

BAB II

TINJAUN PUSTAKA

A. Tanaman Pinang

1. Klasifikasi Tanaman

Klasifikasi Tanaman Pinang (*Areca catechu* L.) sebagai berikut (Fredison *et al.*, 2023)

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivision	: Spermatophyta
Division	: Magnoliophyta
Class	: Liliopsida
Order	: Arecales
Family	: Arecaceae
Genus	: Areca
Spesies	: <i>Areca catechu</i> L.



Gambar 1. Biji Pinang (sumber : Hartono *et al.*, 2016)

Pinang memiliki nama daerah seperti pineng, pineung (Aceh), pinang (Gayo), batang mayang (Karo), pining (Toba), batang pinang (Minangkabau), dan jambe (Sunda, Jawa) (Depkes RI, 1989).

2. Morfologi

Tanaman pinang (*Areca catechu* L.) merupakan tanaman famili *Arecaceae* yang dapat mencapai tinggi 15-20 m dengan batang tegak lurus bergaris tengah 15 cm. Pinang (*Areca catechu* L.) mulai berkecambah setelah 1,5 bulan dan dalam 4 bulan memiliki jambul daun kecil yang belum terbuka. Batang baru mulai terbentuk setelah 2 tahun dan tanaman berbuah pada usia 5-8 tahun tergantung kondisi tanah. Pinang berbunga pada awal dan akhir musim hujan, dengan masa hidup 25-30 tahun. Biji buahnya berwarna kecoklatan hingga coklat kemerahan, agak berlekuk dengan warna lebih muda. Pada irisan

biji, terlihat perisperm berwarna coklat tua dengan lipatan tidak beraturan yang menembus endosperm berwarna agak keputihan (Depkes RI, 1989).

3. Kandungan Kimia

Biji buah pinang memiliki kandungan kimia seperti alkaloid yaitu arekolin ($C_8H_{13}NO_2$), arekolidin, arekain, guvakolin, guvasin, dan isoguvasin. Selain itu, biji ini juga mengandung senyawa tanin terkondensasi dan terhidrolisis, flavan, senyawa fenolik, asam galat, resin, lignin, minyak atsiri maupun non-atsiri, serta berbagai jenis garam (Wang et al., 1996). Menurut Nonaka (1989), biji buah pinang juga mengandung proantosianidin, sejenis tanin terkondensasi yang termasuk dalam kelompok flavonoid. Senyawa ini diketahui memiliki berbagai aktivitas biologis seperti antibakteri, antivirus, anti karsinogenik, antiinflamasi, antialergi, serta mampu menyebabkan pelebaran pembuluh darah (Fine, 2000).

4. Manfaat

Masyarakat lokal di Indonesia memanfaatkan biji pinang sebagai bahan utama atau tambahan untuk menyirih. Berdasarkan penelitian silalahi, (2020) berdasarkan kajian literatur dari berbagai sumber yaitu biji pinang jika dikonsumsi memiliki dampak positif untuk mengatasi pertumbuhan mikroba, anti skizofrenia, anti inflamasi dan meningkatkan daya ingat. Efek negatif dari konsumsi *Areca catechu* seperti kanker mulut, sindrom neonatal dan hiperglikemia.

B. Tanaman Kelor

1. Klasifikasi Tanaman

Menurut Integrated Taxonomic Information System (2017), klasifikasi tanaman kelor sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Famili	: Moringaceae
Genus	: Moringa
Spesies	: <i>Moringa oleifera</i> L.



Gambar 2. Daun Kelor (sumber : Khasanah *et al.*,2023)

Di Indonesia, tanaman kelor memiliki beragam nama di beberapa wilayah diantaranya kelor (Jawa, Sunda, Bali, Lampung), maronggi (Madura), moltong (Flores), kelo (Bugis), ongge (Bima), murong atau barungai (Sumatera) dan hau fo (Timur). Kelor merupakan spesies dari keluarga monogenerik yang paling banyak dibudidayakan, yaitu *Moringaceae* yang berasal dari India sub-Himalaya, Pakistan, Bangladesh dan Afghanistan (Marhaeni 2021).

2. Morfologi

Tanaman kelor (*Moringa Oleifera* L.) memiliki banyak manfaat untuk kesehatan dan ekonomi masyarakat. Tanaman kelor adalah jenis tanaman yang berkayu yang tumbuh baik di lingkungan tropis seperti Indonesia, serta mampu tumbuh hingga 7–12 dan 700 meter di atas permukaan laut. Karena memiliki toleransi yang tinggi terhadap kekeringan, tanaman kelor juga mudah dibiakan karena tidak memerlukan perawatan yang intensif (Isnain & Nurhaedah, 2017;). Biji dan daun tanaman kelor dapat digunakan untuk pengobatan dan berfungsi sebagai antioksidan dan antidiabetes (Jaiswal *et al.*, 2009).

Daun kecil, bersirip, rata dan berbentuk bulat. Daun kelor adalah jenis daun majemuk dengan panjang dan lebar 1-2 cm. Ujungnya tumpul dan pangkalnya membulat, daun muda berwarna hijau muda, dan daun tua berwarna hijau tua. Kelor adalah jenis tanaman yang memiliki sifat meranggas yang memungkinkannya mengeluarkan daun pada musim tertentu. (Rollof *et al.*, 2009). Bunga kelor memiliki beberapa warna yaitu putih, putih kekuningan (krem), atau merah, tergantung pada jenis atau spesiesnya. Menurut Palupi *et al.* (2007), tudung pelepah bunga berwarna hijau dan mengeluarkan aroma semerbak.

3. Kandungan Kimia

Daun kelor mengandung beberapa zat aktif seperti flavonoid, tanin, saponin, alkaloid dan terpenoid, senyawa tersebut dapat digunakan sebagai antibakteri (Rohyani, 2015). Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak daun kelor memiliki aktivitas untuk menghambat pertumbuhan bakteri *S aureus* (Tuldjanah, 2018). Kemampuan aktivitas antibakteri dari daun kelor merupakan efek dari senyawa alkaloid, tanin, flavonoid, dan saponin yang bekerja dengan cara merusak dinding sel bakteri (Ginarana *et al.*, 2020)

4. Manfaat

Pada masyarakat daun kelor biasa sebagai pelengkap dalam masakan, daun kelor memiliki manfaat sebagai nutrisi, termasuk vitamin A, vitamin B, protein, kalsium dan vitamin C (Misra & Misra, 2014; Oluduro, 2012). Daun kelor (*Moringa oleifera* L.) juga dapat digunakan sebagai produk makanan yang berguna serta sumber oksidan. Sebagai obat antibakteri, ekstrak daun kelor mengandung senyawa yang memiliki sifat antibakteri yang digunakan untuk infeksi (Adedapo *et al.*, 2009).

C. Kandungan Kimia Antibakteri dari Tanaman

1. Flavonoid

Flavonoid memiliki senyawa polar yang mudah larut dalam pelarut polar antara lain etanol, metanol, butanol dan lain-lain. Golongan terbesar dari senyawa fenol adalah flavonoid yang berkhasiat antimikroba (Markham, 1998). Aktivitas biologis flavonoid termasuk antibakteri, antijamur, antivirus, antiprotozoa, antioksidan, dan antiinflamasi (Cushnie dan Lamb, 2005). Flavonoid memiliki fungsi antimikroba dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan menghancurkan membran sel. Metabolit sekunder polifenol, yang pada struktur karbonnya terdapat dua kelompok C_6 (cincin benzena tersubstitusi) bergabung dengan rantai alifatik dengan tiga atom karbon, itulah sebabnya mereka diwakili oleh rumus empiris $C_6C_3C_6$ (Yunita, 2009). Mekanisme sebagai agen antibakteri dengan beberapa mekanisme aksi, antara lain penghambatan sintesis asam nukleat, penghambatan fungsi membran sitoplasma dan penghambatan metabolisme energi dari bakteri (Nomer *et al.*, 2019)

2. Alkaloid

Alkaloid memiliki sifat antibakteri dan penghambatan dengan mengganggu bagian-bagian yang membentuk peptidoglikan pada sel

bakteri, yang dapat menyebabkan kematian bakteri (Anggraini *et al.*, 2019).

3. Saponin

Senyawa sebagai agen antibakteri karena surfaktan menyerupai deterjen, dalam fungsinya sebagai antibakteri, saponin menurunkan tegangan permukaan, yang menyebabkan peningkatan permeabilitas atau kebocoran sel yang lebih besar dan penghapusan senyawa intraseluler dari sel bakteri. Senyawa ini berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan, lalu mengikat membran sitoplasma, mengganggu dan mengurangi kestabilan, sehingga sitoplasma bocor keluar dari sel dan menyebabkan kematian sel (Devi *et al.*, 2016).

4. Tanin

Mekanisme kerja sebagai antibakteri adalah menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk. Tanin mempunyai aktivitas pada antibakteri yang berhubungan dengan kemampuan untuk menonaktifkan adhesin sel mikroba, menonaktifkan enzim dan menghambat transport protein pada lapisan dalam sel (Restina *et al.*, 2016).

5. Steroid

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

6. Terpenoid

Terpenoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang sebagian besar berfungsi sebagai penyusun minyak atsiri, resin dan memiliki aktivitas biologis. Terpenoid juga memiliki sifat antibakteri, penghambat sel kanker, menghambat sintesis kolesterol, antiinflamasi, serta digunakan untuk mengatasi gangguan menstruasi, gigitan ular, gangguan kulit, kerusakan hati dan malaria (Roumondang 2013).

7. Triterpenoid

Salah satu senyawa metabolit sekunder turunan terpenoid, triterpenoid memiliki aktivitas farmakologi yang signifikan, termasuk sifat antiviral, antibakteri, anti inflamasi, penghambat sintesis kolesterol, dan antikanker. Akibatnya, dinding sel bakteri menjadi lemah dan mudah hancur karena kemampuan triterpenoid untuk menghambat sintesis polisakarida yang membentuk dinding sel bakteri (Nassar *et al.*, 2010).

D. Simplisia

1. Pengertian

Simplisia merupakan bahan obat tradisional yang digunakan sebagai obat tanpa proses pengolahan dan berbentuk bahan yang sudah dikeringkan (Departemen Kesehatan RI, 1983). Terdapat tiga jenis simplisia yaitu simplisia nabati adalah tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudatnya yang belum menjadi zat kimia murni, simplisia hewani merupakan hewan utuh bagian hewan atau zat-zat yang dihasilkan oleh hewan tanpa pengolahan menjadi zat kimia murni dan simplisia pelikan atau mineral adalah bahan pelikan atau mineral yang belum diolah secara sederhana menjadi zat kimia murni (Rosmini *et al.*, 2021).

2. Perajangan

Tujuan perajangan yaitu untuk memperluas permukaan sehingga kadar air yang terkandung dalam bahan lebih cepat menguap dan mempercepat proses pengeringan (Sutedjo *et al.*, 2022).

3. Pengeringan

Pengeringan dilakukan untuk mengurangi kadar air, menghentikan reaksi enzimatis dan mencegah kerusakan atau penurunan kualitas pada simplisia. Pengeringan dilakukan untuk memastikan bahwa sampel tidak mudah rusak dan dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama (Manoi, 2006). Suhu, kelembaban udara, laju alir udara, kadar air awal bahan dan kadar air akhir bahan adalah beberapa faktor yang mempengaruhi proses pengeringan, baik menggunakan proses matahari maupun dengan alat pengering (oven) (Rahayuningsihtyas *et al.*, 2016).

E. Ekstrak

1. Pengertian

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

2. Metode ekstraksi

Ekstraksi dilakukan untuk memperoleh metode ekstraksi dengan waktu ekstraksi yang singkat, penggunaan pelarut lebih sedikit, hasil ekstrak lebih banyak dan aktivitas yang lebih baik metode ekstraksi yaitu maserasi, refluks atau sokletasi menggunakan pelarut

dengan derajat kepolaran yang berbeda (Utami *et al.*, 2015). Metode ekstraksi memilih beberapa faktor, seperti sifat bahan obat dan kemampuan beradaptasi untuk semua jenis prosedur ekstraksi dan pentingnya mendapatkan ekstrak yang sempurna (Ansel, 2008).

2.1 Maserasi. Adalah proses perendaman bahan ke dalam suatu pelarut. Salah satu metode ekstraksi yang paling umum adalah maserasi, yang dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert dan ditutup rapat pada suhu kamar. Namun, ada beberapa kekurangan utama dari proses maserasi ini yaitu memakan banyak waktu, memerlukan banyak pelarut, dan ada kemungkinan beberapa senyawa hilang. Selama tiga hari, maserasi dilakukan pada suhu 15-20°C sampai bahan benar-benar larut. Beberapa senyawa mungkin juga sulit diekstraksi pada suhu kamar. Sebaliknya, kerusakan senyawa yang bersifat termolabil dalam tanaman dapat dihindari dengan metode maserasi (Tetti, 2014).

2.2 Perkolasi. Merupakan proses ekstraksi yang dilakukan pada suhu ruang dengan pelarut yang selalu baru dalam waktu yang relatif singkat. Prinsip kerja proses dilakukan dengan cara mengalirkan pelarut terus menerus dengan waktu yang relatif singkat dan mampu melindungi senyawa yang tidak tahan terhadap pemanasan. Namun kekurangan metode ini adalah penggunaan cairan penyari lebih banyak dan kemungkinan pencemaran mikroba pada penyari air karena dilakukan secara terbuka (Verawati *et al.*, 2017). Manfaat dari teknik perkolasi adalah jumlah senyawa yang diekstraksi akan lebih banyak, karena prosesnya memungkinkan pelarut mengalir terus-menerus dalam waktu yang singkat, sambil melindungi senyawa-senyawa yang sensitif terhadap panas. Namun, kelemahan dari metode ini adalah jumlah cairan ekstraksi yang lebih besar dan risiko kontaminasi mikroba pada cairan ekstraksi karena prosesnya dilakukan secara terbuka (Verawati *et al.*, 2017).

2.3 Sokletasi. adalah teknik pemisahan zat dari campuran dengan menggunakan pemanasan. Prinsip sokletasi adalah melakukan penyaringan berulang-ulang untuk mencapai hasil ekstraksi yang optimal, dengan menggunakan jumlah pelarut yang relatif sedikit yang akan mengalami sirkulasi. Dibandingkan dengan metode maserasi, ekstraksi sokletasi menghasilkan ekstrak dengan kandungan yang lebih tinggi (Sri Irianty and Yenti, 2014).

2.4 Refluk. Adalah metode ini dengan pelarut dan sampel direbus dalam selama beberapa waktu dengan jumlah pelarut yang

relatif konstan. Refluk menggunakan pelarut dengan efisien karena adanya pendingin balik atau kondensor sehingga pelarut digunakan secara kontinyu. Ekstraksi refluks dilakukan selama 4 jam dan dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sebanyak 3-5 kali sehingga termasuk ekstraksi yang sempurna. (Depkes RI, 2000).

2.5 Digesti. Merupakan metode ekstraksi dengan cara maserasi kinetik (pengadukan kontinyu) menggunakan pemanasan lemah yaitu pada suhu 40°C- 50°C. Teknik tersebut sekadar bisa diperuntukan untuk sampel yang senyawa aktifnya stabil pada panas (Depkes RI, 2000).

3. Pelarut

Pelarut adalah zat yang dapat melarutkan obat yang terdapat sediaan larutan. Pemilihan pelarut untuk ekstraksi bahan baku obat tertentu tergantung pada kelarutan zat aktif dan zat tidak aktif (Ansel, 1989). Pelarut yang bersifat polar diantaranya adalah etanol, metanol, aseton dan air. Selain itu, pelarut etanol yang mengekstrak bahan aktif dari ekstrak simplisia memiliki nilai kapasitas antioksidan tertinggi dibandingkan dengan pelarut heksana, etanol dan air (Verdiana *et al.*, 2018). Menurut penelitian (Ananta *et al.*, 2021) etanol 96% yaitu senyawa polar yang dapat mudah menguap, sehingga baik menggunakan sebagai pelarut ekstraksi. Pelarut bersifat universal yang mampu melarutkan sebagian besar jenis metabolit sekunder yang terkandung, tidak beracun dan aman digunakan.

F. *Escherichia coli*

1. Klasifikasi *Escherichia Coli*

Menurut Jawetz *et al.*, (2012) *Escherichia coli* diklasifikasikan sebagai berikut :

Divisi	: Protophyta
Sub Divisi	: Schizomycetes
Kelas	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Familia	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>



Gambar 3. Bakteri *Escherichia coli* (sumber : kunkel, 2009)

2. Morfologi *Escherichia coli*

Bakteri Gram negatif *Escherichia coli* berukuran $0,4-0,7 \text{ m} \times 1,4 \text{ }\mu\text{m}$ dengan batang pendek yang berderet seperti rantai. *E.coli* dapat memfermentasi glukosa dan laktosa menjadi asam dan gas. selain dapat tumbuh pada media Mc Conkey dan memecah laktosa dengan cepat. *E.coli* memiliki kemampuan untuk mengubah karbohidrat dan asam lemak menjadi asam dan gas, *E.coli* juga dapat menghasilkan karbondioksida dan hidrogen (Pelczar & Chan, 1998).

3. Patogenesis

Escherichia coli umumnya hidup di usus halus manusia dan tidak menimbulkan gangguan. Namun, saat kondisi tubuh melemah, bakteri ini dapat menjadi patogen berbahaya karena kemampuannya menghasilkan toksin. Meski tidak berbahaya saat berada di usus, *E. coli* bisa menyebabkan infeksi jika berpindah ke organ lain seperti saluran kemih, paru-paru, saluran empedu, atau sistem saraf pusat. Sebagian besar infeksi *E. coli* disebabkan oleh konsumsi makanan yang tidak dimasak dengan baik atau daging yang telah terkontaminasi. Penularan juga dapat terjadi melalui kontak langsung, terutama di lingkungan yang kurang bersih (Jawetz *et al.*, 2012).

4. Pengobatan

Infeksi *E.coli* dapat diobati dengan antibiotik siprofloksasin, ampicilin, karbenisilin, sefalotin, kloramfenikol, gentamisin, kanamisin, asam nalidiksida, norfloksasin, tetrasiklin, tikarsilin, tobramisin, trimetoprim-sulfametoksazol (McKee *et al.*, 2003; Suwito dan Setyadji, 2011).

G. Antibiotik

1. Pengertian

Infeksi yang disebabkan oleh bakteri biasanya diobati dengan antibiotik (Permenkes RI, 2011). Antibiotik juga merupakan bahan

kimia yang dibuat oleh bakteri dan fungi. Mereka memiliki efek mematikan atau menghambat pertumbuhan kuman, tetapi tidak toksik bagi manusia (Hoan, 2015).

2. Mekanisme Kerja Antibiotik

Mekanisme, antibiotik memiliki beberapa mekanisme, yaitu : Berdasarkan mekanisme kerjanya antibiotik untuk membunuh bakteri atau menghambat pertumbuhannya, menurut (Gunawan *et al.*, 2007), maka antibiotik dapat dibagi menjadi lima kelompok yaitu :

2.1 Menghambat Sintesis Dinding Sel. Polipeptidoglikan adalah kompleks mukopeptida atau glikopeptida polimer. Sikloserin menghentikan reaksi pertama yang terlibat dalam pembentukan dinding sel. Akibatnya, tekanan osmotik di dalam bakteri lebih besar daripada tekanan di luar sel, yang menyebabkan lisis. Penisilin, sefalosporin, basitrasin, vankomisin, dan siklosporin termasuk dalam kelompok antibiotik ini.

2.2 Menghambat Metabolisme Sel Bakteri. Ini menghambat metabolisme sel bakteri. Memiliki efek bakteriostatik atau menghambat pertumbuhan bakteri adalah cara antibiotik ini berfungsi. Antimikroba ini termasuk sulfa, trimetoprim, asam p-aminosalisilat (PAS), dan sulfonamid.

2.3 Menghambat Sintesis Protein Sel Bakteri. Berbagai protein yang ada di sel mikroba diperlukan untuk kehidupan mikroba. MRNA dan tRNA berada di ribosom bakteri, yang terdiri dari dua subunit, ribosom 30S dan 50S. Kedua komponen ini bersatu pada pangkal rantai mRNA menjadi ribosom 70S, di mana mereka berfungsi untuk sintesis protein. Jenis antibiotik yang digunakan menghalangi sintesis protein ini dengan berbagai cara. Ini termasuk makrolida, linkomisin, tetrasiklin, kloramfenikol, dan aminoglikosida.

2.4 Mengganggu Permeabilitas Membran Sel Bakteri. Polimiksin, golongan polien, dan antibiotik kemoterapetik termasuk dalam kategori ini. Sebagai senyawa amonium-kuartener, polimiksin memiliki kemampuan untuk merusak membran sel setelah bereaksi dengan fosfat pada fosfolipid membran sel mikroba.

2.5 Antibiotik yang menghambat sintesis asam nukleat sel mikroba. Siprofloksasin dan golongan kuinolon adalah antibiotik yang menghambat sintesis asam nukleat sel mikroba. Salah satu derivat Siprofloksasin berikatan dengan enzim polimerase RNA, menghambat sintesis RNA dan DNA.

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 tidak lagi terpengaruh oleh antibiotik yang sebelumnya mampu mengobati infeksi yang ditimbulkannya secara 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 (Siprofloksasin)

Kontrol positif merupakan kelompok perlakuan yang digunakan untuk menunjukkan adanya respons atau perubahan pada variabel tergantung. Dalam penelitian ini, antibiotik siprofloksasin digunakan sebagai kontrol positif. Siprofloksasin merupakan senyawa bakterisidal yang termasuk dalam turunan fluorokuinolon. Struktur kimianya mirip dengan asam nalidiksat, namun memiliki efektivitas antibakteri yang lebih tinggi serta cakupan spektrum yang lebih luas.

Mekanisme kerja dari obat golongan kuinolon adalah dengan menghambat secara selektif sintesis asam deoksiribosa nukleat (DNA) bakteri dengan memblok sub unit A enzim DNA-girase, suatu tipe II topoisomerase. Hambatan tersebut menyebabkan sintesis DNA bakteri terganggu, sehingga menyebabkan bakteri mati. Siprofloksasin digunakan untuk mengobati infeksi yang bekerja menghambat sintesis protein dan asam nukleat yang disebabkan bakteri gram negatif seperti *Gonokokus*, *Shigella*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Haemophilus*, *Moraxella catarrhalis* serta *Enterobacteriaceae* dan *P. Aeruginosa* serta bakteri gram positif tertentu, seperti *Staphylococcus sp* dan *Streptococcus sp* (Satiya Ningsih *et al.*, 2021). Dosis oral untuk infeksi saluran kemih dan saluran nafas : 250-500 mg 2 dd selama 7 hari.

Untuk infeksi saluran cerna 500 mg 1 dd selama 7 hari (Siswandono & Soekardjo 2008). Penggunaan antibiotik siprofloksasin ini sebagai pembanding (kontrol positif) karena memiliki spektrum yang luas sebagai antibakteri. Penelitian yang dilakukan oleh (Aqualine *et al.*, 2020) menunjukkan bahwa siprofloksasin dapat digunakan sebagai antibiotik untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh *E. coli*.

I. Metode Pengujian Antibakteri

1. Metode Difusi

Metode difusi merupakan salah satu teknik yang umum digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri. prinsip metode ini bekerja berdasarkan prinsip difusi senyawa antimikroba ke dalam media padat yang telah diinokulasi dengan bakteri uji. Hasil pengamatan ditentukan dari terbentuknya zona jernih di sekitar cakram kertas, yang menandakan adanya hambatan terhadap pertumbuhan bakteri (Balaouri *et al.*, 2016). Terdapat tiga jenis metode difusi yang dapat digunakan, yaitu metode sumuran, cakram, dan 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 disekitar sumuran sampel atau zat yang digunakan dilihat zona bening disekitar sumuran jika tidak ada zona bening disekitar sumuran berarti zat yang digunakan tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Primadiamanti *et al.*, 2018). Kelebihan dari metode ini adalah luas zona hambat yang terbentuk lebih mudah diukur karena isolat beraktivitas aktif tidak hanya pada permukaan atas nutrien agar tetapi juga pada permukaan bawah (Haryati *et al.*, 2017).

1.2 Metode cakram kertas. merupakan metode difusi pada pengujian antibakteri yang menggunakan kertas cakram sebagai medium untuk menyerap bahan antimikroba yang sudah jenuh ke dalam sampel uji. Setelah itu, kertas cakram ditempatkan di atas permukaan media yang telah diinokulasi dengan biakan mikroba uji, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Area atau zona transparan di sekitar kertas cakram diamati untuk mengetahui apakah ada pertumbuhan mikroba atau tidak. Diameter zona transparan menunjukkan jumlah mikroba uji yang ditambahkan ke kertas cakram (Bonang, 1992). Kelebihan dari metoda cakram yaitu dapat dilakukan pengujian dengan lebih cepat pada penyiapan cakram (Listari, 2009).

1.3 Metode Silinder. Merupakan metode silinder besi tahan karat atau gelas diletakkan di atas media agar yang telah diinokulasi bakteri. Tiap silinder diatur sedemikian rupa sehingga berdiri di atas media agar. Kemudian, larutan yang akan diuji dimasukkan ke dalam silinder dan diinkubasi selama 24 jam di sekitar zona bening di dalamnya. Setelah zona bening tersebut terlihat jelas saat diinkubasi, ukur diameternya dilakukan dengan jangka sorong (Tenda *et al.*, 2017).

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

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

1.4 Metode dilusi. Merupakan metode untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) zat antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri dapat diukur melalui metode dilusi. Metode ini dilakukan dengan mencampur zat ke media pembenihan, kemudian diinokulasikan dengan bakteri dan kemudian diinkubasikan. Hasil pengujian dihitung dengan melihat pertumbuhan bakteri (Pratiwi, 2008). Dua kategori metode dilusi adalah dilusi cair dan dilusi padat. Metode dilusi padat untuk mengukur Kadar Bakterisidal Minimum (KBM), sementara metode dilusi cair mengukur Kadar Hambat Minimum (KHM) dengan melakukan pengenceran agen antimikroba ke dalam medium cair yang mengandung agen antimikroba dan dilusi padat dilakukan menginokulasi mikroba uji pada media agar yang mengandung agen antimikroba. Kelebihan metode dilusi ini adalah bahwa satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji sejumlah mikroba yang diuji (Pratiwi, 2008).

J. Kombinasi Antibakteri

1. Pengertian antibakteri

Kombinasi antibakteri dapat digunakan untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Diharapkan dari 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 diidentifikasi 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 Adiktif 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 daripada 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 daripada penjumlahan kedua efek antibakteri (Gunawan *et al.*, 2008).

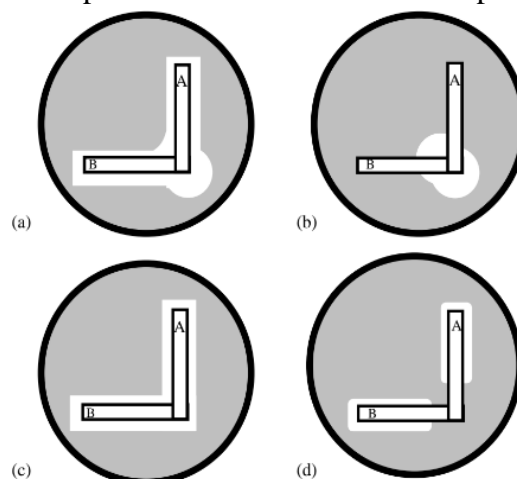
3. Metode Uji kombinasi

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 di autoklaf, 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 5% dari total

volume (Chan *et al.*, 1987).

3.2 Metode Pita Kertas Merupakan metode yang dilakukan dengan cara strip direndam dalam larutan antimikroba dan ditempatkan tegak lurus satu sama lain pada plat 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 adalah a. sinergis, b. sinergis, c. Additive/Indifferent; d. antagonis (Lisna *et al.*, 2022)

3.3 Metode Cakram. Difusi cakram adalah metode yang paling banyak digunakan karena mudah dilakukan. Metode ini menggunakan sampel antibakteri pada kertas cakram dan kemudian ditempelkan pada media agar yang sudah digoreskan bakteri. Selanjutnya, diinkubasi sampai zona hambat di sekitar cakram terlihat (Novita, 2016). Parameter yang dilihat adalah zona bening pada sekeliling cakram kertas. Ini menunjukkan bahwa pertumbuhan mikroorganisme telah dihentikan atau terhambat oleh ekskresi zat antimikroba oleh kompetitornya (Byod, 1995; Athlas and bartha, 1998). Kriteria ini didasarkan pada (Davis dan Stout (1971), yang menyatakan bahwa kekuatan daya antibakteri 20 mm atau lebih merupakan tanda

sangat kuat; 10-20 mm merupakan tanda kuat; 5-10 mm merupakan tanda sedang; dan 5 mm atau kurang merupakan tanda lemah.

K. Landasan Teori

Penyakit infeksi disebabkan oleh mikroorganisme parasit seperti bakteri, virus, atau jamur (WHO, 2014). Terapi yang paling umum digunakan untuk mengatasi infeksi adalah pemberian antibiotik. Antibiotik merupakan senyawa kimia yang dihasilkan secara alami maupun sintetis oleh mikroorganisme dan memiliki kemampuan menghambat aktivitas mikroorganisme lain meskipun dalam jumlah kecil (Waluyo, 2004). Beberapa antibiotik yang umum digunakan untuk mengobati infeksi akibat *Escherichia coli* antara lain ciprofloxacin, ampicillin, carbenicillin, cephalothin, chloramphenicol, gentamicin, kanamycin, nalidixic acid, norfloxacin, tetracycline, ticarcillin, tobramycin, serta trimethoprim-sulfamethoxazole (McKee et al., 2003; Suwito dan Setyadji, 2011).

Biji buah pinang memiliki kandungan kimia sebagai antibakteri yaitu senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan polifenol yang dapat membunuh bakteri patogen (Fredison *et al.*, 2023). Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak biji pinang sebelumnya telah dilakukan oleh (Telaumbanua *et al.*, 2021) pada konsentrasi 25 mg/ml, 50 mg/ml, 100 mg/ml, 150 mg/ml, 200 mg/ml, 300 mg/ml, 400 mg/ml dan 500 mg/ml, dapat memberikan hambatan sebesar 6,30 mm, 15,53 mm, 14,46 mm, 13,30 mm, 11,40 mm, 9,50 mm, 8,20 mm, 7,63 mm terhadap bakteri *Escherichia coli*. Menurut penelitian (Asrianto *et al.*, 2021) pada pengujian tersebut diketahui dapat menghambat aktivitas antibakteri pada konsentrasi 20%, 40%, 60% dan 80% pada pengujian tersebut dapat memberi hambatan pada *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Daun kelor memiliki kandungan senyawa seperti flavonoid, tanin, saponin, alkaloid dan terpenoid, senyawa tersebut dapat digunakan sebagai antibakteri (Rohyani, 2015). Aktivitas antibakteri pada ekstrak daun kelor berasal dari senyawa berupa flavonoid, tanin, saponin, alkaloid dan terpenoid, senyawa tersebut dapat digunakan sebagai antibakteri. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun kelor sebelumnya telah dilakukan oleh (Emelia *et al.*, 2020) pada pengujian tersebut diketahui bahwa ekstrak dari daun kelor dapat menghambat menghambat aktivitas bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 6%,

8% dan 10% memberi hambatan sebesar 7,83 mm, 10,33 mm dan 18,83 mm. Menurut penelitian (Maharani, *et al.*, 2017) terkait ekstrak etanol daun kelor dan daun salam mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia Coli* dan *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 4%, 6%, 8%, 10%. Konsentrasi terbaik yang dihasilkan pada penelitian tersebut yaitu ekstrak daun kelor pada konsentrasi 4% dengan zona bening sebesar 7,209 mm untuk *Escherichia coli* dan 7,718 mm untuk *S.aureus*, sedangkan pada daun salam pada konsentrasi 2% sebesar 7,278 mm untuk *Escherichia coli* dan 7,773 mm untuk *S.aureus*. Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh (Pamula *et al.*, 2025) terkait uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dan biji pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap *Escherichia coli* didapatkan hasil zona hambat paling besar pada perbandingan 2:1 dengan konsentrasi 20% dengan diameter zona hambat $13,92 \pm 0,65$ mm dengan kategori kuat.

Pada penelitian ini, aktivitas antibakteri diuji dengan metode dilusi dan difusi. Prinsip metode dilusi adalah substansi antimikroba dalam kadar bertingkat dicampur ke dalam medium bakteriologis solid atau cair. Metode dilusi dapat digunakan untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) yang ditentukan dengan cara melihat kekeruhan pada tabung uji dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) yang ditentukan dengan melihat tumbuhnya koloni pada media agar (Griselda *et al.*, 2023). Uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi merupakan parameter, yang digunakan zona hambat terbentuk pada media. Pengukuran zona hambat dilakukan dengan mengukur menggunakan jangka sorong yang memiliki ukuran dan diameter vertikal kemudian hasil yang diperoleh dikurangi diameter cakram 6 mm. Metode difusi cakram dipilih karena mudah dilakukan, pengujian cepat, biaya relatif murah, dan tidak memerlukan keahlian khusus (Intan *et al.*, 2021).

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 (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 (Rahmawati *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 (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.

L. Hipotesis

1. Dapat ditentukan berapa KBM dan KHM pada konsentrasi kombinasi ekstrak etanol biji pinang dan daun kelor pada pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*
2. Ekstrak etanol biji pinang dan daun kelor terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dapat ditentukan.
3. Kombinasi ekstrak etanol biji pinang dan ekstrak daun kelor yang memiliki aktivitas antibakteri paling optimal terhadap bakteri *Escherichia coli* adalah 2:1
4. Pola efek kombinasi ekstrak biji pinang dan daun kelor sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* adalah sinergis.