

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Daun Laruna

1. Klasifikasi Tanaman

Klasifikasi tumbuhan kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) sebagai berikut (Chakraborty *et al*, 2011):

Kingdom	: Plantae Super
Divisi	: Spermatophyta
Phylum	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Asteridae
Ordo	: Asterales
Famili	: Asteraceae
Genus	: Chromolaena
Spesies	: <i>Chromolaena odorata</i> L. King & H.E. Robins



Gambar 1. Daun Laruna (*Chromolaena odorata* L)

Beberapa provinsi di Indonesia juga memiliki sebutan khusus untuk daun laruna atau kopasanda. Orang Aceh menyebut daun laruna dengan nama sikhohkhoh, seurapok dan serunei. Sementara, orang Sumatera Utara menyebut daun laruna disebut dengan nama lenga-lenga, dan orang Makassar menyebutnya laruna atau kopasanda.

2. Morfologi

Daun laruna, tumbuhan yang mendiami daerah tropis, memiliki karakteristik yang mudah dikenali. Daunnya berbentuk oval dengan bagian bawah yang lebih lebar, panjang mencapai 6-10 cm, memiliki tangkai sepanjang 1-2 cm, dan lebar 3-6 cm. Daun ini menonjolkan tiga tulang daun yang jelas terlihat. Batangnya tegak, berkayu, dan dilapisi

rambut halus dengan corak garis-garis membujur sejajar. Tinggi tanaman dapat mencapai 5 meter atau lebih, dengan percabangan yang bercabang-cabang. Pangkal batang agak membulat dan ujungnya tumpul, sementara tepi daunnya bergerigi. Permukaan daun berbulu pendek dan kaku, memberikan bau yang khas ketika diremas. Cabangnya tumbuh berhadapan, dan saat berbunga, tampak majemuk dengan warna putih kotor. Selain itu, daun laruna dapat menghasilkan biji dalam jumlah besar yang mudah tersebar melalui angin, dibantu oleh rambut palpus. Tanaman ini berkembang biak baik melalui biji maupun stek batang (Thamrin et al., 2007).

3. Kandungan Kimia

Daun laruna berisi senyawa flavonoid, fenolik, steroid, terpenoid dan alkaloid yang terdapat pada bagian daun yang dapat berguna sebagai antibakteri (Sukarno, 2017). Daun laruna menghasilkan minyak essensial yang mengandung cadinene, α -pinene, β -cariofillene, champora, dan isomer cadinol.

4. Manfaat

Daun laruna memiliki khasiat yang berlimpah, tanaman ini dapat digunakan sebagai obat-obatan seperti anti jamur, anti jerawat, obat eksim, kulit pecah pecah, ketombe, antiseptik, dan mengurangi peradangan. Daun kirinyuh juga telah diaplikasikan pada manusia untuk membantu pembekuan darah akibat luka bisul atau borok (Vaisakh & Pandey, 2012).

B. Tanaman Sirsak

1. Klasifikasi Tanaman

Klasifikasi tanaman sirsak menurut United States Department of Agriculture (2014) , sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Subdivisi	: Spermatophyte
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Magnoliidae
Family	: Annonaceae
Genus	: Annona
Species	: <i>Annona muricata</i> L



Gambar 2. Daun Sirsak (*Annona muricata L.*)

Beberapa provinsi di Indonesia juga memiliki sebutan khusus untuk daun sirsak. Orang Jawa menyebut nangka sebrang dan nangka londo, orang sunda menyebut nangka walanda dan sirsak, orang Madura menyebut nangka buris, orang Bali menyebut srikaya Jawa, orang Aceh menyebut deureuyan belanda, orang Nias menyebut durio ulondro, orang Bugis menyebut surekaja, orang Lampung menyebut jambu landa, orang Minangkabau menyebut durian.

2. Morfologi

Daun sirsak memiliki bentuk yang menyerupai telur atau lanset, dengan ujung yang runcing, tepi daun yang rata, dan pangkal yang meruncing. Pertulangan daunnya menyirip, sementara panjang tangkainya mencapai 5 cm, dengan warna hijau kekuningan. Ukuran daun sirsak berkisar antara 8-16 cm, dan panjang tangkainya berkisar 3-7 mm. Bunga daun sirsak terletak pada batang atau ranting, memiliki kelopak kecil berwarna kuning keputih-putihan, dan benang sari yang banyak berambut (Hidayat, 2011).

3. Kandungan Kimia

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Sari et al. (2010) dan Puspitasari (2016), dapat disimpulkan bahwa daun sirsak memiliki kandungan fitokimia yang beragam, termasuk saponin, flavonoid, tanin, alkaloid, steroid, dan kumarin. Keberadaan senyawa-senyawa tersebut memberikan dampak positif, terutama flavonoid yang memiliki peran signifikan sebagai antioksidan untuk mencegah penyakit kanker, sifat antimikroba dan antivirus, serta fungsi sebagai pengatur dalam proses fotosintesis dan pertumbuhan tanaman. Temuan ini memberikan dukungan lebih lanjut terhadap potensi daun sirsak sebagai sumber bahan alami dengan manfaat kesehatan dan pertanian yang beragam.

4. Manfaat

Daun sirsak bermanfaat sebagai obat penyakit jantung, diabetes, dan anti kanker yang merupakan senyawa antioksidan serta sebagai antibakteri. Sirsak sebagai antibakteri diketahui memiliki spektrum luas yang aktivitas antibakterinya dapat membunuh bakteri Gram positif dan Gram negatif.

C. Kandungan Kimia Antibakteri dari Tanaman

1. Flavonoid

Flavonoid, sebagai kelompok senyawa fenol, menonjol dengan sifat polar yang memudahkan larut dalam pelarut seperti etanol, metanol, butanol, dan lainnya (Markham, 1998). Dalam golongan utamanya, flavonoid tidak hanya memiliki sifat antimikroba yang signifikan, tetapi juga menunjukkan beragam aktivitas biologis termasuk antibakteri, antijamur, antivirus, antiprotozoa, antioksidan, dan antiinflamasi (Cushnie dan Lamb, 2005). Dalam konteks antibakteri, flavonoid bekerja dengan cara mendenaturasi protein pada sel bakteri dan merusak membran sel, menjelaskan efektivitasnya sebagai agen antibakteri (Yunita, 2009).

Sebagai metabolit sekunder polifenol, struktur karbon flavonoid mengandung dua kelompok C6 (cincin benzena tersubstitusi) yang bergabung dengan rantai alifatik tiga atom karbon, yang menjelaskan rumus empiris senyawa ini sebagai C₆C₃C₆ (Yunita, 2009). Dalam peran sebagai agen antibakteri, flavonoid menunjukkan beberapa mekanisme aksi efektif, termasuk penghambatan sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma, dan menekan metabolisme energi bakteri (Nomer *et al.*, 2019). Temuan ini memberikan wawasan yang lebih mendalam tentang potensi flavonoid sebagai agen antimikroba yang berperan penting dalam berbagai bidang biologi dan kesehatan.

2. Alkaloid

Alkaloid memiliki sifat antibakteri, mekanismenya diyakini menyekat komponen dalam pengolahan peptidoglikan dalam sel bakteri, sampai menyebabkan dinding sel tidak membentuk sempurna dan bisa disebabkan kematian sel (Haryati *et al.*, 2015).

3. Minyak Atsiri

Minyak atsiri, yang juga dikenal sebagai essential oil, memiliki aroma khas yang membedakannya. Terdiri dari dua kelompok senyawa,

yaitu fenil propanoid dan terpenoid (Koensoemardiyyah, 2010), minyak atsiri digunakan sebagai agen antibakteri dengan mekanisme yang melibatkan perubahan bentuk membran atau dinding sel, sehingga tidak terbentuk atau terbentuk secara tidak sempurna. Aktivitas antimikroba dalam minyak atsiri, yang ditanggung jawabkan oleh tanaman, melibatkan fungsi hidroksil (OH) dan karbonil (Rachmawaty et al., 2018).

4. Saponin

Senyawa sebagai agen antibakteri karena surfaktan menyerupai deterjen, dengan demikian saponin menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan penurunan permeabilitas membran, sampai kelanjutkan hidup bakteri sangat terganggu (Harborne, 2006; Kurniawan dan Aryan, 2015). Mekanisme kerja saponin untuk antibakteri adalah melalui denaturasi protein. Surfaktan saponin menyerupai dengan deterjen, saponin bisa dimanfaatkan untuk agen antibakteri yaitu dengan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri kemudian permeabilitas membran bakteri akan terganggu (Sudarmi *et al.*, 2017).

5. Tanin

Tanin beroperasi sebagai senyawa antibakteri melalui mekanisme penghambatan enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase, yang pada akhirnya mencegah pembentukan sel bakteri. Tambahan lagi, tanin menunjukkan aktivitas antibakteri dengan cara menonaktifkan adesin sel mikroba, menghambat enzim, serta menghambat protein transport di dalam sel. Dengan keterlibatan dalam beberapa tahap kritis dalam siklus hidup bakteri, tanin muncul sebagai agen yang potensial untuk mengatasi pertumbuhan dan perkembangan mikroorganisme, menambahkan dimensi baru dalam pemahaman kita tentang senyawa ini sebagai potensi antibakteri., yang semuanya berkontribusi pada efektivitasnya dalam melawan mikroorganisme (Sapara *et al.*, 2016).

6. Steroid

Steroid bekerja dengan menghambat mikroorganisme yakni dengan merusak membran plasma mikroba, sampai mengakibatkan kebocoran sitoplasma yang selanjutnya mengaktifkan kematian sel (Artini *et al.*, 2012). Reaksi positif yang menunjukkan kandungan steroid adalah pembentukan cincin biru kehijauan (Ciulei, 1984).

7. Fenolik

Secara umum, senyawa fenol menunjukkan beragam sifat yang mencakup bakteriosid, antimetik, antihelmintik, antiasmatik, analgetik, antiinflamasi, serta kemampuan meningkatkan motilitas usus, antimikroba, dan banyak lagi, seperti yang dikemukakan oleh Andarwulan (2012). Senyawa fenolik, sebagai metabolit sekunder bioaktif, tersebar luas di dalam tanaman, terutama dihasilkan melalui jalur sintesis asam sikamat, pentosa fosfat, dan jalur fenilpropanoid, sebagaimana dijelaskan oleh Balasundram et al. (2006).

Dari segi struktural, senyawa fenolik melibatkan sejumlah senyawa yang memiliki cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil, dapat bervariasi dari molekul sederhana hingga polimer kompleks, sesuai penelitian Haminiuk et al. (2012) dan Singh et al. (2015). Senyawa fenolik dapat dibagi menjadi beberapa kategori, seperti asam fenolat, flavonoid, tanin, dan stilben, berdasarkan jumlah gugus fenolik hidroksil yang melekat dan elemen struktural yang menghubungkan cincin benzen, sebagaimana ditegaskan oleh Singh et al. (2016). Temuan ini menggambarkan keragaman dan kompleksitas senyawa fenolik, menyoroti potensi berbagai manfaat kesehatan yang dapat ditawarkan oleh berbagai jenis senyawa ini dalam dunia tanaman.

8. Terpenoid

Terpenoid adalah salah satu senyawa metabolit sekunder yang sebagian besar menjadi komponen dalam pembentukan minyak atsiri, resin, serta memiliki aktivitas biologis. Menurut Roumondang (2013), terpenoid juga dikenal memiliki berbagai aktivitas, termasuk sebagai agen antibakteri, penghambat sel kanker, menghambat sintesis kolesterol, antiinflamasi, pengatur gangguan menstruasi, penanganan patukan ular, mengatasi gangguan kulit, merespon kerusakan hati, dan bahkan memiliki potensi untuk menanggulangi malaria.

D. Simplisia

1. Pengertian

Menurut Farmakope Herbal Indonesia edisi II simplisia adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan (Depkes, 2017). Simplisia terbagi menjadi tiga kategori, pertama simplisia segar yang merupakan bahan baku alami segar yang belum dikeringkan, kedua simplisia herbal, yaitu tumbuhan atau ekskresi tumbuhan. Ketiga, simplisia nabati dalam

bentuk bubuk dibuat dari simplisia nabati, dengan tingkatan kecanggihan tertentu. Tergantung pada tingkat kehalusan bisa sangat kasar, sedikit kasar, halus dan sangat halus bubuk (Depkes, 2000).

2. Perajangan

Tujuan perajangan adalah dapat memperkecil ukuran bahan dan mempercepat proses pengeringan. Kesalahan penghancuran dapat menyebabkan 11 senyawa volatil lebih cepat menguap (Yuliani dan Satuhu, 2012).

3. Pengeringan

Tujuan pengeringan simplisia ialah menghilangkan kadar air dan menghentikan reaksi enzimatis agar tidak memperpendek umur simpan atau mencegah simplisia rentan terhadap pembusukan, jamur atau variasi karena adanya bahan aktif. Pengeringan sederhana menggunakan proses matahari atau bisa dengan alat pengering (oven). Selama pengeringan terdapat beberapa hal yang harus diperhatikan yaitu suhu, kelembaban, aliran udara, waktu pengeringan dan permukaan material (Prasetyo dan Inorah, 2013).

E. Ekstrak

1. Pengertian

Menurut Farmakope Herbal Indonesia edisi II, ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair yang diperoleh dengan cara mengekstrasi simplisia nabati menggunakan metode yang sesuai, menghindari pengaruh sinar matahari langsung (Depkes , 2017).

2. Metode Ekstraksi

Ekstraksi jaringan tanaman yang kering dan dihaluskan terdapat dilakukan dengan maserasi, refluks atau sokletasi menggunakan pelarut dengan derajat kepolaran yang berbeda (Putra *et al.*, 2014). Metode umum untuk membuat ekstrak termasuk maserasi, perkolas, dan soxhletasi. Metode ekstraksi memilih beberapa faktor seperti sifat bahan obat dan kemampuan beradaptasi untuk semua jenis prosedur ekstraksi dan pentingannya mendapatkan ekstrak yang sempurna (Ansel, 2008).

2.1 Maserasi. Metode maserasi merupakan teknik perendaman bahan dalam pelarut yang efektif untuk menghasilkan ekstrak dalam jumlah besar, sambil mencegah perubahan kimia pada senyawa tertentu akibat pemanasan. (Pratiwi, 2009). Proses maserasi merupakan metode yang paling sesuai, di mana bahan obat yang telah dihaluskan direndam

dalam pelarut cair hingga terserap dan struktur seluler melunak sehingga zat terlarut dapat diperoleh. Proses ini diulang, kemudian hasilnya disaring pada suhu 15-20°C selama tiga hari hingga bahan benar-benar larut (Ansel, 2008). Maserasi dapat dilakukan dengan menggunakan cairan, serbuk halus, atau serbuk dari tanaman obat yang bersentuhan dengan pelarut. Bahan yang direndam disimpan dalam wadah kedap udara, sering diaduk sampai zat tertentu benar-benar larut. Metode ini efektif digunakan untuk senyawa yang tidak tahan panas (Tiwari *et al.*, 2011). Meskipun demikian, kelemahan dari metode ini terletak pada waktu yang diperlukan yang cukup lama, bisa berjam-jam hingga berminggu-minggu (Ditjen POM, 2000).

2.2 Perkolasi. Merupakan proses penyari dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Serbuk simplisia ditempatkan dalam suatu bejana silinder, bagian bawahnya diberi sekat berpori. Cairan penyari dialirkan dari atas ke bawah melalui serbuk tersebut, cairan penyari akan melarutkan zat aktif sel-sel yang dilalui sampai mencapai keadaan jenuh (Anonim, 1986). Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya, terus menerus sampai diperoleh ekstrak yang jumlahnya 15 kali 14 bahan (Anonim, 2000). Keuntungan perkolasi antara lain dikarenakan adanya aliran cairan penyari menyebabkan pergantian larutan yang terjadi dengan larutan yang konsentrasiannya lebih rendah, sehingga meningkatkan derajat perbedaan konsentrasi (Anonim, 1986).

2.3 Soxhletasi. Adalah ekstraksi dengan pelarut yang baru, yang biasanya melakukan dengan alat khusus, sampai ekstraksi yang konstan terjadi dengan adanya refrigeran (kondensor). Proses ini, padatan disimpan dan dipanaskan dalam peralatan soxhlet sementara hanya pelarut yang dipanaskan. Pelarut didinginkan dalam kondensor dan kemudian mengekstrak padatan (Sarker *et al.*, 2006). Keuntungan dari metode ini dibandingkan dengan metode lain adalah lebih banyak bahan aktif yang dapat diekstraksi, meskipun pelarut yang digunakan lebih sedikit (Endarini, 2016).

2.4 Refluk. Adalah metode ini dengan pelarut dan sampel direbus dalam selama beberapa waktu dengan jumlah pelarut yang relatif konstan. Ekstrak cair diperoleh dari metode refluks kemudian diuapkan untuk menghasilkan ekstrak kental (Rusdi *et al.*, 2014).

2.5 Digesti. Merupakan metode ekstraksi dengan cara maserasi kinetik (pengandukan kontinyu) menggunakan pemanasan lemah yaitu pada suhu 40⁰C-50⁰C. Teknik tersebut sekadar bisa diperuntukan untuk sampel yang senyawa aktifnya stabil pada panas (BPOM RI, 2012).

3. Pelarut

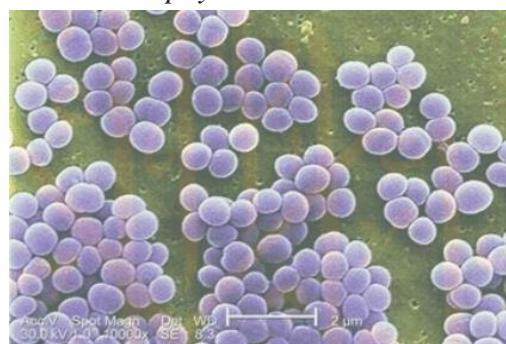
Pelarut merupakan substansi yang mampu melarutkan obat dalam sediaan larutan. Pemilihan pelarut untuk ekstraksi bahan baku obat tertentu bergantung pada kelarutan zat aktif dan zat tidak aktif (Ansel, 1989). Beberapa pelarut yang bersifat polar antara lain etanol, metanol, aseton, dan air. Dalam penelitian oleh Verdiana et al. (2018), ditemukan bahwa pelarut etanol, yang digunakan untuk mengekstrak bahan aktif dari ekstrak simplisia, memiliki kapasitas antioksidan tertinggi dibandingkan dengan pelarut heksana, etanol, dan air. Penelitian lain oleh Novaryatiin et al. (2018) menyatakan bahwa etanol 96% adalah senyawa polar yang mudah menguap, sehingga sangat baik digunakan sebagai pelarut ekstraksi. Pelarut bersifat universal, mampu melarutkan sebagian besar jenis metabolit sekunder yang terkandung, dan dianggap tidak beracun serta aman digunakan.

F. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

1. Klasifikasi *Staphylococcus aureus*

Menurut Garrity *et al.*, (2007) klasifikasi dari bakteri *S.aureus* sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Family	: Staphylococcaceae
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>



Gambar 3. Bakteri *Staphylococcus aureus*

2. Morfologi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Staphylococcus aureus adalah bakteri Gram positif berbentuk bulat dengan diameter sekitar 0,7-1,2 μm , tersusun dalam kelompok yang tidak teratur mirip buah anggur. Bakteri ini bersifat fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak memiliki kemampuan bergerak (Kristiani, 2018). *S.aureus* memiliki pH optimal sekitar 15, dengan tingkat pertumbuhan optimal pada pH 7,4 dan suhu ideal antara 28-38°C (Kriharyani et al., 2016). Pada media padat seperti nutrient, *S.aureus* membentuk koloni yang terlihat seperti kelompok buah anggur dengan warna keemasan atau putih yang mengkilap. Koloni ini tumbuh dalam waktu 24 jam dan mencapai diameter sekitar 4 mm (Gibson dan Roberfroid, 1995).

3. Patogenesis

S.aureus dapat menyebabkan berbagai jenis infeksi, termasuk bisul, nekrosis, impetigo, dan folikulitis (Paju et al., 2013). Sebanyak 30% dari kolonisasi *S.aureus* terjadi di lubang hidung dan juga dapat ditemukan pada kulit. Infeksi oleh *S.aureus* dapat terjadi di berbagai bagian kulit, termasuk luka pasca operasi. Kemampuan *S.aureus* untuk bertahan hidup dan menyebabkan berbagai manifestasi klinis disebabkan oleh keberadaan banyak faktor virulensi.

4. Pengobatan

Terapi yang umumnya digunakan untuk infeksi yang disebabkan oleh *S.aureus* melibatkan golongan antibiotik penicillin-resistant seperti metisilin, nafcillin, oxacillin, dan dikloksasillin. Opsi penggantinya termasuk golongan aminopenisilin yang ditambahkan dengan β -lactamase inhibitor, seperti amoxicillin+subactam dan amoxicillin+clavulanic. Jika *S.aureus* menunjukkan resistensi terhadap metisilin, maka antibiotik vankomisin dapat menjadi pilihan. Untuk meningkatkan efektivitas terhadap *S.aureus*, ampicillin dapat ditambahkan dengan β -lactamase inhibitor. Beberapa obat lain yang dapat digunakan termasuk sefalotin, sefazolin, gentamisin, amoxicillin/clavulanic acid, eritromisin, dan klindamisin (Goodman and Gilman's, 2008).

G. Antibiotik

1. Pengertian

Antibiotik adalah jenis obat yang paling umum digunakan untuk mengatasi infeksi yang disebabkan oleh bakteri, seperti yang diatur

dalam Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia tahun 2011. Zat-zat kimia tersebut dapat dihasilkan oleh fungi dan bakteri, memiliki kemampuan untuk membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme, sementara tingkat toksisitasnya terhadap manusia relatif rendah, seperti yang dijelaskan oleh Hoan pada tahun 2015.

2. Mekanisme Kerja Antibiotik

Mekanisme antibiotik dalam membunuh bakteri atau menghambat pertumbuhannya sangat beragam. Beberapa mekanisme tersebut melibatkan interaksi kompleks antara antibiotik dan mikroorganisme, termasuk:

2.1. Menghambat sintesis dinding sel bakteri. Penghambatan sintesis dinding sel oleh antibiotik menyebabkan ketidaksempurnaan struktur dinding sel, sehingga sel menjadi rentan pecah karena tidak dapat merespon tekanan osmotik plasma dengan baik. Penisilin, sefalosporin, bacitracin, vancomycin, dan cyclosin sering masuk dalam kategori ini. Antibiotik menghambat sintesis dinding sel bakteri sampai sel rentan pecah karena tidak mampuannya menahan osmosis dan plasma (Ciptaningtyas, 2014).

2.2 Menghambat metabolisme sel bakteri. Kategori antibiotik ini mencakup sulfonamida dan trimetoprim. Sulfonamida bersaing dengan asam paraaminobenzoat (PABA) untuk asam folat, sementara trimetoprim menghambat enzim dihidrofolat reduktase, yang biasanya terlibat dalam penggantian asam dihidrofolat untuk membentuk asam tetrahidrofolat, seperti dijelaskan oleh Ciptaningtyas pada tahun 2014.

2.3 Menghambat sintesis protein sel bakteri. Golongan antibiotik ini berperan dalam menghambat sintesis protein dengan mempengaruhi fungsi ribosom 30S atau 50S. Antibiotik yang termasuk dalam kelompok ini meliputi aminoglikosida, makrolida, linkomisin, tetrasiklin, dan kloramfenikol, sebagaimana dijelaskan oleh Goodman dan Gilman pada tahun 2012.

3. Mekanisme Resistensi Antibiotik

Resistensi antibiotik adalah suatu kondisi di mana bakteri dapat resisten terhadap antibiotik yang awalnya efektif dalam mengobati infeksi yang disebabkan oleh bakteri (WHO, 2015). Menurut WHO, resistensi bakteri terjadi ketika bakteri menjadi kebal terhadap antibiotik yang pada awalnya efektif untuk pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri tersebut. Resistensi bakteri terjadi karena

adanya mutasi yaitu perubahan sifat bakteri, masuknya bakteriofag ke bakteri lain (transduksi), perpindahan gen melalui kontak langsung, dan transformasi atau ketika DNA pembawa gen resisten masuk ke dalam bakteri. Ada beberapa mekanisme dari penyebab yaitu adanya enzim yang menginaktivasi obat, perubahan isi ikatan, penurunan obat, berkembangnya jalan lain yang dapat menghindari penghambatan antibiotik (Nugroho, 2014). Penyebab terjadinya resistensi adalah dosis yang tidak tepat, penggunaan antibiotik yang tidak sesuai anjuran dokter, dan antibiotik yang tidak baik. Untuk mencegah resistensi mikroba pastikan pengetahuan dan penggunaan antibiotik sudah benar.

H. Kontrol Positif

Kontrol positif dalam penelitian ini adalah kelompok perlakuan yang memiliki kemampuan menghasilkan efek atau membawa perubahan pada variabel tergantung. Dalam konteks penelitian ini, kontrol positif diwakili oleh antibiotik gentamicin. Gentamicin, sebagai prototipe golongan aminoglikosida, termasuk dalam kategori obat bakterisid yang berasal dari berbagai spesies *Streptomyces*. Aminoglikosida memiliki sifat kimia, antimikroba, farmakologi, dan efek toksik yang serupa (Katzung et al., 2009).

Aminoglikosida adalah salah satu antibiotik pilihan untuk menangani infeksi serius. Penggunaan antibiotik ini diindikasikan karena mempunyai spektrum luas terutama terhadap infeksi kuman aerob gram negatif, dan berefek sinergis terhadap gram positif bila dikombinasikan dengan antibiotik lain (misalnya β -laktam) (Rose, 2005). Antibiotik ini mempunyai spektrum yang luas terhadap kuman aerob dan fakultatif basil Gram positif dan negative.

Aktifitas gentamisin adalah bakterisid, berdasarkan dayanya untuk menembus dinding bakteri dan mengikat diri pada ribosom (partikel partikel kecil dalam protoplasma sel yang kaya akan RNA, tempat terjadinya sintesa protein) di dalam sel. Proses translasi (RNA dan DNA) diganggu sehingga biosintesa protein dikacaukan. Untuk menembus dinding bakteri mencapai ribosom, aminoglikosida yang bermuatan kation positif akan berikatan secara pasif dengan membran luar dinding kuman gram negatif yang mengandung muatan negatif (Radigan et al, 2009).

I. Metode Pengujian Antibakteri

1. Metode Difusi

Metode difusi adalah teknik yang sering digunakan sebagai pengujian aktivitas antibakteri. Terdapat 3 jenis metode difusi antara lain metode sumuran, metode cakram, dan metode silinder.

1.1 Metode sumuran. Adalah teknik pengujian antibakteri dengan membuat lubang tegak lurus pada agar padat yang sudah diinokulasi dari bakteri uji. Pembentukan zona hambat bakteri dapat dengan mudah diukur menggunakan metode ini sebab bakteri dapat menyebar luas sehingga tidak terdapat di permukaan saja. Keuntungan dari metode ini ialah luas zona hambat yang terbentuk lebih mudah diukur karena iso aktif tidak hanya pada permukaan atas nutrien agar tetapi juga pada permukaan bawah (Nurhayati *et al.*, 2020).

1.2 Metode cakram kertas. Adalah metode yang umum digunakan pada pengujian aktivitas antibakteri. Metode ini digunakan untuk menentukan kepekaan antibakteri terhadap suatu antibiotik (Pelczar *et al.*, 1988) Ukuran zona bening dilihat dari kerentanan mikroorganisme patogen yang terdapat di antibiotik (Cappucino dan Sherman, 2001). Metode ini dilakukan dengan menjernihkan bahan uji di atas kertas cakram. Kertas cakram telah jenuh diinkubasi dengan media yang telah diinkubasi dengan bakteri (Listari, 2009; Bonang dan Koeswardono, 1982). Keuntungan dari metode ini adalah metode waktu yang cepat, mudah dan murah dengan memerlukan alat khusus (Katrín *et al.*, 2015).

1.3 Metode silinder. Adalah dengan menempatkan silinder aluminium pada agar yang diinokulasi dengan bakteri. Setiap silinder diletakkan sehingga bertumpu pada media agar, kemudian silinder diisi dengan larutan uji dan diinkubasi dengan waktu 24 jam dikelilingi oleh zona bening pada silinder. Zona bening tersebut terlihat jelas kemudian diameternya diukur dengan jangka sorong (Tenda *et al.*, 2017).

Tabel 1. Kategori diameter zona hambat berdasarkan Hita *et al.*,(2020)

Diameter zona hambat	Intensitas
<5mm	Lemah
5-10mm	Sedang
10-20mm	Kuat
>20 mm	Sangat Kuat

2. Metode Dilusi

Metode dilusi ialah teknik yang digunakan untuk melihat aktivitas antimikroba pada senyawa dengan menentukan konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM)

(Fatisa, 2013). Metode dilusi dibagi menjadi 2, yaitu dilusi cair dan padat. Pengukuran KHM (kadar hambat minimum) bisa diukur dengan metode dilusi cair sedangkan pengukuran KBM (kadar bakterisidal minimum) dengan metode dilusi padat. Metode dilusi cair dilakukan dengan membuat rangkaian pengenceran antimikroba sebagai media cair yang ditambahkan pada mikroba uji. Metode dilusi melakukan dengan cara menginokulasikan bakteri uji di agar yang terkandung zat antimikroba. Kelebihan dari metode ini ialah hasilnya lebih akurat karena pengamatan dan pengukuran dilakukan secara spektrofotometri, tetapi metode ini membutuhkan waktu pengujian yang relatif lebih lama dan pengujian yang lebih sedikit, lebih realistik (Jawetz, 1986).

J. Kombinasi Antibakteri

1. Pengertian Kombinasi Antibakteri

Kombinasi antibakteri dapat digunakan untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Diharapkan kombinasi ini dapat mencapai hasil yang sinergis, oleh karena itu perlu dicari terapi alternatif yang lebih aman dengan menggabungkan agen antibakteri dan diyakini memiliki efek sinergis (Aiyegoro dan Okoh, 2009).

Kombinasi ini merupakan patogen yang didentifikasi resisten terhadap penghambatan atau pembunuhan dengan dosis antibiotik yang umum. Kombinasi antimikroba ini untuk mencapai aktivitas dan kemanjuran klinis terhadap organisme yang resisten terhadap penghambatan dan atau pembunuhan dengan konsentrasi yang dapat diterima (Chan *et al.*, 1987).

2. Jenis Efek Kombinasi Antibakteri

2.1. Aditif. Adalah efek dari kombinasi dua senyawa jika digabungkan memiliki efek penghambat yang bersama dengan efek penghambatan masing masing senyawa (Choirunnisa dan Sutjiatmo, 2017).

2.2. Antagonis. Adalah obat yang bekerja pada tempat yang sama dan saling berlawanan. Antagonis jika efek gabungannya lebih lemah dari pada jumlah efek masing-masing agen atau lebih lemah dari efek salah satu agen individu (Blesson *et al.*, 2015).

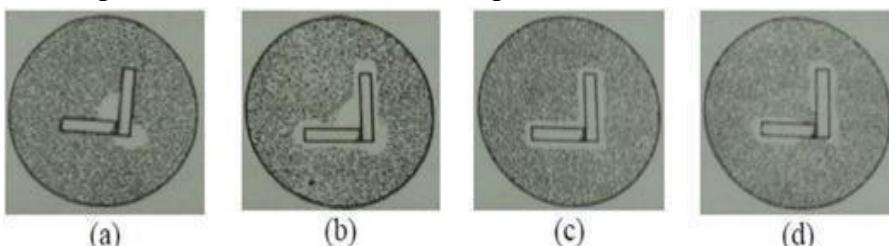
2.3. Sinergis. Adalah interaksi positif dihasilkan ketika dua agen digabungkan dan bersama-sama memberikan efek penghambatan pada organisme target lebih besar dari pada jumlah efek masing-masing (Blesson *et al.*, 2015). Efek sinergis ini mendapat efek yang dihasilkan kombinasi lebih baik secara signifikan dari pada penjumlahan kedua efek antibakteri (Gunawan *et al.*, 2008).

3. Metode Uji Kombinasi

3.1. Metode Pengenceran Agar. Adalah metode yang menguntungkan bila sejumlah besar strain diuji terhadap sejumlah kombinasi antibiotik yang terbatas. Volume dari inokulum bakteri tidak masuk ke dalam perhitungan yang digunakan untuk menentukan pengenceran larutan stok antimikroba awal dengan ini metode karena inokulum diterapkan pada permukaan pelat agar-agar. Volume dari inokulum bakteri tidak masuk ke dalam perhitungan yang digunakan untuk menentukan pengenceran larutan stok antimikroba awal dengan ini metode karena inokulum diterapkan pada permukaan pelat agar-agar. Oleh karena itu, beberapa telah mencampur bagian yang sama dari agar-agar cair media yang mengandung masing-masing obat yang diuji, menggunakan konsentrasi stok dua kali konsentrasi akhir yang diinginkan. Jika antimikroba ditambahkan ke agar setelah diautoklaf, agar-agar pertama-tama harus dibiarkan dingin hingga 50°C hingga 55°C dalam penangas air untuk mencegah hilangnya aktivitas dengan antimikroba rentan terhadap panas. Untuk mempertahankan konsentrasi agar dan antimikroba yang diinginkan, volume (mengandung antimikroba) yang ditambahkan ke agar harus sedikit (yaitu, 5% dari total volume) (Chan *et al.*, 1987)

3.2. Metode Pita Kertas. Adalah metode yang dilakukan dengan cara strip direndam dalam larutan antimikroba dan ditempatkan tegak lurus satu sama lain pada pelat agar. Setelah inkubasi semalam pada 35°C hingga 37°C, strip kertas saring dikeluarkan, meninggalkan obat yang telah berdifusi ke dalam media agar. Setelah pelepasan strip kertas saring, bahan yang dapat dipindahkan. Sifat interaksi yang terjadi pada metode pita kertas ditentukan dengan pengamatan visual pola yang terjadi pada kombinasi ekstrak uji dan ekstrak yang dicampur dengan suspensi bakteri dalam cawan petri. Pengukuran dibaca setelah didiamkan selama 24 jam, dengan mengukur diameter zona radikal, kemungkinan adanya bakteri dapat diketahui (Jawetz, 1951).

Bentuk pola efek dari hasil kombinasi pita kertas:



Gambar 4. Hasil dari sifat kombinasi antibakteri a dan b. sinergis, c. aditif, d. antagonis

3.3 Metode Checkerboard. Adalah teknik yang banyak digunakan untuk mengukur antimikroba secara in vitro. Teknik ini menggunakan pola tabung atau microwell plate 96 yang diisi dengan kombinasi zat antimikroba pada berbagai konsentrasi, baik di bawah sama dengan atau di atas KHM. Penilaian efek kombinasi dapat ditentukan berdasarkan nilai indeks fraksi konsentrasi inhibisi (Chan *et al.*, 1987).

K. Landasan Teori

Penyakit infeksi dikenal juga sebagai salah satu penyakit yang bisa menjadi persoalan kesehatan di Indonesia. Mikroorganisme itu bisa membawa dampak infeksi. Bakteri dapat menimbulkan infeksi secara lokal ataupun sistemik. Penyakit infeksi bisa disembuhkan dengan obat antibiotik (Jawetz, 2005). Bakteri tertentu, seperti *S.aureus* biasanya menyebabkan infeksi ringan hingga berat. *S.aureus* menyebabkan infeksi termasuk jerawat, bisul, saluran kemih, dan impetigo (Djajadisastra, 2009). Obat yang diberikan adalah amoksisilin, sefalotin, sefazolin, vankomisin, gentamisin, atau clavulanic acid, eritromisin, dan klindamisin. Eritromisin, klindamisin atau vankomisin kepada pasien yang alergi pada penisilin (Rosalina *et al.*, 2010).

Daun laruna berisi senyawa flavonoid, fenolik, steroid, terpenoid dan alkaloid yang terdapat pada bagian daun yang dapat berguna sebagai antibakteri (Sukarno, 2017). Berdasarkan penelitian (Sukarno, 2017) yang memakai konsentrasi 5%, 25%, 50%, 75%, 100% dapat memberi hambatan terhadap bakteri *S.aureus*. Menurut penelitian (Nurhanifah *et al.*, 2022) dilakukan uji dengan konsentrasi 2%, 4% dan 8% dapat memberi hambatan sebesar 11 mm, 15 mm, 18 mm terhadap bakteri *S.aureus*.

Daun Sirsak memiliki kandungan senyawa tanin, alkaloid, saponin, dan flavonoid yang berfungsi sebagai antibakteri. Aktivitas antibakteri pada ekstrak daun sirsak berasal dari senyawa berupa tanin, flavonoid dan saponin yang dapat membunuh bakteri patogen. Berdasarkan penelitian (Dina Mulyanti *et al.*, 2015) menggunakan konsentrasi 1%, 3% dan 5% dapat memberi hambatan sebesar 11 mm, 13 mm, 14 mm terhadap bakteri *S.aureus*. Menurut penelitian (Melisa R. Tuna *et al.*, 2015) Ekstrak daun sirsak (memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *S.aureus* dengan rerata diameter zona hambat sebesar 12,3 mm).

Menurut penelitian (Volk *et al.*, 1998) senyawa flavonoid memiliki mekanisme kerja aktivitas antibakteri dengan merusak membran sitoplasma, menyebabkan kebocoran metabolit penting, nukleotida, dan asam amino yang dapat menyebabkan kematian bakteri. Menurut penelitian Amalia *et al.*, (2014) sebagai antibakteri senyawa alkaloid sebagai antimikroba diperkirakan dapat menghambat sintesis dinding sel yang akan menginduksi lisis sel dan kematian sel. Menurut penelitian Rachmawaty *et al.*, (2018) senyawa minyak atsiri berperan sebagai agen antibakteri dengan cara mengganggu pembentukan membran atau dinding agar sel sehingga tidak terbentuk atau terbentuk secara tidak sempurna. Menurut penelitian Sapara *et al.*, 2016 sebagai antibakteri senyawa tanin ditargetkan pada dinding polipeptida dinding sel bakteri sehingga pembentukan dinding sel menjadi tidak sempurna setelah kematian sel bakteri. Menurut penelitian Sudarmi *et al.*, (2017) senyawa saponin digunakan sebagai agen antibakteri dimana tegangan permukaan dinding sel bakteri akan berkurang dan permeabilitas membran bakteri akan rusak. Menurut penelitian Artini *et al.*, (2012) senyawa steroid sebagai agen antibakteri yang mengikat lipid membran dan sensitif terhadap komponen steroid menyebabkan kebocoran liposom.

Berdasarkan penelitian (Sukarno, 2017) yang berjudul Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol, Etil Asetat dan n-Heksana Daun Laruna (*Choromolaena odorata* L) Terhadap Bakteri *S.aureus* dan *Escherichia coli* yang memakai konsentrasi 5%, 25%, 50%, 75%, 100% dapat memberi hambatan terhadap bakteri *S.aureus*. Menurut penelitian (Nurhanifah *et al.*, 2022) dilakukan uji dengan konsentrasi 2%, 4% dan 8% dapat memberi hambatan sebesar 11 mm, 15 mm, 18 mm terhadap bakteri *S.aureus*.

Berdasarkan penelitian (Dina Mulyanti *et al.*, 2015) yang menggunakan konsentrasi 1%, 3% dan 5% dapat memberi hambatan sebesar 11 mm, 13 mm, 14 mm terhadap bakteri *S.aureus*. Menurut penelitian (Melisa R. Tuna *et al.*, 2015) Ekstrak daun sirsak memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *S.aureus* dengan rerata diameter zona hambat sebesar 12,3 mm.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode uji dilusi dan difusi. Metode dilusi dilakukan dengan mencampurkan bahan aktif dengan media inokulasi, yang kemudian diinokulasi dengan bakteri dan diinkubasi. Hasil pengujian pada metode dilusi diperoleh

dengan mengamati ada tidaknya pertumbuhan bakteri pada media (Effendi *et al*, 2014). Metode dilusi ini juga bertujuan untuk melihat konsentrasi hambat minimum dan konsentrasi bunuh minimum terhadap bakteri *S.aureus*. Setelah menggunakan metode dilusi maka dilanjutkan dengan metode difusi. Metode difusi yaitu digunakan disk cakram yang berisi agen antimikroba yang diletakkan pada media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri yang akan diuji, kemudian di inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Untuk melihat aktivitas antibakteri yaitu dengan melihat daerah sekitar disk cakram, daerah hambat ditunjukkan dengan terbentuk daerah bening sekitar disk cakram (Wilapangga *et al*, 2018).

L. Hipotesis

Pertama, kombinasi ekstrak etanol daun laruna dan daun sirsak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*

Kedua, dapat diketahui nilai KBM dengan menggunakan metode dilusi.

Ketiga, dapat diketahui perbandingan konsentrasi paling efektif dari kombinasi ekstrak etanol daun laruna dan daun sirsak terhadap *Staphylococcus aureus*.

Keempat, pola efek kombinasi ekstrak etanol daun laruna dan daun sirsak terhadap *Staphylococcus aureus* sebagai antibakteri adalah sinergis.