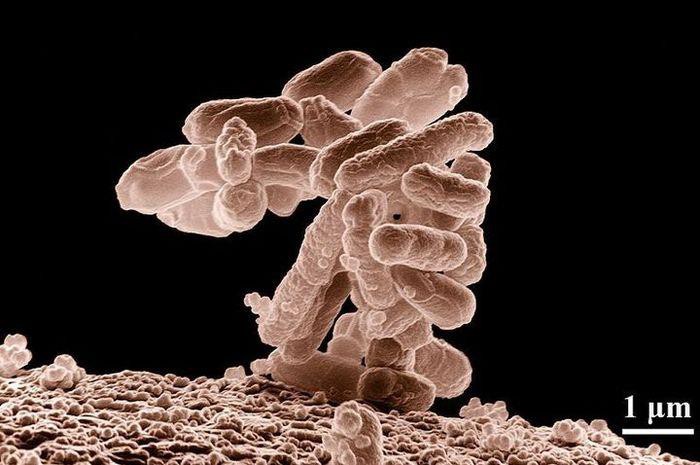
2019).

**2.3 *Escherichia coli*** Taksonomi *Escherichia coli* Kingdom : Bacteria

Filum : Proterobacteria

Kelas : Gamma Proterobacteria

Ordo : Eubacteriales Famili : Euteroatericeae Genus : Escherichia Spesies : *Escherichia coli*



**Gambar 2.3** *Escherichia coli* (Silaban, 2019).

**2.3.1 Morfologi *Escherichia coli***

*Escherichia coli* merupakan bakteri yang hidup disaluran pencernaan manusia maupun hewan. *Escherichia coli* merupakan bakteri anaerobik fakultatif yang dapat tumbuh pada keadaan aerob maupun anaerob, bakteri yang tergolong dalam anaerob fakultatif merupakan bakteri patogen yang sering dijumpai, *Escherichia coli* memiliki bentuk batang pendek (coccobasil) dengan ukuran 1,0 µm x 2,0 µm, bersifat motil (dapat bergerak), tidak memiliki nukleus, organel eksternal maupun sitoskeleton tetapi memiliki organel eksternal yakni vili yang merupakan filamen tipis dan lebih panjang.

*Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif tidak membentuk spora, bakteri ini dapat hidup pada berbagai substrat dengan melakukan fermentasi anaerobik menghasilkan asam laknat, suksinat, asetat, etanol, dan karbondioksida*. Escherichia coli* termasuk famili *Enterobacteriaceae*, bentuknya batang atau koma, terdapat tunggal atau berpasangan dalam rantai pendek. Memiliki panjang sekitar 2 µm, diameter 1,0µm - 2,0µm. *Escherichia coli* memiliki suhu maksimum pertumbuhan 40 oC - 45oC, di atas suhu tersebut bakteri akan mengalami in aktivasi. Penentuan serotif bakteri *Escherichia coli* berdasarkan antigen dinding sel (O), kapsular (K), dan flagela (H). Diperkirakan terdapat 173 antigen O, 80 antigen kapsular, 56 antigen H yang telah di isolasi (Silaban, 2019).

**2.3.2. Sifat Pertumbuhan *Escherichia coli***

Bakteri *Escherichia coli* dapat tumbuh berlebihan jika mengkonsumsi makanan yang terkontaminasi oleh bakteri seperti, daging mentah, lalapan sayuran yang tidak bersih pencuciannya, daging yang tidak sempurna pengolahannya, susu, ataupun feses yang tercemar dalam pangan atau air, bakteri *Escherichia coli* dapat

menjadi patogen jika kandungan dalam jumlah yang banyak. Bakteri *Escherichia coli* yang patogen dapat tumbuh pada suhu rendah yaitu sekitar 7oC dan juga suhu tinggi yaitu sekitar 44oC tetapi pertumbuhan *Escherichia coli* lebih optimal pada suhu antara 35oC - 37oC pH optimum 7-7,5. Selain itu, bakteri *Escherichia coli* dapat hidup ditempat lembab, relatif sensitif terhadap panas, dan akan mati dengan pasteurisasi atau proses pemasakan dengan suhu yang relatif tinggi (Qurrotun Faizah, 2021).

**2.3.3. Patogenitas *Escherichia coli***

*Escherichia coli* termasuk ke dalam bakteri heterotrof yang memperoleh makanan berupa zat organik yang dibutuhkannya. *Escherichia coli* menjadi patogen, jika jumlah bakteri ini dalam saluran pencernaan meningkat atau berada diluar usus. *Escherichia coli* menghasilkan enterotoksin yang menyebabkan beberapa kasus diare. *Escherichia coli* berasosiasi dengan enteropatogenik menghasilkan enterotoksin pada sel epitel (Silaban, 2019).

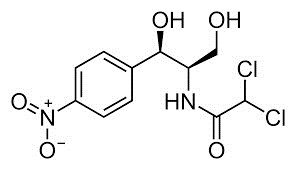
**2.4 Antibiotik**

Resistensi antibiotik di defenisikan sebagai tidak terhambatnya pertumbuhan bakteri dengan pemberian antibiotik secara sistemik dengan dosis normal atau kadar hambat minimalnya. Resisten pada obat antibiotik kemungkinan akan terus terjadi. Resistensi mikroorganisme penyebab infeksi terhadap antibiotik merupakan salah satu risiko paling besar. Kuman resisten antibiotik tersebut terjadi akibat penggunaan antibiotik yang tidak bijak dan penerapan kewaspadaan standar, resistensi terjadi ketika suatu mikroorganisme yang awalnya sensitif terhadap mikroorganisme, kemudian menjadi resisten terhadap mikroorgansime dengan

dosis yang sama dari jenis antibiotik, mikroorganisme yang telah resisten (bakteri, jamur, virus, dan beberapa jenis parasite) (Krisnawatii, 2021).

**2.5 Antibiotik *Kloramfenicol***

*Kloramfenikol* adalah antibiotik spectrum luas yang efektif terhadap beberapa jenis bakteri dari kuman anaerob. Adapun struktur dari kloramfenikol sebagai berikut :



**Gambar 2.4** *Kloramfenicol* (Depkes RI.1995).

1. Pemerian : hablur halus berbentuk jarum atau lempeng memanjang, berwarna putih hingga putih kelabu atau putih kekuningan, larutan praktis netral atau larutan agak asam

2. Kelarutan : Sukar larut dalam air dan mudah larut dalam etanil, propilen glikol, aseton, dan etil asetat

3. Mekanisme kerja : Dihambatnya sintesis pritein pada sel bakteri merupakan kerja dari Kloramfenikol. Kloramfenikol berikatan secara reversible dengan Unit ribosom 50 S, sehingga mencegah ikatan antara asam amino

**2.6 Antibakteri**

Bahan antibakteri diartikan sebagai bahan yang dapat mengganggu dari pertumbuhan dan metabolisme bakteri, sehingga bahan tersebut dapat menghambat pertumbuhan atau bahkan membunuh bakteri. Mekanisme kerja bahan antibakteri antara lain dengan merusak dinding sel, merubah permeabilitas sel, menghambat sintetis protein dan asam nukleat, menghambat kerja enzim, serta merubah molekul

protein dan asam nukleat. Pemakaian suatu antibakteri yang berlebihan juga dapat menyebabkan mikroba yang awalnya sensitif terhadap antibiotik menjadi resisten. Bakteri adalah salah satu golongan organisme prokariotik (tidak mempunyai selubung inti) akan tetapi bakteri memiliki informasi genetik berupa DNA yang berbentuk sirkuler, dan bisa disebut nukloid (Abdullah & Munadirah, 2021).

**2.7 Media Pertumbuhan Bakteri**

Media adalah suatu bahan yang terdiri dari campuran zat makanan yang di perlukan untuk menumbuhkan suatu mikroorganisme dalam rangka isolasi memperbanyak perhitungan dan pengujian sifat fisiologisnya. Untuk mendapatkan lingkungan hidup yang cocok bagi pertumbuhan bakteri atau jamur, maka media harus memiliki syarat dalam hal sebagai berikut:

1. Susunan makanan suatu media yang digunakan untuk pertumbuhan harus ada air, sumber karbon, sumber nitrogen, mineral, vitamin dan gas

2. Tekanan osmosa sel mikroba dengan media harus memiliki tekanan osmosa yang sama.Oleh karena itu untuk pertumbuhannya, bakteri atau jamur membutuhkan media yang isotonis. Bila sel bakteria ditempatkan pada media yang bersifat hipertonis, maka sel bakteria akan terhidrasi atau kerap disebut sebagai peristiwa plasmolisis, dan jika sel di tempatkan pada media yang bersifat hipotonis, maka akan terjadi peristiwa plasmolysis

3. Derajat keasaman (pH) umumnya mikroorganisme membutuhkan media dengan pH sekitar 7 yaitu netral untuk tetap bertahan hidup

4. Temperatur Pertumbuhan mikroorganisme yang optimal membutuhkan temperatur tertentu. Pada umumnya, mikroorganisme yang patogen membutuhkan temperatur sekitar 37ºC sesuai dengan temperatur tubuh inang

5. Sterilitas media merupakan suatu syarat yang sangat penting. Pemeriksaan mikrobiologis tidak mungkin dilakukan bila media yang di gunakan tidak steril. Apabila demikian, mikroorganisme yang di identifikasi atau di isolasi tidak akan dibedakan dengan pasti asalnya dari material yang diperiksa atau hanya kontaminan. Untuk mendapatkan media yang steril, maka setiap tindakan (pengambilan media, penuangan media, dan lain-lain) harus di kerjakan secara aseptik dan alat yang di gunakan harus steril (Irawan et al., 2021).

**2.8 Mikroorganisme**

Mikroorganisme atau mikroba adalah organisme yang berukuran kecil atau organisme ber sel tunggal yang hanya dapat dilihat dengan menggunakan mikroskop. Kelompok mikroba antara lain protozoa, alga, jamur, bakteri dan virus. Dunia mikroorganisme sangat luas sehingga perlu dikelompokkan atau pengklasifikasian untuk mempermudah menggolongkannya (Rini, 2020)

Adapun manfaaat dari Mikroorganisme sebagai berikut :

1. Pemanfaatan mikroba dalam proses-proses pembuatan makanan dan minuman contoh khamir untuk membuat anggur dan roti, bakteri asam laktat untuk yogurt dan kefir, bakteri asam asetat untuk vinegar, jamur Aspergillus sp. untuk kecap, dan jamur Rhizopus sp. untuk tempe.

2. Pemanfaatan mikroba untuk memproduksi antibiotik contohnya yaitu penisilin oleh jamur Penicillium sp., streptomisin oleh actinomysetes Streptomyces sp.

3. Pemanfaatan mikroba untuk proses-proses yang modern contohnya karotenoid dan steroid oleh jamur, asam glutamat oleh mutan

Corynebacterium glutamicum, pembuatan enzim amilase, proteinase, pektinase, dan lain-lain.

4. Pemanfaatan mikroba pada teknik genetika modern seperti pemindahan gen dari manusia, binatang, atau tumbuhan ke dalam sel mikroba, penghasilan hormon, antigen, antibodi, dan senyawa lain contohnya insulin, interferon, dan lain-lain.

5. Pemanfaatan mikroba pada bidang pertanian, contohnya pupuk hayati

(biofertilizer), biopestisida, pengomposan, dan sebagainya.

6. Pemanfaatan mikroba pada bidang pertambangan, seperti untuk proses leaching di tambang emas, desulfurisasi batubara, maupun untuk proses penambangan minyak bumi.

7. Pemanfaatan mikroba pada bidang lingkungan contohnya untuk mengatasi pencemaran limbah organik maupun anorganik termasuk logam berat dan senyawa xenobiotic (Rini, 2020).

**2.9 Sterilisasi**

Metode sterilisasi merupakan proses pengelolaan alat atau bahan yang bertujuan untuk menghancurkan semua bentuk kehidupan mikroba termasuk endospora yang dilakukan proses kimia atau fisika (Rini, 2020).

**2.9.1 Metode Sterilisasi Fisik**

1. Sterilisasi kering (Panas Kering)

a. Pemijaran

Pemijaran merupakan suatu medote sterilisasi dengan membakar langsung alat– alat seperti ujung ose, ujung spatula, serta ujung pinset yang berbahan logam hingga alat – alat tersebut berwarna merah pijar.

b. Flaming (Jilatan Api)

Metode ini dilakukan cukup dengan jilatan api yang hanya melewatkan alat– alat seperti jarum, kaca objek, cawan petri yang berisi media dan mulut Erlenmeyer yang berisi media pada nyala api Bunsen dan tidak sampai memijar.

c. Udara Panas

Alat yang digunakan dalam metode ini adalah oven dengan suhu yang berkisar di 160°C -180°C selama 1 – 2 jam. Penyusupan panas ke dalam bahan dengan metode ini berlangsung sangat lambat, oleh karena itu pada saat dilakukan sterilisasi harus dalam lapisan tipis dan jumlah yang sedikit serta di lindungi dengan wadah tertutup dengan cara membungkus atau menyumbat untuk mencegah kontaminasi setelah dikeluarkan dari oven. Metode ini baik digunakan terhadap alat

– alat kering yang terbuat dari kaca, seperti tabung reaksi, pipet, cawan petri, alat suntik kaca, botol sampel, pinset, gunting dan bahan – bahan yang tidak tembus uap seperti minyak, vaselin, bubuk, gliserin dan atau apa saja yang tidak menjadi rusak, hangus, menyala atau menguap pada suhu tinggi (Rini, 2020).

2. Sterilisasi Basah (Panas Basah)

a. Uap Bertekanan

Dalam metode ini menggunakan autoklaf dalam keadaan jenuh dan peningkatan tekanan yang mengakibatkan suhu yang tercapai menjadi lebih tinggi. Sterilisasi dengan cara ini menggunakan suhu 121°C selama 15 - 20 menit dengan tekanan 1 atm. Udara yang berada didalam autoklaf harus dikeluarkan semuanya untuk memperoleh suhu yang diinginkan (121°C).

Alat dan bahan yang disterilkan menggunakan cara ini akan dilewati oleh uap panas selama proses sterilisasi berlangsung. Sehingga bahan – bahan yang

disterilkan dengan cara ini harus yang bersifat permeable terhadap uap panas dan tidak rusak pada suhu 110°C - 121°C. Panas lembab sangat efektif dalam mensterilkan bahan dan alat meskipun pada suhu yang tidak terlalu tinggi, karena ketika uap air berkondensasi pada bahan dan alat yang disterilkan, dilepaskan panas sebanyak 686 kalori per gram uap air di suhu 121°C. Sterilisasi ini efektif untuk semua mikro organisme, baik vegetative maupun spora. Beberapa hal yang menjadi prinsip pada sterilisasi dengan autoklaf adalah :

1) Sterilisasi bergantung pada uap, sehingga udara harus benar – benar dikosongkan dari sterilisator.

2) Semua bagian bahan yang disterilkan harus benar – benar dilalui oleh uap panas, sehingga tabung kosong dan tabung sebaiknya diletakkan dengan posisi tidur agar udara tidak terperangkap didasarnya

3) Bahan – bahan yang berpori atau yang berbentuk cair harus permeable terhadap uap.

4) Suhu harus mencapai 121°C dan dipertahankan selama 15 – 20 menit.

**2.9.2 Metode Sterlisasi Kimia**

Metode sterilisasi kimia dilakukan dengan menggunakan bahan kimia yang berfungsi sebagai agen antimikroba yang dapat mengontrol pertumbuhan mikroba. Metode sterilisasi kimia dapat dilakukan dengan menggunakan agen antimikroba sebagai berikut :

1. Sterilan atau sporosida yang digunakan untuk membunuh sel mikroba termasuk endospora. Senyawa antimikroba ini digunakan pada kondisi yang tidak memungkinkan untuk dilakukan sterilisasi menggunakan panas dan radiasi. Contohnya penggunaan etilen oksida, formaldehid, dan asam

peroksi asetat secara rutin untuk dekontaminasi peralatan yang sensitif terhadap panas, seperti termometer, kateter, atau respirometer.

2. Disinfektan merupakan bahan kimia yang digunakan untuk membunuh sel mikroba, namun masih memungkinkan endospora untuk bertahan, dan penggunaannya ialah pada permukaan benda. Contohnya penggunaan deterjen dan alkohol untuk membersihkan lantai, meja, dan lain sebagainya.

3. Antiseptik (germisida) merupakan senyawa kimia yang digunakan untuk membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroba, namun cenderung lebih bersifat tidak toksik terhadap jaringan hidup, sehingga dapat diaplikasikan pada secara rutin untuk dekontaminasi peralatan yang sensitif terhadap panas, seperti termometer, kateter, atau respirometer.

**2.9.3 Metode Sterilisasi Mekanik**

Metode Sterilisasi mekanik bisa dilakukan dengan metode filtrasi, filtrasi merupakan pemindahan bahan - bahan partikulat dari suatu cairan mengalir.Sterilisasi filtrasi adalah suatu proses pemindahan, tetapi tidak menghancurkan mikroorganisme. Filtrasi merupakan salah satu metode sterilisasi paling tua yang merupakan metode pilihan untuk larutan yang tidak stabil pada proses sterilisasi (Rini, 2020).

**2.10 Faktor Pertumbuhan Bakteri**

Pertumbuhan merupakan proses bertambahnya ukuran atau subtansi atau masa zat suatu organisme, manusia dapat disebut tumbuh apabila bertambah tinggi, besar atau berat. Sedangkan pada organisme bersel satu pertumbuhan didefinisikan sebagai pertumbuhan koloni yakni jumlah koloni yang bertambah, ukuran koloni yang semakin besar, masssa mikroba dalam koloni semakin banyak. Definisi dari

Pertumbuhan mikroba yaitu pertambahan jumlah sel pada mikroba tersebut. Definisi koloni yaitu kumpulan dari beberapa mikroba yang mempunyai persamaan sifat seperti bentuk, susunan permukaan (Zain et al., 2021).

Faktor lingkungan dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroba. Segala perubahan lingkungan dapat mempengaruhi morfologi dan fisiologi mikroba. Pertumbuhan mikroorganisme dipengaruhi oleh banyak faktor, baik faktor biotik maupun faktor abiotik. Faktor biotik ada yang dari dalam dan ada faktor biotik dari lingkungan.

Faktor biotik dari dalam menyangkut bentuk mikroorganisme, sifat mikroorganisme dalam merespon perubahan lingkungan, kemampuan menyesuaikan diri (adaptasi). Lingkungan biotik berhubungan dengan keberadaan organisme lain didalam lingkungan hidup mikroorganisme yang bersangkutan

Faktor abiotik meliputi susunan dan jumlah senyawa yang dibutuhkan di dalam medium kultur, lingkungan fisik (suhu, kelembaban, cahaya), keberadaan senyawa-senyawa lain yang dapat bersifat toksik, penghambat, atau pemacu, baik yang berasal dari lingkungaan maupun yang dihasilkan sendiri. Faktor lingkungan tersebut antara lain:

1. Suhu/temperatur

Suhu merupakan salah satu faktor penting di dalam mempengaruhi dan pertumbuhan mikroorganisme. Setiap bakteri memiliki temperatur optimal dimana mereka dapat tumbuh sangat cepat dan memiliki rentang temperatur dimana mereka dapat tumbuh. Suhu untuk pertumbuhan terdiri atas suhu minimum, suhu optimum, dan suhu maksimum. Suhu minimum yaitu suhu terendah tetapi mikroba masih

dapat hidup. Suhu optimum yaitu suhu paling baik untuk pertumbuhan mikroba. Suhu maksimum yaitu suhu tertinggi untuk kehidupan mikroba.

2. pH

pH medium biakan mempengaruhi kecepatan pertumbuhan, untuk pertumbuhan bakteri juga terdapat rentang pH dan pH optimal. Pada bakteri patogen pH optimalnya 7,2 – 7,6. Meskipun medium pada awalnya dikondisikan dengan pH yang dibutuhkan untuk pertumbuhan tetapi, secara bertahap besarnya pertumbuhan akan dibatasi oleh produk metabolit yang dihasilkan mikroorganisme tersebut.

3. Kelembaban

Mikroorganisme mempunyai nilai kelembaban optimum. Mikroba dapat tumbuh pada media yang basah dan udara lembab. Nilai kadar air bebas didalam larutan untuk bakteri pada umumnya antara 0,90 sampai 0,999.

4. Ketersediaan Oksigen

Berdasarkan kebutuhan oksigennya mikroba dikelompokkan menjadi:

a) Aerobik : hanya dapat tumbuh apabila ada oksigen bebas.

b) Anaerob : hanya dapat tumbuh apabila tidak ada oksigen bebas.

c) Anaerob fakultatif : dapat tumbuh baik dengan atau tanpa oksigen bebas. d) Mikroaerofilik : dapat tumbuh apabila ada oksigen dalam jumlah kecil.

5. Tekanan Osmosis

Tekanan osmosis sangat mempengaruhi bakteri. Jika tekanan osmosis lingkungan lebih besar (hipertonis) sel akan mengalami plasmolisis (keluarnya cairan dari sel bakteri melalui membran sitoplasma). Jika tekanan osmosis lingkungan hipotonis akan menyebabkan sel membengkak serta mengakibatkan rusaknya sel. Oleh karena itu, dalam mempertahankan hidupnya sel bakteri harus

berada pada tingkat tekanan osmosis yang sesuai walaupun sel bakteri memiliki daya adaptasi, perbedaan tekanan osmosis dengan lingkungannya tidak boleh terlalu besar.

6. Nutrisi

Nutrisi diperlukan oleh mikroba untuk sebagai sumber energi dan pertumbuhan selnya. Unsur-unsur dasar tersebut adalah karbon, nitrogen, hidrogen, oksigen, sulfur, fosfor, zat besi dan sejumlah kecil logam lainnya. Kekurangan sumber- sumber nutrisi ini dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroba hingga pada akhirnya dapat menyebabkan kematian.

7. Radiasi

Radiasi yang berbahaya bagi mikroorganisme yaitu radiasi pengionisasi yang memiliki arti radiasi dari gelombang panjang yang sangat pendek dan berenergi sehingga atom kehilangan elektron (ionisasi). Ditingkat rendah radiasi pengionisasi dapat menyebabkan mutasi dan lama-kelamaan dapat menyebabkan kematian

**2.11 Uji Aktivitas Antibakteri**

Uji aktivitas antibakteri merupakan suatu metode untuk menentukan tingkat kerentanan bakteri terhadap senyawa antibakteri. Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan 3 metode yaitu:

**1. Metode difusi**

Penentuan aktivitas antibakteri pada metode ini didasarkan pada kemampuan difusi dari zat antibakteri dalam lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa ada atau tidaknya zona hambat atau zona bening yang akan terbentuk.

Pada metode difusi ada 3 cara yang sering dilakukan yaitu:

a. Cara cakram (disk) Cara ini yang paling sering dilakukan untuk menentukan kepekaan mikroorganisme terhadap berbagai macam zat antibakteri. Pada cara ini, digunakan suatu cakram kertas saring (paper disk) yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antibakteri. Paper disk tersebut kemudian diletakkan pada lempeng agar yang telah di inokulasikan mikroorganisme uji, kemudian di inkubasi pada waktu tertentu dan suhu tertentu, sesuai dengan kondisi optimum dari mikroorganisme uji. Hasil pengamatan yang diperoleh berupa ada atau tidaknya daerah bening yang terbentuk di sekeliling paper disk yang menunjukkan zona hambat atau zona bening pada pertumbuhan mikroorganisme.

b. Cara silinder dilakukan dengan meletakkan beberapa silinder di atas media agar yang telah di inokulasi dengan bakteri dan diisi dengan larutan yang akan diuji dan diinkubasi. Setelah di inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekililing silinder.

c. Cara sumuran (hole/cup) Lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan mikroorganisme uji dibuat suatu lubang yang selanjutnya di isi dengan zat antimikroba uji. Kemudian setiap lubang itu di isi dengan zat uji. Setelah itu, media di inkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan mikroorganisme uji hasil pengamatan yang akan di peroleh berupa ada atau tidaknya zona hambat yang akan terbentuk di sekitar lubang (Nurhayati et al., 2020).

**2. Metode dilusi**

Metode ini dilakukan dengan mencampurkan zat antibakteri dan media agar yang kemudian di inokulasikan dengan mikroorganisme uji. Hasil pengamatan yang akan di peroleh berupa tumbuh atau tidaknya bakteri didalam media. Aktivitas zat antimikroba ditentukan dengan melihat konsentrasi hambat minimum (KHM) yang merupakan konsentrasi terkecil dari zat antimikroba uji yang masih memberikan efek penghambatan terhadap pertumbuhan mikroorganisme uji. Metode dilusi terdiri atas dua cara yaitu pengenceran serial dalam tabung dan penipisan lempeng agar.

**3. Metode difusi-dilusi**

Tes epsilometer atau yang biasa disebut dengan e-test merupakan metode kuantitatif untuk uji antimikroba. Metode ini termasuk gabungan antara metode dilusi dan metode difusi antimikroba ke dalam media. Metode ini di lakukan dengan menggunakan strip plastic yang sudah mengandung antibakteri dengan konsentrasi terendah sampai konsentrasi tertinggi yang diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme. Hambatan pertumbuhan mikroorganisme bisa di amati dengan adanya area jernih di sekitar strip tersebut (Adang, 2021).

**2.12 Standar Kekeruhan Mc Farland**

Standar Mc Farland dapat digunakan untuk melihat perkiraan konsentrasi sel dalam suspense. Skala Mc Farland mewakili konsentrasi spesifik dari CPU/mL dan di rancang agar di gunakan untuk memperkirakan konsentrasi bakteri gram positif dan gram negatif. Sebagai catatan bahwa perkiraan ini menjadi tidak pasti dengan organisme di luar penggunaan normal, seperti spesies yang berbeda dari bakteri dapat berbeda dalam ukuran massa, seperti halnya ragi dan jamur. Keuntungan dari

penggunaan standar ini adalah tidak ada waktu inkubasi atau peralatan yang diperlukan untuk memperkirakan jumlah bakteri. Standar Mc Farland dapat digunakan untuk melihat perkiraan konsentrasi sel dalam suspensi. Skala Mc Farland mewakili konsentrasi spesifik dari CFU/ mL dan dirancang agar digunakan untuk memperkirakan konsentrasi bakteri Gram positif dan Gram negatif. (Aviany

& Pujiyanto, 2020).

**2.13 Diameter Zona Hambat**

Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri menunjukkan sensitifitas bakteri terhadap zat antibakteri. Selanjutnya dikatakan bahwa semakin lebar diameter zona hambat yang terbentuk bakteri tersebut semakin sensitif (Zain et al., 2021)

Faktor-faktor yang mempengaruhi zona hambat adalah**:**

1. Kekeruhan suspensi bakteri: apabila suspensi bakteri kurang keruh, maka zona hambat lebih besar, apabila lebih keruh, maka diameter zona hambatan makin sempit.

2. Waktu pengeringan/pengepresan suspensi bakteri : waktu pengeringan tidak boleh lebih dari batas waktu yang dibolehkan, karena dapat mempersempit

3. Temperatur inkubasi: untuk memperoleh pertumbuhan bakteri yang optimal inkubasi dilakukan pada suhu 37o C.

4. Waktu inkubasi : waktu inkubasi umumnya dilakukan selama 16-18 jam.

Jika kurang dari 16 jam pertumbuhan bakteri belum sempurna sehingga sukar dibaca/diameter zona hambatan lebih besar. Jika waktu inkubasi lebih dari 18 jam pertumbuhan lebih sempurna sehingga zona hambatan makin sempit

**2.14 Simplisia dan pengolahannya**

**2.14.1 Simplisia**

Simplisia adalah bahan alam yang telah di keringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan, kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan tidak lebih dari 60oC (BPOM, 2014).Simplisia yang aman dan berkhasiat adalah simplisia yang tidak mengandung bahaya kimia, mikrobiologis, dan bahaya fisik, serta mengandung zat aktif yang berkhasiat. Ciri simplisia yang baik adalah dalam kondisi kering (kadar air < 10%), untuk simplisia daun, bila diremas bergemerisik dan berubah menjadi serpihan, simplisia bunga bila diremas bergemerisik dan berubah menjadi serpihan atau mudah dipatahkan, dan simplisia buah dan rimpang (irisan) bila diremas mudah dipatahkan. Dalam maserasi, bubuk kasar sampel tumbuhan disimpan dan dibiarkan mengalami kontak denganpelarut dalam wadah tertutup untuk jangka waktu tertentu yang disertai dengan pengadukan hingga komponen sampel tumbuhan ada yang larut. Metode ini paling cocok untuk digunakan dalam kasus senyawa kimia tumbuhanyang tidak tahan panas (termolabil) (Julianto, 2019).

**2.14.2 Proses Pembuatan simplisia**

Proses Pembuatan Simplisia Setelah dilakukan pemanenan bahan baku simplisia, maka tahapan penanganan pasca panen adalah sebagai berikut:

**1. Pengumpulan Bahan Baku**

Kadar senyawa aktif dalam suatu simplista berbeda-beda antara lain tergantung pada bagian tanaman yang digunakan, umur tanaman atau bagian tanaman pada saat panen, waktu panen, dan lingkungan tempat tumbuh. Waktu panen sangat erat hubungannya dengan pembentukan senyawa aktif di dalam bagian tanaman yang

akan dipanen. Waktu panen yang tepat pada saat bagian tanaman tersebut mengandung senyawa aktif dalam jumlah yang terbesar. Senyawa aktif terbentuk secara maksimal di dalam bagian tanaman atau tanaman pada umur tertentu (Depkes RI, 1985).

**2. Sortasi basah**

Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya dari bahan simplisia. Misalnya pada simplisia yang dibuat dari akar suatu tanaman obat, bahan-bahan asing seperti tanah, kerikil, rumput, batang, daun, akar yang telah rusak, serta kotoran lain. Tanah mengandung mikroba dalam jumlah yang tinggi. Oleh karena itu pembersihan simplisia dari tanah yang terikut dapat mengurangi jumlah mikroba awal (Depkes RI, 1985).

**3. Pencucian**

Dilakukan untuk menghilangkan tanah dan kotoran lain yang melekat pada bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan air bersih misalnya dari mata air, air sumur atau air PAM. Simplisia yang mengandung zat yang mudah larut di dalam air, pencucian agar dilakukan dalam waktu yang sesingkat mungkin. Menurut (Frazier, 1978 dalam Depkes, 1985). Cara sortasi dan pencucian sangat mempengaruhi jenis dan jumlah mikroba awal simplisia. Misalnya jika air yang digunakan untuk pencucian kotor, maka jumlah mikroba pada permukaan bahan simplisia dapat bertambah dan air yang 10 terdapat pada permukaan bahan tersebut dapat mempercepat pertumbuhan mikroba. Pada simplisia akar, batang atau buah dapat pula dilakukan pengupasan kulit luarnya untuk mengurangi jumlah mikroba awal karena sebagian besar mikroba biasanya terdapat pada permukaan bahan

simplisia. Bahan yang telah dikupas tersebut mungkin tidak memerlukan pencucian jika cara pengupasannya dilakukan dengan tepat dan bersih (Depkes RI, 1985).

**4. Perajangan**

Perajangan bahan simplisia dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan dan penggilingan. Tanaman yang baru diambil jangan langsung dirajang tetapi dijemur dalam keadaan utuh selama satu hari. Perajangan dapat dilakukan dengan pisau, dengan alat mesin perajang khusus sehingga diperoleh irisan tipis atau potongan dengan ukuran yang dikehendaki. Semkain tipis bahan yang dikeringkan, semakin cepat penguapan air, sehingga mempercepat waktu pengeringan. Akan tetapi irisan yang terlalu tipis juga dapat menyebabkan berkurangnya atau hilangnya zat yang berkhasiat yang mudah menguap, sehingga mempengaruhi komposisi, bau, dan rasa yang diinginkan. Oleh karena itu bahan simplisia seperti temulawak, temu giring, jahe, kencur dan bahan sejenis lainnya dihindari perajangan yang terlalu tipis untuk mencegah berkurangnya minyak atsiri. Penjemuran sebelum perajangan diperlukan untuk mengurangi pewarnaan akibat reaksi atara bahan dan logam pisau. Pengeringan dilakukan dengan sinar matahari selama satu hari (Depkes RI, 2000).

**5. Pengeringan**

Pengeringan simplisia dilakukan dengan menggunakan sinar matahari atau menggunakan suatu alat pengeringan. Hal-hal yang perlu diperhatikan selama proses pengeringan adalah suhu pengeringan, kelembaban udara, aliran udara, waktu pengeringan dan luas permukaan bahan. Pada pengeringan bahan simplisia tidak dianjurkan menggunakan alat dari plastik. Selama proses pengeringan bahan simplisia, faktor–faktor tersebut harus di perhatikan sehingga diperoleh simplisia

kering yang tidak mudah mengalami kerusakan. Tandanya simplisia sudah kering adalah mudah meremah bila diremas atau mudah patah. Menurut persyaratan obat tradisional pengeringan dilakukan sampai kadar air tidak lebih dari 10%. Cara penetapan kadar air dilakukan menurut yang tertera dalam Farmakope Indonesia (Depkes RI, 1985).

**6. Sortasi kering**

Sortasi setelah pengeringan sebenarnya merupakan tahap akhir pembuatan simplisia. Tujuan sortasi untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian- bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotoran-pengotoran lain yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering. Proses ini dilakukan sebelum simplisia dibungkus untuk kemudian disimpan. Seperti halnya pada sortasi awal, sortasi disini dapat dilakukan dengan atau secara mekanik. Pada simplisia bentuk rimpang, seiring jumlah akar yang melekat pada rimpang terlampau besar dan harus dibuang. Demikian pula adanya partikel-partikel pasir, besi dan benda-benda tanah lain yang tertinggal harus dibuang sebelum simplisia dibungkus (Depkes RI, 1985).

**7. Pengepakan dan penyimpanan**

Cara pengemasan simplisia tergantung pada jenis simplisia dan tujuan penggunaan pengemasan. Wadah harus bersifat tidak beracun dan tidak bereaksi (*inert*) dengan isinya sehingga tidak menyebakan terjadinya reaksi serta penyimpangan warna, bau, rasa pada simplisia. Selain dari itu wadah harus melindungi simplisia dari cemaran mikroba, kotoran dan serangga serta mempertahankan senyawa aktif yang mudah menguap atau mencegah pengaruh sinar, masuknya uap air dan gas-gas lainnya yang dapat menurunkan mutu simplisia. Untuk simplisia yang tidak tahan terhadap sinar, misalnya yang

mengandung banyak vitamin. pigmen dan minyak. diperlukan wadah yang melindungi simplisia terhadap haya, misalnya aluminium foil, plastik atau botol yang ber warna gelap, kaleng dan sebagainya. Pengepakan dapat dilakukan dengan berat/jumlah tertentu dan disusun secara berlapis-lapis untuk memudahkan penentuan dosis dan penjualannya. Sebagai contoh misalnya serbuk simplisia dapat dibungkus dengan kertas untuk setiap berat tertentu. Wadah tersebut dapat di masukkan kedalam pembungkus kerta yang beretiket. Penyimpanan simplisia kering biasanya dilakukan pada suhu kamar (15°C - 30°C), tetapi dapat pula di lakukan di tempat sejuk (5°C - 15°C), atau tempat dingin (0°C - 5°C), tergantung dari sifat - sifat dan ketahanan simplisia tersebut. Kelembaban udara di ruang penyimpanan simplisia kering sebaiknya di usahakan serendah mungkin untuk mencegah terjadinya penyerapan uap air. Simplisia harus disimpan dalam ruangan penyimpanan khusus atau dalam gudang simplisia, terpisah dari tempat penyimpanan bahan lainnya ataupun penyimpanan alat-alat. Gudang simplisia harus mempunyai bentuk dan ukuran yang sesuai dengan fungsinya, dibuat dengan konstruksi permanen yang cukup kuat dan dipelihara dengan baik. Baik di bagian dalam maupun lingkungan disekitarnya perlu dijaga kebersihan dan sanitasinya, serta dibebaskan dari kemungkinan pengotoran atau pencemaran lingkungan gudang harus mempunyai ventilasi udara yang cukup baik dan bebas dari kebocoran dan kemungkinan kemasukan air hujan. Walaupun memerlukan penerangan yang cukup pada siang hari harus dicegah masuknya matahari yang langsung menyinari simplisia yang di simpan. Cara penyimpanan simplisia dalam gudang harus diatur sedemikian rupa, sehingga tidak menyulitkan pemasukan dan pengeluaran bahan simplisia yang disimpan. Untuk simplisia yang sejenis harus diberlakukan prinsip

"pertama masuk pertama keluar", untuk itu perlu dilakukan administrasi pergudangan yang teratur dan rapi (Depkes RI, 1985).

**2.14.3 Karakterisasi Simplisia**

Standarisasi simplisia merupakan salah satu tahapan penting dalam pengembangan obat bahan alam yang berasal dari tanaman. Untuk menjamin keseragaman mutu dari bahan alam yang berasal dari tanaman. Untuk menjamin mutu keseragaman dari bahan alam yang diformulasikan dalam suatu sediaan farmasi maka diperlukan suatu proses standarisasi untuk menjamin keseragaman mutu produk (Depkes RI, 2000).

1. Makroskopik

Uji makroskopik bertujuan untuk menentukan ciri khas simplisia dengan pengamatan secara langsung organoleptis simplisia yaitu bentuk, warna, rasa dan bau (Paramita et al, 2019).

2. Mikroskopik

Pengujan mikroskopik mencakup pengamatan terhadap bagian simplisia dan fragmen dalam bentuk sel, isi sel atau jaringan tanaman serbuk simplisia yang dilakukan pengamatan di bawah mikroskop (Paramita et al., 2019).

3. Kadar Air

Parameter kadar air adalah pengukuran kandungan air yang berada dalam bahan, yang bertujuan untuk memberikan batasan minimal rentang besarnya kandungan air dalam bahan (Depkes RI, 2000).

4. Kadar Sari Larut Air

Penetapan kadar sari larut air dan etanol dilakukan untuk memberikan gambaran kadar persentase senyawa yang dapat tenari dengan menggunakan pelarut etanol dan air suatu simplisia (Depkes RI, 2000).

5. Kadar Sari Larut Etanol

Penetapan kadar sari larut etanol bertujuan untuk mengetahui kadar persentase pada kelarutan senyawa metabolit pada tumbuhan dengan menggunakan pelarut etanol.

6. Kadar Abu Total

Penentuan kadar abu ditentukan dengan cara pemanasan pada temperatur tertentu sehingga senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap, dengan begitu hanya ada unsur mineral saja dan unsur anorganik yang tertinggal. Parameter kadar abu berkaitan dengan kontaminasi dan kemurnian dari suatu ekstrak (Depkes RI, 2000).

7. Kadar Abu Tidak Larut Asam

Penetapan kadar abu tidak larut asam bertujuan untuk melihat kadar abu yang diperoleh secara eksternal.

**2.15 Skrining Fitokimia**

Skrining fitokimia merupakan metode yang digunakan untuk mempelajari komponen senyawa aktif yang terdapat pada sampel, yaitu mengenai struktur kimianya, biosintesisnya, penyebarannya secara alamiah dan fungsi biologisnya, isolasi dan perbandingan komposisi senyawa kimia dari bermacam - macam jenis tanaman. Letak geografis, suhu, iklim dan kesuburan tanah suatu wilayah sangat menentukan kandungan senyawa kimia dalam suatu tanaman. Sampel tanaman

yang digunakan dalam uji fitokimia dapat berupa daun, batang, buah, bunga dan akarnya yang memiliki khasiat sebagai obat dan digunakan sebagai bahan mentah dalam pembuatan obat modern maupun obat-obatan tradisional (Novriyanti et al.,

2022).

Metode yang digunakan pada skrining fitokimia seharusnya memenuhi beberapa kriteria berikut, antara lain adalah sederhana, cepat, hanya membutuhkan peralatan yang sederhana, khas untuk satu golongan senyawa, memiliki batas limit deteksi yang cukup lebar (dapat mendeteksi keberadaan senyawa meski dalam konsentrasi yang cukup kecil). Salah satu hal penting yang berperan dalam prosedur skrining fitokimia adalah pelarut yang digunakan untuk ekstraksi. Skrining fitokimia dari simplisia antara lain untuk menguji senyawa flavonoid, terpenoid, alkaloid, streroid, saponin, tanin, dan glikosida.

**2.16 Metabolit Sekunder**

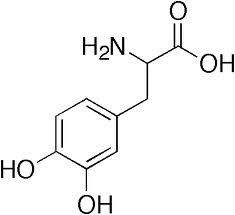
Metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang berfungsi sebagai pelindung tanaman dari gangguan hama penyakit dan tekanan abiotik lainnya. Senyawa kimia yang berasal dari metabolit sekunder tanaman telah banyak digunakan sebagai pewarna alami, pestisida nabati, pemberi aroma pada makanan, obat tradisional, dan lain-lain. Metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman mengandung banyak sekali senyawa bioaktif. Senyawa tersebut terbagi ke dalam beberapa golongan utama, yakni alkaloid, flavonoid, steroid, terpenoid, dan berbagai senyawa lainnya (Julianto, 2019).

**2.16.1 Alkaloid**

Alkaloid adalah kelompok metabolit sekunder terpenting yang ditemukan pada tumbuhan. Keberadaan alkaloid di alam tidak pernah berdiri sendiri. Golongan

senyawa ini berupa campuran dari beberapa alkaloid utama dan beberapa kecil. Definisi yang tepat dari istilah ‘alkaloid’ (mirip alkali) agak sulit karena tidak ada batas yang jelas antara alkaloid dan amina kompleks yang terjadi secara alami. Alkaloid khas yang berasal dari sumber tumbuhan, senyawa ini bersifat basa, mengandung satu atau lebih atom nitrogen (biasanya dalam cincin heterosiklik) dan mereka biasanya memiliki aktivitas fisiologis yang pada manusia atau hewan lainnya.

Kebanyakan alkaloid memiliki rasa pahit, bersifat basa lemah, dan sedikit larut dalam air dan dapat larut dalam pelarut organic non polar seperti dietil eter, kloroform dan lain-lain. Alkaloid pada dasarnya merupakan senyawa yang bersifat basa dengan keberadaan atom nitrogen dalam strukturnya, Asam amino berperan sebagai senyawa pembangun dalam biosintesis alkaloid. Alkaloid memiliki kelarutan yang khas dalam pelarut organik. Golongan senyawa ini mudah larut dalam salkohol dan sedikit larut dalam air. Garam alkaloid biasanya larut dalam air (Julianto, 2019).

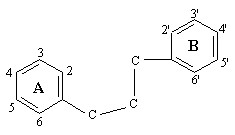


**Gambar 2.5** Alkaloid (Julianto, 2019).

**2.16.2 Flavanoid**

Flavonoid adalah salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman. Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa phenolik dengan struktur kimia C6-C3-C6. Lebih dari 2000 flavonoid yang

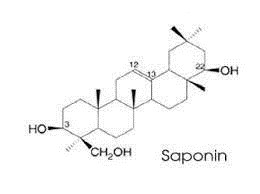
berasal dari tumbuhan tumbuhan telah di identifikasi, diantaranya senyawa antosianin, flavonol, dan flavon. Antosianin (dari bahasa Yunani anthos = bunga, kyanos, biru tua) adalah pigmen berwarna yang umumnya terdapat dibunga berwarna merah, ungu, dan biru. Pigmen ini juga terdapat diberbagai bagian tumbuhan lain, misalnya buah tertentu, batang, daun dan bahkan akar. Flavonoid sebagian besar terhimpun dalam vakuola sel tumbuhan walaupun tempat sintesisnya ada di luar vakuola (Julianto, 2019).



**Gambar 2.6** Flavanoid (Julianto, 2019)**.**

**2.16.3 Saponin**

Saponin adalah senyawa dalam bentuk glikosida yang tersebar luas pada tanaman tingkat tinggi serta beberapa hewan laut dan merupakan kelompok senyawa yang beragam dalam struktur, sifat fisikokimia dan efek biologisnya ((Julianto, 2019).



**Gambar 2.7** Saponin (Julianto, 2019).

**2.16.4 Tanin**

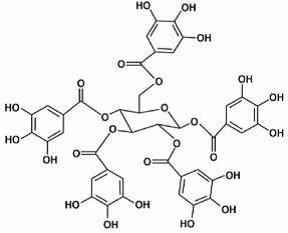
Tanin adalah suatu senyawa fenolik yang memberikan rasa pahit dan sepat/

kelat. Dapat bereaksi dan s protein atau senyawa organik lainnya yang mengandung

asam amino dan alkaloid. Senyawa-senyawa Tanin ditemukan pada banyak jenis tumbuhan. Senyawa ini berperan penting untuk melindungi tumbuhan dari pemangsaan oleh herbivora dan hama, serta sebagai agen pengatur dalam metabolisme tumbuhan. Tanin memiliki berat molekul berkisar antara 500 sampai

3000 (ester asam galat) dan lebih besar dari 20.000 (proantosianidin) (Julianto,

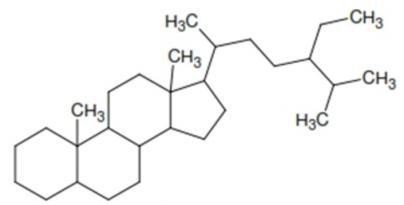
2019).



**Gambar 2.8** Tanin (Julianto, 2019)

**2.16.5 Triterpenoid / Steroid**

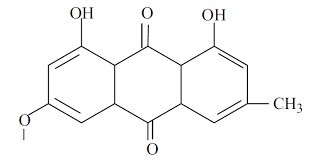
Senyawa terpenoid merupakan kelompok senyawa organik hidrokarbon yang melimpah yang dihasilkan oleh berbagai jenis tumbuhan. Senyawa ini pada umumnya memberikan bau yang kuat dan dapat melindungi tumbuhan dari herbivora. Dan predator. Terpenoid juga merupakan komponen utama dalam minyak atsiri dari beberapa jenis tumbuhan dan bunga (Julianto, 2019).



**Gambar 2.9** Tripernoid/Steroid (Julianto, 2019).

**2.16.6 Glikosida**

Glikosida adalah suatu senyawa metabolit sekunder yang berikatan dengan senyawa gula melalui ikatan glikosida. Glikosida memainkan peranan penting dalam sistem hidup suatu organisme. Beberapa tumbuhan menyimpan senyawa senyawa kimia dalam bentuk glikosida yang tidak aktif. Senyawa-senyawa kimia ini akan dapat kembali aktif dengan bantuan enzim hydrolase yang menyebabkan bagian gula putus, menghasilkan senyawa kimia yang siap untuk digunakan. Beberapa glikosida dalam tumbuhan digunakan dalam pengobatan. Bagian gula suatu glikosida terikat pada atom c anomerik membentuk ikatan glikosida. Glikosida dapat terikat oleh atom o-(o-gloikosida), N-(glikosida amin) S- (thioglikosida) (Julianto.2019).



**Gambar 2.10** Glikosida (Julianto.2019).

**2.17 Ekstraksi**

Ekstraksi adalah proses penarikan komponen aktif yang terkandung dalam tanaman menggunakan bahan pelarut yang sesuai dengan kelarutan komponen aktifnya. Struktur kimia yang berbeda - beda akan mempengaruhi kelarutan serta stabilitas senyawa-senyawa tersebut terhadap pemanasan, udara, cahaya, logam berat dan derajat keasaman. Dengan diketahuinya senyawa aktif yang dikandung simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstrak yang tepat.

Dengan diketahuinya senyawa aktif yang dikandung simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Depkes RI, 2000).

Air dan alkohol (etanol) serta campurannya adalah jenis pelarut yang diperbolehkan. Jenis pelarut lain seperti metanol, kloroform, heksana, toluen, aseton, biasanya digunakan sebagai pelarut untuk tahap pemurnian. Etanol dipertimbangakan sebagai larutan penyari karena lebih efektif, kapang dan kuman sulit tumbuuh dengan kadaretanol lebih dari 20%, tidak beracun, netral, absorbsinya baik, dapat bercampur dengan air pada segala pertimbangan. Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, kumarin, antrakuinon, flavonoid, steroid, dammar, dan klorofil. Dalam mengisolasi senyawa dari senyawa hijau, keberhasilan ekstraksi dengan etanol berkaitan langsung dengan seberapa jauh klorofil tertarik oleh pelarut itu. Bila pada ampas sampel sudah tidak berwarna hijau lagi, dapat dianggap semua senyawa berbobot molekul rendah telah terekstraksi (Depkes RI, 2000).

Ekstrak sendiri merupakan sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstrak senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan. Sebagian besar ekstrak dibuat dengan mengekstraksi bahan baku obat secara perkolasi Seluruh perkolat biasanya dipekatkan secara destilasi dengan 18 pengurangan tekanan, agar bahan sedikit mungkin terkena panas (Depkes RI, 2000).

Ekstrak cair adalah sediaan dari simplisia mabati yang mengandung etanol sebagai pelarut atau sebagai pengawet. Jika tidak dinyatakan lain pada masing-

masing monografi tiap mL ekstrak mengandung senyawa aktif dari 1g simplisia yang memenuhi syarat. Ekstrak cair yang cenderung membentuk endapan dapat didiamkan dan disaring atau bagian yang bening dienap tuangkan (dekantasi). Ekstrak cair dapat dibuat dari ekstrak yang sesuai (Depkes RI, 2000).

**2.18 Metode Ekstraksi**

2000).

Beberapa metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut (Ditjen POM,

1. Cara dingin a. Maserasi

Maserasi adalah proses penyarian simplisia dengan cara perendaman menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada temperatur kamar. Maserasi yang pengadukannya dilakukan secara terus-menerus disebut maserasi kinetik, sedangkan yang dilakukan dengan cara pengulangan penambahan pelarut setelah penyaringan terhadap maserat pertama dan seterusnya disebut remaserasi. Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari

b. Perkolasi

Perkolasi adalah proses penyarian simplisia dengan pelarut yang selalu baru sampai terjadi penyarian sempurna yang umumnya dilakukan pada temperatur kamar. Proses perkolasi terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahap perendaman antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak) terus menerus sampai diperoleh ekstrak.

2. Cara panas a. Refluks

Refluks adalah proses penyarian dengan menggunakan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Pada Teknik refluks bisa digunakan berbagai pelarut yang sifatnya sesuai dengan komponen yang akan diekstraksi. Di samping itu, pada refluks digunakan radas refluks yang disertai kondensor untuk menjaga volume pelarut dalam labu didih

b. Sokletasi

Sokletasi adalah proses penyarian dengan menggunakan pelarut yang selalu baru, umumnya dilakukan dengan menggunakan alat soklet sehingga terjadi ekstraksi berulang-ulang dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

c. Digesti

Digesti adalah proses penyarian dengan pengadukan berulang-ulang pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan, yaitu secara umum pada temperatur 40-50⁰C.

d. Infundasi

Infundasi adalah proses penyarian dengan menggunakan pelarut air pada temperatur 90°C selama waktu 15 menit. Infundasi umumnya digunakan untuk menyari kandungan zat aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Penyarian dengan cara ini menghasilkan sari yang tidak stabil dan mudah tercemar oleh kuman dan kapang. Oleh karena itu, sari yang diperoleh dengan cara ini tidak boleh disimpan lebih dari 24 jam.

e. Dekoktasi

Dekoktasi adalah teknik ekstraksi dengan cara merebus sampel dalam pelarut, ekstrak dipisahkan dari residu sampel dengan penyaringan. Perebusan sampel dilakukan dengan menggunakan pelarut berupa air. Pada ekstraksi dengan cara dekokta, komponen dalam sampel yang akan diekstrak perlu dipastikan tahan terhadap panas

**2.19 Uji Toksisitas**

Uji toksisitas adalah suatu uji yang dilakukan untuk mengetahui efek toksik dan ambang batas penggunaan suatu tumbuhan sebagai obat, bahaya akibat pemaparan suatu zat pada manusia dapat di ketahui dengan mempelajari efek komulatif, dosis yang dapat menimbulkan efek toksik pada manusia yang merupakan salah satu pengujian yang dilakukan untuk menilai keamanan suatu senyawa kimia yang umumnya informasi tersebut dapat diperoleh dari percobaan dengan hewan uji (Budiman & Hidayat, 2021).

Uji toksisitas dapat dilakukan menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test).* Uji toksisitas menggunakan metode BSLT bertujuan untuk mengetahui kadar kandungan senyawa yang berpotensi sebagai racun pada pertumbuhan sel. BSLT merupakan salah satu metode pengujian toksisitas menggunakan larva udang *Artemia salina Leach* sebagai hewan uji. Prinsip metode pengujian menggunakan BSLT berdasarkan senyawa aktif dan sifat toksiknya yang dapat membunuh larva udang Artemia salina Leach sebagai hewan uji. Metode ini dilakukan untuk melihat tingkat mortalitas larva udang *Artemia salina Leach* yang disebabkan oleh bahan uji. (Rosa Fatimah, 2020).

**2.20 *Metode Brine Shirmp Lethality Tes* (BSLT)**

Uji toksisitas banyak dilakukan menggunakan metode BSLT *(Brine Shrimp Lethality Test* merupakan uji pendahuluan/ praskrining aktivitas biologis yang sederhana untuk menentukan toksisitas suatu senyawa atau ekstrak secara akut menggunakan hewan coba. Pada pengujian BSLT dalam metode pengujian toksisitas menggunakan larva udang sebagai hewan uji. Metode ini dilakukan untuk melihat tingkat mortalitas larva udang *Artemia salina Leach* yang disebabkan oleh bahan uji. Hasil yang diperoleh dihitung sebagai LC50 (letal concentration) bahan uji, yaitu jumlah dosis atau konsentrasi bahan uji yang dapat menyebabkan kematian larva udang sejumlah 50% setelah masa inkubasi 24 jam. Perhitungan dilakukan dengan melihat larva *Artemia salina Leach* yang mati disetiap 24 jam dari setiap konsentrasi. Cara menghitung larva udang yang mati yaitu dilakukan dengan cara manual dengan bantuan pengelihatan mata di bawah penyinaran lampu agar larva *Artemia salina Leach* yang mati dapat terlihat dengan jelas (Rosa Fatimah 2020).

Suatu senyawa dikategorikan sangat toksik jika memiliki nilai LC50 kurang dari 30 ppm, dikategorikan toksik jika memiliki nilai LC50 30-1000 ppm, dan dikategorikan tidak toksik jika memiliki harga LC50 di atas 1000 ppm. Tingkat toksisitas tersebut juga dapat menunjukkan potensi aktivitasnya sebagai antikanker dimana semakin kecil nilai LC50 maka semakin toksik suatu senyawa dan berpotensi sebagai antikanker (Meyer et al., 1982).

**2.21 *Artemia Salina Leach***

*Artemia salina Leach* adalah sejenis udang- udangan primitif yang sudah dikenal cukup lama oleh Linnaeus pada tahun 1778 yang di beri nama Cancer

salinus. Kemudian oleh Leach diubah menjadi A. salina pada tahun 1819. A. salina merupakan salah satu komponen penyusun ekosistem 21 laut yang keberadaan sangat penting untuk perputaran energi dalam rantai makanan, selain itu Artemia salina Leach juga dapat digunakan dalam uji laboratorium untuk mendeteksi toksisitas suatu senyawa dari ekstrak tumbuhan (Pohan et al., 2023).

**2.21.1 Klasifikasi Artemia Salina Leach**

Kingdom : Animalia Phylum : Arthropoda Subphylum : Crustacea Class : Branchiopoda Ordo : Anostraca Family : Artemiidae Genus : Artemia

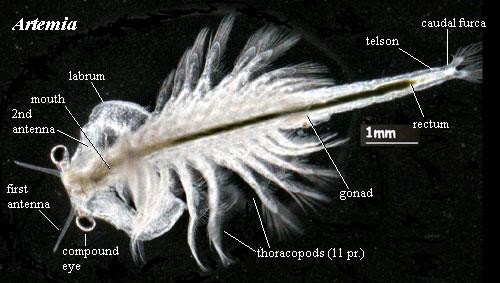
Species : *Artemia salina Leach*

**2.21.2 Morfologi *Artemia Salina Leach***

Artemia merupakan organisme kelompok udang dan satu keluarga dengan serangga. Diklasifikasikan sebagai organisme primitif dengan sistem pencernakan, peredaran darah, dan syaraf yang sederhana. Adapun siklus hidup dari Artemia salina leach dimulai dari kista atau telur, kemudian menjadi embrio, setelah menjadi embrio dia akan menjadi naupli, naupli inilah yang berenang bebas dan memulai hidupnya, dan dalam fase ini mulai mencari makanan untuk dirinya sendiri. Setelah itu menjadi Artemia dewasa. Artemia dewasa memiliki ukuran panjang tubuh 11-

13 mm tergantung asal habitatnya. Keberadaan Artemia di dunia terdistribusi di 80 danau garam alami, dan terbesar di Great Salt Lake (Utah). Artemia tidak dapat

menyeberang dari satu biotop ke biotop lain kecuali introduksi oleh hewan maupun manusia. Artemia secara alamiah memakan phytoplankton dan bakteri yang hidup pada salinitas tinggi (Wildan Khaidir Amarulloh & Yani Lukmayani, 2022).



**Gambar 2.11** *Artemia Salina Leach* Dewasa (Pohan et al., 2023)

Kista artemia berbentuk bulat dan berwarna cokelat. Diameternya bervariasi antara 224,7 - 267,0 mikrometer dan beratnya rata-rata 1,885 mikrogram. Dalam keadaan kering, kista artemia dapat disimpan bertahun-tahun tanpa kehilangan daya vigoritasnya atau kema mpuan untuk membentuk embrio. Secara anatomi, susunan kista artemia terdiri atas dua lapisan, yaitu karion dan selaput embrio. Bentuk artemia dewasa menyerupai udang kecil. Ukurannya hanya 10-20 mm, bagian kepala berukuran lebih besar dan kemudian mengecil hingga ke bagian ekor. Panjang ekor kurang lebih sepertiga dari total panjang tubuh. Dibagian kepala terdapat sepasang mata dan sepasang antenula. Pada bagian tubuh terdapat sebelas pasang kaki atau torakopoda. Antara ekor dan pasangan kaki paling belakang terdapat sepasang alat kelamin, masing-masing penis pada jantan dan ovarium pada betina. Individu artemia dewasa mencapai panjang antara 1 - 2 cm dan berat 10 mg, artemia menjadi dewasa setelah umur 14 hari dan dapat menghasilkan kista sebanyak 50-300 butir setiap 4 - 5 hari sekali. Kista artemia beratnya 3,6 mikogram.

Saat menetas berat artemia hanya 15 mikrogram dan panjangnya 0,4 mm. Umur maksimal artemia sekitar 6 bulan.

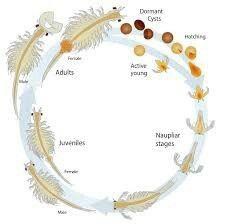
Artemia salina memiliki keistimewaan yaitu memiliki toleransi (kemampuan beradaptasi) pada kisaran garam yang sangat luas, waktu siklus hidup yang lebih cepat, dan mudah dibiakan. Bila bahan yang diuji memberikan efek toksik terhadap larva udang, maka hal ini merupakan indikasi awal dari efek farmakologi yang terkandung dalam bahan tersebut. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa A.salina memiliki korelasi positif terhadap ekstrak yang bersifat bioaktif (Meyer et al., 1982).

**2.21.3 Siklus Hidup *Artemia Salina Leach***

*Artemia Salina Leach* dibedakan menjadi dua golongan berdasarkan cara berkembang biaknya, antara lain perkembangbiakan secara biseksual dan partenogenetik. Keduanya dapat terjadi secara ovipar maupun ovovivipar. Pada jenis Artemia salina Leach ovovivipar, anakan yang keluar dari induknya sudah berupa arak atau burayak yang dinamakan nauplis, sehingga sudah langsung dapat hidup sebagai *A.salina Leach* muda. Sedangkan pada cara ovipar, yang keluar dari induknya berupa telur bercangkang tebal yang dinamakan sistem. Proses untuk menjadi nauplis masih harus melalui proses penetasan terlebih dahulu. Kondisi ovovivipar biasanya terjadi bila keadaan lingkungan cukup baik dengan kadar garam kurang dari 150 per mL dan kandungan oksigennya cukup. Oviparitas terjadi apabila keadaan lingkungan memburuk, dengan kadar garam lebih dari 150 per mil dan kandungan oksigennya kurang. Telur ini memang dipersiapkan untuk menghadapi keadaan lingkungan yang buruk, bahkan kering. Bila keadaan

lingkungan baik kembali,telur akan menetas dalam waktu 24-36 jam (Wildan

Khaidir Amarulloh & Yani Lukmayani, 2022).



**Gambar 2.12** Siklus Hidup *Artemia salina leach* (Pohan et al., 2023)

**2.22 Konsentrasi Letal (LC50)**

LC50 adalah konsentrasi dari suatu senyawa kimia di udara atau dalam air yang dapat menyebabkan 50% kematian pada suatu populasi hewan uji atau makhluk hidup tertentu. Penggunaan LC50 dimaksudkan untuk pengujian ketoksikan dengan perlakuan terhadap hewan uji secara berkelompok yaitu pada saat hewan uji dipaparkan suatu bahan kimia melalui udara maka hewan uji 24 tersebut aka menghirupnya atau percobaan toksisitas dengan media air. Nilai LC50 dapat digunakan untuk menentukan tingkat efek toksik suatu senyawa sehingga dapat juga untuk memprediksi potensinya sebagai antikanker (Jelita et al., 2020).

Menurut Meyer dkk. (1982) tingkat toksisitas dari ekstrak tanaman dapat ditentukan dengan melihat harga LC50-nya. Apabila harga LC50 lebih kecil dari

1000μg/mL dikatakan toksik, sebaliknya apabila harga LC50 lebih besar dari

1000μg/mL dikatakan tidak toksik.

**Tabel 2.1** Kategori Toksisitas Berdasarkan Nilai LC50 (Meyer et al, 1982)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| No. | Nilai LC50 | Kategori Toksik |
| 1 | <1000 | Toksik |
| 2 | >1000 | Tidak Toksik |

Sifat toksisitas dianalisis dengan menghitung % mortalitas larva Artemia salina pada setiap konsentrasi setelah 24 jam. Persentase kematian (% mortalitas)

untuk setiap variasi konsentrasi yang diujikan dihitung menggunakan persamaan

berikut:

% �𝑜��𝑎�𝑖�𝑎� = ��� �� ��� �� ���� 𝑥 100%

�����ℎ ����� ����� ����

Abbott (1925) dalam Meyeret al. (1982) mengatakan apabila pada kontrol terdapat larva yang mati, maka % kematian ditentukan dengan rumus:

*% mortalitas* =�����−������� 𝑥 100 %

�������

Setelah mengetahui % Mortalitas larva Artemia salina, kemudian dicari nilai probit dan diregresikan secara linier. Y = a + bx Keterangan:

Y = Nilai Probit

a = Konsentrasi regresi

b = Slope/kemiringan regresi

X = Logaritma 10 konsentrasi uji (Elsy Puspitasari, Rozirwan, 2018)