

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 1.1 Tinjauan Tentang Tumbuhan Buah Keben

##### 1.1.1 Deskripsi tumbuhan buah keen (*Barringtonia asiatica* L. Kurz)

Buah keen (*Barringtonia asiatica* L.Kurz) bagian luarnya terdiri dari kulit berserabut sedangkan di dalamnya ada tempurung, di dalam tempurung ada sebutir biji yang keras, berlendir serta berwarna putih. Buah ini dimanfaatkan secara empiris oleh masyarakat Papua karena memiliki khasiat yang dapat menyembuhkan berbagai jenis sakit mata seperti rabun jauh, rabun dekat, glaukoma, keratitis dan katarak (Heinrich, 2006). Masyarakat di Kepulauan Polinesia dan Nigeria memanfaatkan cairan dari kulit pohon keen (*Barringtonia asiatica* L. Kurz) yang dihancurkan untuk mengobati sakit dada dan jantung (Umaru, 2018). Tumbuhan Keen di Papua Nugini digunakan untuk mengobati sakit perut, beberapa penelitian juga menunjukkan bahwa ekstrak air biji keen memiliki aktivitas sitotoksik terhadap *Artemia salina* sehingga berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan antikanker (Mojica dan Micor, 2007). Potensi tumbuhan keen juga menunjukkan berpotensi sebagai obat kumur yang dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* (Hasria dan Yuliana, 2018).



a. (Pohon keen) b. (Buah keen) c. (Biji buah Keen)

Gambar 2.1 Bagian Tanaman Keen (a, b, c) (Dokumen Pribadi, 2023).

### 2.1.2 Klasifikasi Buah Keben

Adapun klasifikasi dan taksonomi dari keben :

Divisi : Magnoliophyta  
Kelas : Magnoliopsida  
Subkelas : Dilleniidae  
Ordo : Lecythidales  
Famili : Barringtoniaceae Rudolph  
Genus : *Barringtonia*  
Spesies : *Barringtonia asiatica*.

### 2.1.3 Kandungan dan Manfaat

Kandungan senyawa aktif yang ada dalam tanaman keben adalah golongan saponin, alkaloid, triterpenoid, dan tanin (Irman, dkk., 2012). Pada penelitian lainnya menunjukkan senyawa metabolit saponin, triterpenoid, dan tanin. Dimana senyawa yang terkandung di dalam buah keben yang bersifat sebagai antibakteri untuk menghambat pertumbuhan bakteri adalah saponin dan tanin (Hasria dan Yuliana, 2018). Saponin yang banyak terkandung dalam tumbuhan telah lama digunakan untuk pengobatan tradisional. Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dengan mendanaturasi protein. Karena zat aktif permukaan saponin mirip deterjen maka saponin dapat digunakan sebagai antibakteri dimana tegangan permukaan dinding sel bakteri akan diturunkan dan permeabilitas membran bakteri dirusak (Sani, 2013). Kelangsungan hidup bakteri akan terganggu akibat rusaknya membran sel. Kemudian saponin akan berdifusi melalui membran sitoplasma sehingga kestabilan membran akan terganggu yang menyebabkan sitoplasma mengalami kebocoran dan keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel (Puspa, dkk., 2023).

Efek antibakteri tanin antara lain melalui reaksi dengan membran sel, tanin akan mendenaturasi dan mengkoagulasi protein serta merusak membran dinding sel. Tanin memiliki aktifitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktifkan adhesi sel mikroba juga menginaktifkan enzim dan materi genetik, dan mengganggu

transport protein pada pada lapisan dalam sel. Tanin juga mempunyai target mengganggu pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Hal ini menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati (Hasria dan Yuliana, 2018).

Manfaat buah keben sendiri telah dirasakan dibanyak negara khususnya Indonesia. Dibeberapa negara seperti Polinesia dan Nigeria memanfaatkan buah keben untuk pengobatan dada dan jantung. Di Papua Nugini keben dimanfaatkan secara empiris untuk mengobati sakit perut (Umaru, 2018). Di Indonesia sendiri buah keben telah banyak dimanfaatkan secara empiris di beberapa daerah. Di Teluk Tomini tumbuhan keben dimanfaatkan sebagai obat mata seperti katarak dan infeksi bakteri (Khumaidi, dkk., 2022). Di Papua khususnya di Desa Nafri, distrik Abepantai biji buah keben telah digunakan untuk pengobatan mata yang mengalami berbagai gangguan seperti katarak, pterygium, glaukoma baru, miopia, dan hipermetropia. Buah keben yang digunakan untuk pengobatan mata, dilakukan dengan cara memeras air buah keben yang masih muda kemudian meneteskannya pada mata (Heinrich, 2006).

#### 2.1.4 Tinjauan Tentang Bakteri

Bakteri merupakan suatu organisme yang memiliki satu sel atau uniselular, prokariota atau prokariot, dan berukuran mikroskopik atau berukuran sangat kecil serta tidak memiliki klorofil. Asal kata bakteri ini sendiri berasal dari kata "*bacterium*" dalam bahasa latin adalah kelompok terbanyak dari organisme hidup. Bakteri memiliki berbagai macam spesies jumlahnya sendiri mencapai hingga ratusan ribu. Selain itu, bakteri adalah organisme yang paling banyak berada di muka bumi ini. Adapun tempat tinggalnya berada di dalam tanah, di atas tanah, udara, air, organisme lain, dan masih banyak lagi. Bakteri bertumbuh serta berkembang sesuai dengan pH, temperatur, kandungan garam, zat kimia, zat metabolisme serta sumber nutrisi (Nur, dkk., 2020).

Bakteri merupakan organisme yang seringkali menyebabkan berbagai masalah kesehatan, yang sudah tentu harus diatasi. Salah satunya yaitu dengan adanya antibakteri. Antibakteri merupakan zat yang dapat menghambat atau membunuh bakteri dengan penyebab infeksi. Infeksi disebabkan oleh bakteri atau mikroorganisme yang patogen, dimana mikroba masuk ke dalam jaringan tubuh dan berkembang biak di dalam jaringan (Niswah, dkk., 2013). Berdasarkan sifat toksisitas selektif, antibakteri bersifat menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) dan bersifat membunuh bakteri (bakterisida). Sifat toksik selektif artinya zat antibakteri haruslah bersifat sangat toksik untuk bakteri, tetapi relatif tidak toksik pada hospes (Gunawan, 2018). Faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri dapat dibedakan menjadi faktor fisika dan kimia termasuk nutrisi dalam media kultur. Faktor fisika meliputi temperatur, pH, tekanan osmotik, dan cahaya. Faktor kimia meliputi karbon, oksigen, dan faktor pertumbuhan organik (Pratiwi, 2008).

#### 2.1.5 Bakteri *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus* berasal dari kata *staphyle* berarti kelompok buah anggur, *coccus* berarti bulat dan *aureus* berarti keemasan. Bakteri *Staphylococcus aureus* termasuk dalam bakteri gram positif yang memiliki dinding sel yang terdiri atas lapisan peptidoglikan yang tebal dan asam teikoat.



Gambar 2.2 Bakteri *Staphylococcus aureus* (Junaedi, 2017).

Berikut adalah klasifikasi dari bakteri *Staphylococcus aureus* :

Kingdom : Bacteria  
Divisi : Firmicutes  
Kelas : Cocci  
Bangsa : Bacillales  
Suku : Staphylococcaceae  
Marga : *Staphylococcus*  
Spesies : *Staphylococcus aureus* (Garrrity, dkk., 2004).

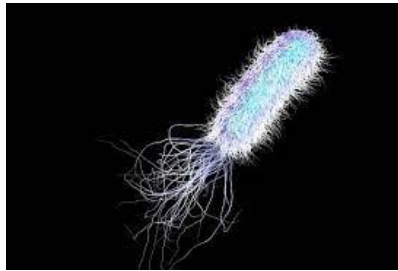
*Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri penyebab Infeksi tersering di dunia. Tingkat keparahan infeksi pun bervariasi, mulai dari infeksi minor di kulit (furunkulosis dan impetigo), infeksi trakrus respiratorius, infeksi pada mata seperti Sistem Saraf Pusat (SSP) dan keratitis (Afifurrahman, dkk., 2014). Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif yang mempunyai struktur dinding sel yang tebal yaitu 15-80 nm dan berlapis tunggal (mono). Sedangkan kandungan lipidnya rendah yaitu 1% - 4%, lapisan peptidoglikan pada bakteri gram positif ada sebagai lapisan tunggal dalam jumlah lebih dari 50% berat kering (Syahrurachman, dkk., 1993).

Bakteri *Staphylococcus aureus* pada umumnya membentuk pigmen kuning keemasan, memproduksi koagulase dan dapat memfermentasikan glukosa dan mannitol dengan memproduksi asam dalam keadaan anaerobik. Sel dari bakteri ini berbentuk bulat (kokus) berukuran diameter 0.5–1.5 nm, tidak membentuk spora, katalase positif dan biasanya sel-selnya terdapat dalam kelompok seperti buah anggur. Akan tetapi, juga mungkin terdapat secara terpisah (tunggal) membentuk pasangan atau dalam jumlah 4 sel (tetrad). *Staphylococcus aureus* akan tahan terhadap lisis yang disebabkan oleh enzim *lysozim* dan memproduksi enzim *fosfatase* dan *deoksiribonuklease* (Supardi dan Sukamto, 1999). *Staphylococcus*

*aureus* hidup sebagai saprofit di dalam saluran-saluran pengeluaran lendir dari tubuh manusia dan hewan seperti hidung, mulut, dan tenggorokan, dan dapat dikeluarkan pada waktu batuk atau bersin. Bakteri ini juga sering terdapat pada pori-pori dan permukaan kulit, kelenjar keringat dan saluran usus (Supardi dan Sukamto, 1999).

#### 2.1.6 Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

*Pseudomonas aeruginosa* adalah bakteri batang gram negatif, aerob, dan bergerak menggunakan flagel. *Pseudomonas aeruginosa* memiliki beberapa faktor yang mendukung yaitu kemampuan organisme tersebut untuk beradaptasi dengan lingkungan, memiliki mekanisme resisten terhadap berbagai macam antibiotik dan disinfektan.



Gambar 2.3 Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (Getty, 2023)

Berikut adalah klasifikasi dari bakteri *Pseudomonas aeruginosa* :

|         |                                                   |
|---------|---------------------------------------------------|
| Kingdom | : Bacteria                                        |
| Phylum  | : Proteobacteria                                  |
| Class   | : Gamma Proteobacteria                            |
| Order   | : Pseudomonadales                                 |
| Family  | : Pseudomonadaceae                                |
| Genus   | : <i>Pseudomonas</i>                              |
| Species | : <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Soedarto, 2015). |

*Pseudomonas aeruginosa* merupakan flora normal usus dan kulit manusia dalam jumlah yang kecil serta merupakan patogen utama dalam grup *Pseudomonas*. *Pseudomonas aeruginosa* tersebar luas di alam dan biasanya ditemukan pada lingkungan yang lembab. *Pseudomonas aeruginosa* adalah bakteri oportunistik. Patogen oportunistik ini menyebabkan infeksi sistem pernapasan yang menyebabkan pneumonia

nosokomial, otitis media pada telinga, infeksi pada mata yaitu keratitis, osteomyelitis pada tulang, saluran pencernaan (diare dan enteritis), sistem peredaran darah (bakteremia dan septikemia), Infeksi Saluran Kemih (ISK) (Tiana, dkk., 2014). *Pseudomonas aeruginosa* terlihat sebagai bentuk tunggal, berpasangan dan terkadang dalam rantai pendek, lebar 0.5-0.8  $\mu\text{m}$  dan panjang 1.5- 3.0  $\mu\text{m}$ .

*Pseudomonas aeruginosa* bergerak aktif dengan satu flagel kutub (*single polar flagellum*), tidak memiliki spora, dapat tumbuh pada suhu 37-42°C dan bila dibiakkan pada medium blood agar akan menunjukkan hemolisis beta, serta bersifat oksidase positif. *Pseudomonas aeruginosa* bersifat aerobik atau anaerobik fakultatif karena dapat menggunakan Arginin dan Nitrat ( $\text{NO}_3$ ) sebagai penerima elektron pernapasan (*respiratory electron acceptor*). Bakteri ini dapat hidup dan berkembang dalam keadaan tanpa oksigen. Isolat *Pseudomonas aeruginosa* dapat membentuk tiga macam koloni (Soedarto, 2015).

## 2.2 Tinjauan Tentang Simplisia

Simplisia adalah bahan alam yang telah dikeringkan untuk digunakan dalam pengobatan dan belum mengalami pengolahan. Pengeringan dapat dilakukan dengan penjemuran di bawah sinar matahari, diangin-angin, atau menggunakan oven, kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan dengan oven tidak lebih dari 60°C (Kemendiknas RI, 2017). Adapun penggolongan simplisia menurut farmakope Indonesia edisi III dibedakan menjadi tiga yaitu :

### a. Simplisia Nabati

Simplisia Nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tumbuhan atau dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya atau zat nabati lain yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tumbuhannya. Serbuk simplisia nabati adalah bentuk serbuk dari simplisia nabati, dengan ukuran derajat kehalusan tertentu. Sesuai dengan derajat kehalusannya, dapat berupa serbuk sangat kasar, kasar, agak kasar, halus dan sangat halus. Serbuk simplisia nabati tidak boleh mengandung fragmen jaringan dan benda asing yang bukan merupakan komponen asli dari

simplisia yang bersangkutan antara lain telur nematoda, bagian dari serangga dan hama serta sisa tanah (Kemenkes RI, 2017).

b. Simplisia Hewani

Simplisia hewani adalah simplisia berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat berguna yang dihasilkan hewan, tetapi yang masih belum berupa zat kimia murni.

c. Simplisia Mineral

Simplisia pelikan atau mineral yaitu simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah secara sederhana belum berupa zat kimia murni (Depkes RI, 1979).

## **2.3 Tinjauan Tentang Ekstraksi**

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani (Depkes RI, 1995). Proses ekstraksi pada dasarnya adalah proses perpindahan massa dari komponen zat padat yang terdapat pada simplisia ke dalam pelarut organik yang digunakan (Marjoni, 2016). Sebagian besar ekstrak dibuat dengan mengekstraksi bahan baku obat secara perkolasi. Seluruh perkolat biasanya dipekatkan secara destilasi dengan pengurangan tekanan, agar bahan sesedikit mungkin terkena panas. Kemudian semua atau hampir yang tersisa semua pelarut diperlakukan massa atau serbuk (Depkes RI, 1995).

Ekstraksi dilakukan menggunakan pelarut yang sesuai, lalu semua atau hampir semua pelarut diuapkan. Kemudian massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan. Sedangkan ekstrak kering adalah sediaan yang berasal dari tanaman atau hewan. Ekstrak kering diperoleh dengan cara pemekatan dan pengeringan ekstrak cair sampai mencapai konsentrasi yang diinginkan menurut cara-cara yang memenuhi syarat. Pemekatan biasanya dilakukan berdasarkan kandungan bahan aktif dengan cara penambahan bahan tambahan inert. Pengeringan berarti menghilangkan pelarut dari bahan sehingga menghasilkan serbuk, masa kering-rapuh, tergantung proses dan peralatan yang digunakan (Depkes RI, 1995).

## 2.4 Tinjauan Metode Ekstraksi

Berikut beberapa metode ekstraksi dalam pembuatannya yaitu dengan menggunakan pelarut :

### 2.4.1 Cara Dingin

#### 2.4.1.1 Maserasi

Maserasi merupakan salah satu metoda ekstraksi yang dilakukan dengan cara merendam simplisia nabati menggunakan pelarut tertentu selama waktu tertentu dengan sesekali dilakukan pengadukan atau penggojokan. Prinsip kerja dari maserasi adalah proses melarutnya zat aktif berdasarkan sifat kelarutannya dalam suatu pelarut (*like dissolved like*). Ekstraksi zat aktif dilakukan dengan cara merendam simplisia nabati dalam pelarut yang sesuai selama beberapa hari pada suhu kamar dan terlindung dari cahaya (Marjoni, 2016).

### 2.4.2 Cara Panas

#### 2.4.2.1 Refluks

Refluks merupakan suatu metode ekstraksi dengan bantuan pemanasan. Faktor yang mempengaruhi proses ekstraksi antara lain jumlah pelarut dan waktu ekstraksi. Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna (Depkes RI, 2000).

#### 2.4.2.2 Digesti

Digesti merupakan proses ekstraksi yang cara kerjanya hampir sama dengan maserasi. Digesti adalah maserasi kinetik pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan kamar. Digesti secara umum dilakukan pada temperatur 40°C - 50°C. Metode ini digunakan untuk simplisia yang zat aktifnya tahan pada pemanasan. (Depkes RI, 2000).

#### 2.4.2.3 Sokletasi

Metode sokletasi merupakan metode ekstraksi cara panas. Sokletasi merupakan suatu cara ekstraksi dengan menggunakan alat ekstraktor soxhlet dalam proses ekstraksinya (Harun dan Rahmad, 2020). Sokhletasi dapat digunakan pada pelarut organik tertentu. Sokletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru, yang umumnya dilakukan dengan alat khusus. Sehingga terjadi ekstraksi kontinyu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Depkes RI, 2000).

#### 2.4.2.4 Infusa

Infus merupakan salah satu metode ekstraksi dengan cara panas. Infus adalah ekstraksi menggunakan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih terperatur terukur 96°C - 98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit) (Depkes RI, 2000). Infusa merupakan sediaan cair yang dibuat dengan cara menyari simplisia nabati dengan air pada suhu 90°C selama 15 menit (Marjoni, 2016).

#### 2.4.2.5 Dekokta

Dekok adalah infus pada waktu lebih lama (<30°C) dan temperature sampai titik didih air (Depkes RI, 2000). Proses penyarian dekokta hampir sama dengan infusa, perbedaannya hanya terletak pada lamanya waktu pemanasan. Waktu pemanasan pada dekokta lebih lama dibandingkan metode infusa, yaitu 30 menit dihitung setelah suhu mencapai 90°C (Marjoni, 2016).

### 2.5 Tinjauan Tentang Fraksinasi

Fraksinasi adalah mekanisme untuk memilah-milah atau memisahkan suatu kumpulan/kesatuan menjadi beberapa bagian (*fraction/part*) atau lebih mudahnya dapat dikatakan sebagai proses pembagian kelompok. Melalui proses fraksinasi maka misalkan dari sebuah ekstrak yang mengandung 100 senyawa dapat dibagi menjadi empat fraksi/kelompok (fraksi A, B, C, dan D), dengan masing-masing anggotanya sekitar 25 jenis senyawa. Setelah itu dapat dilakukan pembagian kelompok tahap ke dua,

dengan melakukan fraksinasi pada kelompok target/terpilih. Sebuah ekstrak dari suatu bahan tanaman dapat mengandung puluhan atau ratusan senyawa. Fraksinasi ditujukan untuk mendapatkan fraksi (bagian) tertentu dari suatu ekstrak, dimana bagian itulah yang merupakan fraksi aktif, dan perlu dipisahkan dari fraksi lainnya yang kurang aktif (Agung, 2017).

Ada berbagai macam tujuan dari fraksinasi. Fraksinasi dapat ditujukan untuk mendapatkan fraksi (bagian) tertentu dari suatu ekstrak, dimana bagian itulah yang merupakan fraksi aktif, dan perlu dipisahkan dari fraksi lainnya yang kurang aktif. Tujuan lainnya adalah dalam rangka mendapatkan ekstrak yang lebih murni, sehingga perlu dihilangkan senyawa-senyawa lain yang mengotori atau mengganggu. Fraksinasi juga diperlukan ketika akan melakukan isolasi atau pemisahan satu senyawa metabolit sekunder tunggal. Fraksinasi dapat dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair atau dengan Kromatografi Cair Vakum (KCV), kromatografi kolom, *Size Exclusion Chromatography* (SEC), *Solid Phase Extraction* (SPE) (Agung, 2017).

## **2.6 Tinjauan Tentang Pelarut**

Pelarut sangat memengaruhi proses ekstraksi, oleh sebab itu sangat penting dilakukan seleksi pemilihan dalam penggunaan pelarut. Pemilihan pelarut pada umumnya dipengaruhi oleh faktor-faktor antara lain :

### **1. Selektivitas**

Pelarut dapat melarutkan semua zat yang akan diekstrak dengan cepat dan sempurna.

### **2. Titik didih pelarut**

Pelarut harus mempunyai titik didih yang cukup rendah sehingga pelarut mudah diuapkan tanpa menggunakan suhu tinggi pada proses pemurnian, dan jika diuapkan tidak tertinggal dalam minyak.

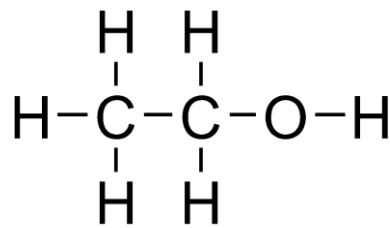
### **3. Pelarut tidak larut dalam air.**

### **4. Pelarut Bersifat inert sehingga tidak bereaksi dengan komponen lain.**

### **5. Harga pelarut semurah mungkin.**

### **6. Pelarut mudah terbakar.**

#### **2.6.1 Etanol**

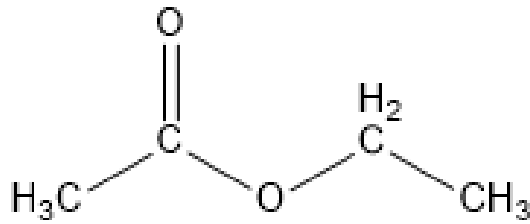


Gambar 2.4 Struktur Etanol (Indriyanti, 2012).

|             |                                                                                                                                                     |
|-------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Pemerian    | : Cairan tidak berwarna, jernih, mudah menguap dan mudah bergerak; bau khas; rasa panas. Mudah terbakar dengan memberikan nyala biru tidak berasap. |
| Rumus kimia | : $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$                                                                                                                 |
| Kelarutan   | : Sangat mudah larut dalam air dalam <i>kloroform P</i> dan <i>eter P</i> .                                                                         |
| Bobot jenis | : 0,8119 sampai 0,8139.                                                                                                                             |
| Penyimpanan | : Dalam wadah tertutup rapat, terlindung dari Cahaya; di tempat sejuk, jauh dari nyala api.                                                         |
| Fungsi      | : Zat tambahan (Depkes RI, 1979).                                                                                                                   |

Sering digunakan sebagai pelarut dalam laboratorium karena mempunyai kelarutan yang relatif tinggi dan bersifat inert sehingga tidak bereaksi dengan komponen lain. Etanol merupakan cairan mudah menguap, jernih, tidak berwarna; bau khas menyebabkan rasa terbakar pada lidah. Mudah menguap walaupun pada suhu rendah dan mendidih pada suhu  $78^\circ\text{C}$ , mudah terbakar. Etanol bercampur dengan air dan praktis bercampur dengan semua pelarut organik (Kemenkes RI, 2014).

#### 2.6.2 Etil Asetat

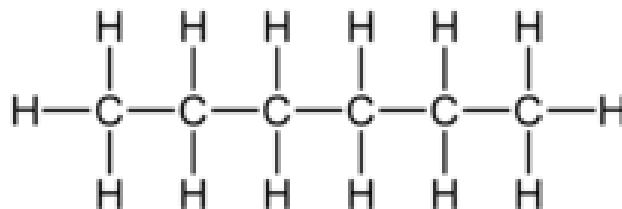


Gambar 2.5 Struktur Etil Asetat (Shandika, 2018).

|                 |                                                              |
|-----------------|--------------------------------------------------------------|
| Nama resmi :    | Etil asetat                                                  |
| Nama lain :     | Cuka                                                         |
| Berat molekul : | 60,05 g/mol                                                  |
| Rumus molekul : | C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>                 |
| Pemerian :      | Cairan jernih; tidak berwarna, bau menusuk, rasa asam, tajam |
| Kelarutan :     | Larut dengan air, etanol (95%), dan gliserol                 |
| Penyimpanan :   | Dalam wadah tertutup rapat (Depkes RI, 1995).                |

Etil asetat merupakan senyawa yang diperoleh dari pertukaran gugus hidroksil pada asam karboksilat dengan gugus hidrokarbon yang terdapat pada etanol. Etil asetat sering kali disintesis dengan menggunakan katalisator air berupa asam sulfat. Penggunaan katalisator asam sulfat dapat menghasilkan konversi yang cukup tinggi yaitu 98% (Nuryoto, 2008).

### 2.6.3 n-heksana



Gambar 2.6 Struktur n-heksana (Yulia, 2020).

Nama resmi : n-heksana

|               |                                                                                                                                                                                     |
|---------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Nama lain     | : n-heksana                                                                                                                                                                         |
| Rumus molekul | : $C_6H_{14}$                                                                                                                                                                       |
| Berat molekul | : 86,18 g/mol                                                                                                                                                                       |
| Pemerian      | : Cairan jernih, mudah menguap, bau seperti eter lemah atau bau seperti petroleum                                                                                                   |
| Kelarutan     | : Praktis tidak larut dalam air, larut dalam etanol mutlak, dapat dicampur dengan eter, dengan kloroform, dengan benzena, dan dengan sebagian besar minyak lemak dan minyak atsiri. |
| Penyimpanan   | : Dalam wadah tertutup baik                                                                                                                                                         |
| Kegunaan      | : Sebagai pelarut (Depkes RI, 1995).                                                                                                                                                |

Heksana adalah sebuah senyawa hidrokarbon alkane dengan rumus kimia  $C_6H_{14}$ . Awalan heks- merujuk pada enam karbon atom yang terdapat pada heksana dan akhiran -ana berasal dari alkana, yang merujuk pada ikatan tunggal yang menghubungkan atom-atom karbon tersebut. Pelarut ini memiliki titik didih antara 65-70°C (Kemenkes RI, 2014).

## 2.7 Metode Pengujian Antibakteri

Pada uji antibakteri dapat dilakukan dengan dua metode yaitu metode difusi dan dilusi. Kegunaan uji antibakteri adalah memperoleh suatu sistem pengobatan yang efektif dan efisien. Terdapat bermacam-macam metode uji antibakteri sebagai berikut (Pratiwi, 2008) :

### 2.7.1 Metode Difusi

#### a. Metode *Disk diffusion*

Metode disc diffusion atau test Kirby Bauer merupakan metode yang paling banyak digunakan pada uji aktivitas antibakteri. Metode ini termasuk ke dalam metode difusi agar yang dilakukan dengan cara mengambil beberapa koloni bakteri uji yang telah ditumbuhkan selama 24 jam sebelumnya. Kemudian suspensikan ke dalam 0,5 mL media cair kemudian diinkubasi selama 5-8 jam. Suspensi bakteri uji tersebut ditambahkan aquadest steril hingga mencapai kekeruhan tertentu yang memenuhi standar *Mc. farland* dimana standar konsentrasi bakteri 108 CFU/ml. Selanjutnya, dengan menggunakan lidi steril suspensi bakteri dioleskan secara merata pada

media agar tersebut dan diinkubasi pada 37°C selama 24 jam. (Windiyaktina, 2018).

b. Metode *E-test*

Metode ini digunakan untuk mengestimasi MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) atau KHM (Kadar Hambat Minimum), yaitu konsentrasi minimal suatu agen antimikroba untuk dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Pada metode ini digunakan *strip plastik* yang mengandung agen antimikroba dari kadar terendah sampai tetinggi yang diletakkan pada permukaan media agar yang telah ditanami mikroorganisme. Pengamatan dilakukan pada area jernih yang ditimbulkan yang menunjukkan kadar agen antimikroba yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada media agar (Pratiwi, 2008).

c. Metode *ditch-plate technique*

Pada metode ini lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji dibuat sebidang parit. Parit tersebut berisi zat antimikroba, kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu optimum yang sesuai untuk mikroba uji (Bonang, 1992). Pada metode ini sampel diuji berupa agen antibakteri yang diletakkan pada parit yang dibuat dengan cara memotong media agar dalam cawan petri, pada bagian tengah secara membujur dan mikroba uji digoreskan kearah parit yang berisi agen antibakteri tersebut. Hasil pengamatan yang diperoleh berupa ada tidaknya zona hambat yang akan terbentuk di sekitar parit (Pratiwi, 2008).

d. Metode *Cup-plate technique*

Pada metode ini lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji dibuat suatu lubang yang selanjutnya diisi dengan zat antimikroba uji. Setelah diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan mikroba uji, dilakukan pengamatan dengan melihat ada atau tidaknya zona hambatan di sekeliling lubang (Bonang, 1992).

## 2.7.2 Metode Dilusi

a. Metode Dilusi Cair (*Serial Dilution*)

Metode dilusi cair digunakan untuk mengukur Konsentrasi Hambatan Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM). Cara ini dilakukan

dengan membuat seri pengenceran agen antibakteri pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji agen antibakteri pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM selanjutnya diulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antibakteri dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang terlihat jernih setelah diinkubasikan merupakan KBM (Pratiwi, 2008).

b. Metode Dilusi Padat (*Solid dilution test*)

Metode ini sama dengan metode cair hanya medianya diganti dengan menggunakan media padat. Kelebihan menggunakan dilusi padat yaitu satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji. Metode dilusi padat dapat menguji beberapa macam bakteri dalam satu konsentrasi zat antimikroba (Pratiwi, 2008). Pada dilusi padat tiap konsentrasi obat dicampurkan dengan media agar lalu ditanami bakteri dan diinkubasi (Hasibuan, 2016).

## 2.8 Tinjauan Antibiotik Pembanding

*Ciprofloxacin* adalah golongan florokuinolon generasi kedua yang memiliki aktivitas baik terhadap bakteri gram negatif dan aktivitas sedang-baik terhadap gram positif. MIC (*Minimum Inhibitor Concentration*) *ciprofloxacin* untuk kokus dan basil gram negatif, termasuk *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas*, *Neiseria*, *Haemophilus* dan *Campylobacter* adalah 1-2 µg/ml dan sering kali kurang dari nilai tersebut. *Ciprofloxacin* berkhasiat sebagai bakteriosida, yang mana cara kerjanya adalah menghambat dua enzim yang bekerja pada fase pertumbuhan bakteri yaitu DNA gyrase dan topoisomerase IV sehingga sintesa DNA bakteri terganggu. DNA gyrase adalah enzim yang menimbulkan relaksasi pada DNA *supercoiling* (pilinan positif yang berlebihan) yang diperlukan transkripsi pada proses replikasi DNA bakteri (Katzung, 2010).

Topoisomerase IV berfungsi dalam pemisahan DNA baru yang terbentuk setelah proses replikasi DNA bakteri. Inkubasi DNA girase mencegah relaksasi DNA *supercoiled* positif yang diperlukan untuk transkripsi dan

replikasi normal. Inhibisi topoisomerase IV mengganggu pemisahan kromosom DNA pasca replikasi ke dalam masing-masing sel anak selama pembelahan sel. Kedua proses tersebut dihambat oleh *Ciprofloxacin*. Golongan obat ini menjadi obat pilihan pertama untuk infeksi bakteri *Escherichia coli* dan mejadi obat alternatif pada infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* (Katzung, 2010). Beberapa antibiotik yang memiliki daya hambat tertinggi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* adalah *meropenem*, *ciprofloxacin*, dan *ampicillin* (Komang dan Tri, 2016). Obat ini digunakan untuk infeksi saluran napas, infeksi lambung usus, infeksi kulit dan jaringan lunak serta diare perjalanan (Katzung, 2010).

