

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D. C.)

2.1.1 Taksonomi Tanaman Jeruk Purut

Jeruk purut mempunyai taksonomi sebagai berikut (Miftahendrawati, 2018):

Kingdom : *Plantae*
Subkingdom : *Tracheobionta*
Super Divisi : *Spermatophyta*
Divisi : *Magnoliophyta*
Kelas : *Magnoliopsida*
Subkelas : *Rosidae*
Ordo : *Sapindales*
Famili : *Rutaceae*
Genus : *Citrus*
Spesies : *Citrus hystrix*



Gambar 2.1 Daun Jeruk Purut

(Sumber : Dokumentasi Pribadi)

2.1.2 Morfologi Daun Jeruk Purut

Jeruk purut merupakan tanaman yang banyak tumbuh di daerah tropis. Struktur tanaman jeruk purut di mulai dari akar, batang, daun dan buah. Daun jeruk purut termasuk dalam kategori daun majemuk yang menyirip beranak daun satu. Helaian anak daun berbentuk bulat telur sampai lonjong, pangkal membundar atau tumpul, ujung daunnya tumpul sampai runcing, permukaan kecil dengan bintik-bintik kecil berwarna jernih, permukaan atas daun berwarna hijau muda atau hijau kekuningan. Ciri khas daun jeruk purut adalah jika dipotong-potong memiliki bau harum (Sari, 2024).

2.1.3 Khasiat Daun Jeruk Purut

Daun jeruk purut memiliki banyak manfaat, terutama bagian daunnya yang dapat diolah sebagai bumbu rempah masakan Indonesia. Daun jeruk purut sering dimanfaatkan sebagai bumbu dapur karena mengandung flavourant didalamnya. Daun jeruk purut di industri farmasi efektif digunakan untuk bahan obat influenza dan kulit bersisik atau mengelupas (Fadila dan Asri, 2020).

2.1.4 Kandungan Senyawa Daun Jeruk Purut

Daun jeruk purut mempunyai khasiat sebagai antioksidan dan antibakteri. Didalam daun jeruk purut terdapat kandungan minyak atsiri yang mengandung senyawa sitronellal yang tinggi, sehingga memiliki aktivitas antioksidan. Daun jeruk purut mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder yang berfungsi sebagai antibakteri, seperti flavonoid, alkaloid, saponin, steroid, tanin, dan minyak atsiri (Dhavesia, 2017). Kandungan tanin pada daun jeruk purut mencapai 1,8%, steroid triterpenoid, serta minyak atsiri sebesar 1-1,5% (Mifthahendrawati, 2018).

Flavonoid yang terdapat dalam daun jeruk purut termasuk dalam kelompok senyawa fenol terbesar dan efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri, virus, serta jamur. Dari hasil uji fitokimia yang dilakukan oleh Qonitah, F. *et al.*, terbukti mengandung golongan senyawa flavonoid, saponin, tannin, steroid, alkaloid dan minyak atsiri dapat tertarik dalam pelarut etanol 96% namun tidak mengandung terpenoid Qonitah, F. *et al.*, (2022).

a. Flavonoid

Flavonoid adalah kelompok senyawa metabolit sekunder yang memiliki struktur benzenanya tersubstitusi dengan gugus OH. Mekanisme kerja flavonoid bekerja sebagai antibakteri dengan cara membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler, yang mengakibatkan terganggunya keutuhan membran sel bakteri. Flavonoid bertindak dengan mendenaturasi protein sel bakteri secara permanen dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Rahmawati, Mayasari dan Narsa, 2020).

b. Saponin

Saponin merupakan senyawa kelompok glikosida yang memiliki aglikon berupa inti steroid (C27) yang terdapat di tumbuhan rumput dan inti triterpenoid yang dapat ditemukan pada tumbuhan kacang-kacangan seperti kedelai. Saponin steroid pada bidang farmakologi memiliki banyak manfaat yakni efektif mengobati penyakit di bidang orthopedi seperti rematik, ilmu penyakit dalam seperti anemia, diabetes, kulit dan kelamin seperti syphilis, andrologi seperti impotensi dan Anti-jamur karena zat aktif permukaannya mirip dengan detergen. Saponin triterpen berperan sebagai antibakteri, antijamur, anti-inflamasi dan

ekspektoran (Putri *et al.*, 2023). Mekanisme kerja saponin terhadap antibakteri yaitu dengan menurunkan permukaan tegangan dinding sel bakteri dan permeabilitas membran bakteri dirusak sehingga siklus hidup bakteri akan terganggu karena 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 (Putri *et al.*, 2023).

c. Tanin

Tanin merupakan kelompok senyawa makromolekul yang diperoleh dari ekstrak tanaman dan berperan sebagai *antinutrient* dan *enzyme inhibitor*. Prinsip tanin sebagai antibakteri yakni menghambat enzim *reverse transkriptase* dan DNA *topoisomerase* sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk. Proses bakteri menjadi lisis diawali dinding sel yang kurang sempurna akibat kerja target lisis kemudian terjadi tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati (Rijayanti, 2018).

d. Steroid

Steroid adalah salah satu senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada hewan atau tumbuhan. Steroid pada tumbuhan secara umum diklasifikasikan sebagai sterol. Mekanisme steroid Steroid berfungsi sebagai antibakteri dengan berinteraksi dengan membran lipid bakteri, sehingga meningkatkan sensitivitas terhadap komponen steroid dan menyebabkan kebocoran pada liposom bakteri sehingga mengakibatkan lisis bakteri (Anggraini *et al.*, 2019).

e. Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa metabolit sekunder yang bersifat basa dan memiliki satu atau lebih atom nitrogen yang melingkar sehingga bersifat alkali, sebagai bagian kelompok sistem siklik. Mekanisme alkaloid sebagai antibakteri dilakukan dengan penghambatan dan sintesis protein. Pada penghambatan akan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut, sedangkan sintesis protein akan mengganggu metabolisme bakteri. Golongan senyawa alkaloid dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif maupun gram negatif (Anggraini *et al.*, 2019).

f. Minyak atsiri

Minyak atsiri adalah minyak yang bersifat mudah menguap pada suhu kamar dan telah dikenal memiliki efektivitas terhadap antibakteri. Kandungan senyawa pada minyak atsiri dapat menghambat dari bakteri merugikan, seperti *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella*, dan *Pasteurella Salmonella* (Saputra, Puspawati dan Suirta, 2017). Minyak atsiri bukanlah senyawa murni namun, suatu campuran senyawa organik yang terkadang terdiri lebih besar dari 25 senyawa atau komponen yang berbeda. Dalam kondisi segar dan murni, Minyak atsiri umumnya tidak memiliki warna. Namun, pada penyimpanan jangka panjang minyak atsiri bisa teroksidasi. Untuk mencegah hal ini, minyak atsiri harus disimpan dalam wadah kaca berwarna gelap, terisi penuh, tertutup rapat dan disimpan di tempat yang kering serta sejuk (Minarno, 2018). Minyak atsiri daun jeruk purut mengandung senyawa 81,49% sitronella. Kandungan senyawa dalam minyak atsiri tersebut memiliki potensi antibakteri yang berbeda (Niswah, Indrayati dan Sari, 2023).

Minyak atsiri berperan sebagai antibakteri dengan cara mengganggu proses terbentuknya membran atau dinding sel sehingga tidak terbentuk atau terbentuk tidak sempurna. Minyak atsiri yang aktif sebagai antibakteri umumnya mengandung gugus fungsi hidroksil (-OH) dan karbonil (Sefriyanti, Jayuska dan Alimuddin, 2020).

2.2 Tanaman Singkong (*Manihot esculenta* crantz)

2.2.1 Taksonomi Tanaman Singkong

Secara umum klasifikasi singkong adalah sebagai berikut :



Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Subdivisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledoneae</i>
Ordo	: <i>Euphorbiales</i>
Famili	: <i>Euphorbiaceae</i>
Genus	: <i>Manihot</i>
Spesies	: <i>Manihot utilissima</i> Pohl.; <i>Manihot esculenta</i> Crantz



Gambar 2.2 Daun Singkong
(Sumber: Dokumentasi Pribadi)

1.2.2 Morfologi Daun Singkong

Singkong merupakan tanaman jenis ubi kayu yang banyak dibudidayakan di penangkaran masyarakat. Daun singkong termasuk jenis daun majemuk menjari dengan anak daun berbentuk elips yang berujung runcing. Warna daun muda hijau kekuningan atau hijau keunguan (Putri, 2017).

1.2.3 Khasiat Daun Singkong

Penggunaan tanaman singkong biasanya hanya dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai pakan ternak hewan seperti kambing atau sapi dan bisa diolah menjadi makanan untuk sayur atau keripik (Sutarsyah *et al.*, 2022). Daun singkong dipercaya efektif dalam mengobati penyakit rematik, menurunkan kadar asam urat, anemia, konstipasi atau sembelit dan masalah diare (Potti, Niwele dan Al Umar, 2022).

1.2.4 Kandungan Senyawa Daun Singkong

Daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) merupakan salah satu tanaman alami Indonesia yang banyak ditemukan di perkarangan masyarakat. Daun

singkong memiliki senyawa metabolit sekunder antara lain tanin, saponin dan flavonoid sebagai antibakteri. Senyawa tersebut dalam aktivitas farmakologi sebagai anti-inflamasi, antibakteri dan antioksidan (Pratiwi, 2016). Kandungan senyawa yang paling efektif pada daun singkong adalah Flavonoid dan fenolik. Ekstrak daun singkong terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis* (Meilawaty *et al.*, 2022).

a. Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa polifenol aktif yang banyak ditemukan pada tumbuhan dan memiliki turunan dari 2-fenilkroman sebagai inti dasar. Flavonoid memiliki peran anti-inflamasi, antioksidan, dan kardiovaskular dengan keamanan yang baik dan sedikit efek samping (Xue *et al.*, 2023). Terdapat beberapa klasifikasi flavonoid yakni flavon, flavanone, flavonol, katekin, flavanol, kalkon dan antosianin. Menurut penelitian Tsou *et al.*, (2016) dilakukan pengujian 13 macam senyawa fenol terhadap bakteri seperti *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Aspergillus niger*, dan *Escherichia coli* dengan metode difusi agar efektif dalam pertumbuhan bakteri, karena mengandung flavon, kuersetin, dan naringenin (Alfaridz dan Amalia, 2019). Berdasarkan pengujian fitokimia, Uji senyawa flavonoid dinyatakan positif apabila reaksi yang terjadi menghasilkan perubahan warna merah, kuning, atau orange pada lapisan amil alkohol (Potti, Niwele dan Al Umar, 2022). Mekanisme antibakteri dari flavonoid yaitu menghambat sintesis asam nukleat, fungsi membrane sel dan metabolisme energi (Syariah dan Ilmu, 2022).

b. Saponin

Saponin merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman. Saponin memiliki nilai titik didih yang tinggi berkisar 158 °C pada suhu 20 °C. Saponin dapat larut dalam berbagai pelarut seperti air, etanol dan metanol. (Santosa, Sari dan Handayani, 2018). Saponin dapat ditemukan pada tanaman umbi batang contohnya tanaman singkong. Menurut penelitian yang dilakukan Wirawan *et al.*, 2018 daun singkong memiliki kandungan saponin sekitar 1 – 4% (Wirawan, Tantalul dan Suliana, 2018). Berdasarkan pengujian fitokimia, Uji senyawa saponin dinyatakan positif apabila reaksi yang terjadi menghasilkan reaksi buih selama 10 menit (Potti, Niwele dan Al Umar, 2022).

c. Fenolik

Senyawa fenolik dalam tanaman berfungsi sebagai pelindung dari sinar UV-B dan mencegah kerusakan akibat kematian sel. Kelompok terbesar dari senyawa fenolik adalah flavonoid. Senyawa fenolik dapat ditemukan pada daun, akar, kulit tepung sari, nektar, bunga, buah dan biji (Sampepana *et al.*, 2020). Kandungan senyawa fenolik dalam daun singkong dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri. Senyawa fenolik mampu menghambat sintesis dinding sel bakteri, yang esensial bagi pertumbuhan dan kelangsungan hidup bakteri. Hal ini menyebabkan lisis atau kerusakan dinding sel, yang akhirnya berujung pada kematian bakteri (Rahmadeni, Febria dan Bakhtiar, 2019).

2.3 Bakteri

2.3.1 Definisi Bakteri

Bakteri merupakan suatu mikroorganisme yang berukuran sangat kecil dan tidak bisa dilihat dengan kasat mata. Bakteri mempunyai berbagai karakteristik sebagai organisme uniseluler yang tidak memiliki membran inti sel. Bakteri memiliki berbagai ragam bentuk, seperti basil (batang), kokus (bulat), spirillum (spiral), kokobasil (kombinasi bulat dan batang), serta vibrio (berbentuk seperti tanda koma). Dinding sel bakteri terdiri dari mukopolisakarida dan peptidoglikan. (Rini *et al.*, 2020).

2.3.2 Penggolongan Bakteri

Bakteri dibedakan menjadi dua golongan yaitu bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif.

Tabel 2.1 Perbedaan Susunan bakteri gram positif dan bakteri gram negatif

Bakteri Gram Positif	Bakteri Gram Negatif
Pada dinding sel terdapat banyak peptidoglikan.	Jumlah peptidoglikan pada dinding sel lebih sedikit.
Beberapa bakteri terdapat asam teikoat.	Tidak terdapat asam teikoat.
Dinding sel lebih tebal sekitar 25-30 nm.	Dinding sel tipis sekitar 10-15 nm.
Lebih sensitif terhadap penisilin.	Kurang rentan terhadap penisilin.
Menyerap warna kristal violet (ungu).	Menyerap warna dasar safranin (merah).

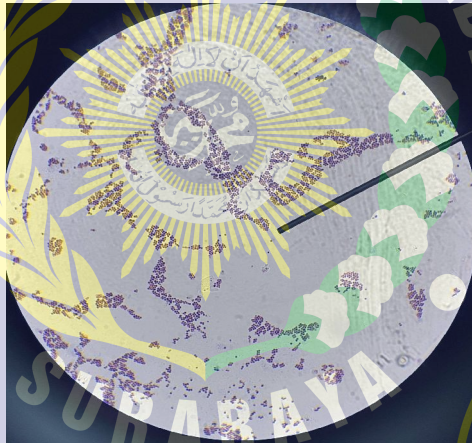
Sumber : (Rini *et al.*, 2020).

2.4 Bakteri *Staphylococcus aureus*

2.4.1 Klasifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut (Soedarto, 2018) :

Domain : *Bacteria*
 Kingdom : *Eubacteria*
 Phylum : *Firmicutes*
 Class : *Bacilli*
 Ordo : *Bacillales*
 Famili : *Staphylococcaceae*
 Genus : *Staphylococcus*
 Spesies : *Staphylococcus aureus*



Gambar 2.3 Bakteri *Staphylococcus aureus*

(Sumber : Dokumentasi Pribadi)

2.4.2 Morfologi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif yang memiliki susunan kelompok tidak teratur atau menyerupai buah anggur, berbentuk kokus, tersusun tetrad dan dapat berpasangan atau satu-satu. Bakteri gram positif

(+) ditandai dengan bentuk bulat dan berwarna ungu warna sel terlihat ungu menandakan bahwa lapisan peptidoglikan mampu mempertahankan kristal violet di dalam sel sebagai warna utama. *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh pada suhu 6,5-46° C dan pada pH 4,2-9,3. *Staphylococcus aureus* bersifat non-motil, non-spora, anaerob fakultatif, katalase positif dan oksidase negatif (Dewi, 2018).

Media kultur selektif semi-sintetik yang tepat untuk bakteri *S. aureus* adalah *Mannitol Salt Agar* (MSA). Media MSA mampu memfermentasi manitol sehingga koloni bakteri yang tumbuh pada media MSA memiliki koloni berwarna kuning. Pigmen kuning keemasan muncul pada kultur bakteri *S. aureus* yang berumur 18-24 jam dan suhu 37° C dengan suhu optimal adalah suhu kamar (20-25° C) (Abdilah Fuad, 2021).

2.4.3 Morfologi Koloni *Staphylococcus aureus*

Koloni dapat berkembang dalam waktu 24 jam dengan diameter mencapai 4 mm. Ciri-ciri koloni yang tumbuh di media agar plate berbentuk bulat, halus, menonjol, dan berkilau. *Staphylococcus aureus* membentuk koloni dengan warna yang bervariasi dari abu-abu hingga kuning emas tua. Koloni tampak berwarna kuning keemasan karena membentuk pigmen *lipochrom*. Pigmen kuning pada koloni dapat menjadi pembeda antara *S.aureus* dengan *S.epidermis* yang menghasilkan koloni berwarna putih (Dewi, 2018).

2.5 Antibakteri

Antibakteri adalah zat yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri serta membunuh bakteri patogen. Berdasarkan sifatnya dibedakan menjadi 2 yaitu bakteriosidal dan bakteriostatik (Magani, Tallei dan Kolondam, 2020)

2.5.1 Sifat-sifat Antibakteri

Berdasarkan sifat toksisitasnya, dibagi menjadi dua sifat sebagai berikut :

1. Bakterisidal

Bakterisidal adalah ketika antibiotik atau zat bahan mampu membunuh bakteri. Contohnya penisilin, sefalosporin, dan neomisin (Nurfadillah *et al.*, 2022). Menurut Volk dan Wheeler (1993), efek bakterisidal dari penisilin dihasilkan dengan cara mengganggu sintesis peptidoglikan dinding sel, sehingga membran sel mekah dan menghancurkan isi sel. Penisilin menghambat pembentukan dinding sel dengan cara mencegah penggabungan asam asetimuramat, yang dibentuk di dalam sel, yang biasanya memberi bentuk kaku pada dinding sel bakteri.

2. Bakteriostatik

Bakteriostatik adalah ketika antibiotik mampu menghambat pertumbuhan bakteri tapi tidak mematikan. Bakteriostatik dapat bersifat bakteriosidal jika dalam konsentrasi yang tinggi. Contohnya sulfonamida, tetrasiklin, kloramfenikol, dan eritromisin (Nurfadillah *et al.*, 2022).

2.5.2 Mekanisme Kerja Antibakteri

Antibakteri bekerja melalui berbagai mekanisme, termasuk menghambat sintesis dinding sel, mengganggu permeabilitas dinding sel, menghambat pembentukan protein pada dinding sel, mengganggu sintesis asam nukleat, serta

menghambat proses metabolisme dalam sel mikroba (Nur'Aini Purnamaningsih, Hadibah Kalor, 2018).

2.6 Metode Pengujian Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri digunakan untuk mengetahui aktivitas suatu bakteri terhadap antibakteri secara *in vitro*. Pengujian tersebut dapat dilakukan dengan metode penyebaran (*Diffusion method*) dan metode pengenceran (*Dillution method*). Metode dilusi digunakan untuk mengukur KHM dan KBM, sedangkan metode difusi digunakan untuk menentukan sensitivitas bakteri uji terhadap antibiotik (Fitriana, Fatimah dan Fitri, 2020).

2.6.1 Metode Difusi

Metode difusi merupakan pengukuran daerah zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antimikroba. Metode difusi terdiri dari Disk difusi, E-test, *Ditch-plate technique* dan *gradient plate technique*.

Tabel 2.2 Macam-macam metode difusi

Metode	Mekanisme kerja
E-test	Menggunakan strip plastik yang telah mengandung agen antibakteri dengan berbagai konsentrasi, mulai dari yang terendah hingga tertinggi, yang diletakkan pada media agar yang telah diinokulasi dengan mikroorganisme.
Ditch-Plate	Agen mikroba ditempatkan pada parit yang dibuat dengan memotong media agar di cawan petri secara membujur di bagian tengah.
Gradient-Plate	Media agar dicairkan terlebih dahulu, kemudian larutan uji ditambahkan. Setelah itu, media diletakkan dalam posisi

miring, dan nutrisi selanjutnya dituangkan di atasnya.

Sumber : (Etikasari, Murharyanti dan Wiguna, 2023).

2.6.1.1 Metode Disk difusi

Cakram atau disk merupakan cara yang paling sering digunakan untuk menguji kepekaan kuman terhadap reaksi berbagai macam obat. Uji kepekaan metode difusi cakram merupakan pemeriksaan kualitatif untuk menentukan apakah isolat bakteri dari pasien infeksi masih sensitif, intermediate atau telah resisten terhadap suatu antibiotik dengan mencocokkan zona hambat yang terbentuk menggunakan tabel standar CLSI. Media yang digunakan pada umumnya adalah *Mueller-Hinton, Nutrient Agar* (Alimsardjono *et al.*, 2018). Prinsip metode disk difusi adalah menyerap sampel yang akan diuji pada kertas cakram, lalu menempatkannya pada media agar yang telah dihomogenkan dengan bakteri. Setelah inkubasi, zona hambat akan terlihat di sekitar cakram (Niswah, Indrayati dan Sari, 2023).

Disk difusi digunakan suatu cakram kertas saring (*paper disc*) yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antimikroba. Kertas saring tersebut kemudian diletakkan pada lempeng agar yang telah diinokulasi mikroba uji, kemudian diinkubasi pada waktu tertentu dan suhu tertentu, sesuai dengan kondisi optimum dari mikroba uji. Pada umumnya, hasil yang didapat bisa diamati setelah diinkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37°C. Hasil pengamatan yang diperoleh berupa ada atau tidaknya daerah bening yang terbentuk di sekeliling kertas cakram yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri. Metode cakram disk memiliki kelebihan dan kekurangan. Kelebihannya adalah mudah dilakukan, tidak memerlukan peralatan khusus dan relatif murah. Namun, ukuran zona bening yang

terbentuk tergantung oleh kondisi inkubasi, inokulum, predifusi dan pra inkubasi serta ketebalan medium.

2.6.2 Metode Dilusi

Metode dilusi digunakan untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) dari obat antimikroba. Prinsip metode ini melibatkan penggunaan serangkaian tabung reaksi yang diisi dengan media cair dan sel bakteri uji, seperti *B. subtilis* dan *E. coli*. KHM obat dapat diketahui dari konsentrasi terendah antibiotik pada tabung yang menunjukkan hasil biakan yang mulai jernih (tanpa pertumbuhan mikroba). Sementara itu, KBM obat ditentukan dari konsentrasi terendah pada biakan padat yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan koloni mikroba. (Fitriana, Fatimah dan Fitri, 2020).

2.7 Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan senyawa aktif dari jaringan tanaman menggunakan pelarut yang sesuai dan dengan prosedur yang standard. Menurut Farmakope Indonesia Edisi IV (Depkes RI, 1995), Ekstrak kering adalah sediaan yang berasal dari tanaman atau hewan, diperoleh dengan cara pemekatan dan pengeringan ekstrak cair sampai mencapai konsentrasi yang diinginkan menurut cara cara yang memenuhi syarat dan memiliki kadar air kurang dari 5%.

Tujuan metode ekstraksi adalah untuk mengambil senyawa dari campurannya (Syamsul, Amanda dan Lestari, 2020). Faktor yang mempengaruhi ekstraksi antara lain waktu, suhu, jenis pelarut, perbandingan bahan dan pelarut, dan ukuran partikel. Jenis metode ekstraksi dibedakan menjadi 2, yakni ekstraksi cara dingin

dan ekstraksi cara panas. Terdapat 2 macam metode ekstraksi cara dingin yaitu maserasi dan perkolasi sedangkan metode ekstraksi cara panas yaitu sokletasi, refluks, dekoktasi, infus dan digesti (Mukhtarini, 2018).

2.7.1 Ekstraksi Cara Dingin

Prinsip ekstraksi cara dingin adalah tidak membutuhkan pemanasan selama proses ekstraksi dimaksudkan agar senyawa yang diinginkan tidak menjadi rusak.

2.7.1.1 Maserasi

Maserasi merupakan metode ekstraksi yang dilakukan dengan cara memasukkan serbuk tanaman dan menggunakan pelarut yang sesuai pada wadah di suhu kamar. Maserasi mempunyai kelebihan dan kekurangan dalam ekstraksi. Salah satu kelebihannya yakni zat aktif yang di ekstrak tidak akan rusak. Namun, maserasi menggunakan suhu ruang proses ekstraksi kurang sempurna yang menyebabkan senyawa menjadi kurang terlarut dengan sempurna (Ananta, Ganda Putra dan Arnata, 2021). Maserasi biasanya dilakukan pada suhu antara 15°C-20°C dalam waktu selama 3 hari sampai zat aktif yang dikehendaki larut. Semakin lama waktu maserasi maka semakin lama kontak dengan pelarut dan bahan yang akan memproduksi banyak sel yang pecah (Chairunnisa, Wartini dan Suhendra, 2019). Ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan perbandingan serbuk dengan penyari yang digunakan 1:10 (Qorik'ah, Putri dan Huda, 2023). Menurut Farmakope Indonesia, pelarut maserasi yang dapat digunakan adalah air, etanol, etanol-air, atau eter namun pilihan utama yang digunakan adalah etanol karena bersifat netral (Marjoni, 2016).

2.7.1.2 Perkolasi

Perkolasi adalah suatu proses ketika bahan kering yang sudah halus akan diekstraksi dengan pelarut yang sesuai. Alat yang sering digunakan pada proses ini adalah corong pisah, perkolator dan beaker glass. Kelebihan metode perkolasi adalah sampel akan dialiri oleh pelarut baru sedangkan kekurangannya adalah jika sampel tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau area seluruhnya. Selain itu, metode perkolasi membutuhkan banyak pelarut (Mukhtarini, 2018).

2.7.2 Ekstraksi Cara Panas

Prinsip ekstraksi cara panas adalah membutuhkan pemanasan selama proses ekstraksi dimaksudkan agar mempercepat proses ekstraksi.

Tabel 2.3 Ekstraksi cara panas

Nama Metode	Mekanisme Metode	Suhu
Sokletasi	Diletakkan di kertas saring yang ditempatkan diatas labu dan dibawah kondensor.	70°C
Reflux	Sampel dan pelarut secara bersamaan dimasukkan ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor.	65°C
Dekok	Ekstraksi dengan merebus menggunakan pelarut air.	90°C

Sumber : (Dahlia, 2019).

2.8 Simplisia

2.8.1 Definisi Simplisia

Simplisia adalah suatu bahan alam yang digunakan sebagai bahan baku obat tradisional dan belum dilakukannya proses pengolahan. Simplisia dimasyarakat sering digunakan untuk pembuatan jamu yang dikonsumsi dengan cara diseduh atau direbus. Menurut farmakope herbal Indonesia, Kandungan air pada Simplisia tanaman tidak boleh lebih dari 10% karena akan membuat simplisia menjadi tidak

tahan lama. Simplisia dibagi menjadi tiga golongan yaitu, simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia mineral (Utami, Widiawati dan Hidayah, 2018).



Tabel 2.4 Golongan simplisia

Nama Simplisia	Contoh
Simplisia nabati	Tanaman
Simplisia hewani	Minyak ikan, madu
Simplisia mineral	Serbuk seng

Sumber : (Utami, Widiawati dan Hidayah, 2018).

2.9 Pelarut

Terdapat beberapa pelarut yang biasanya digunakan untuk metode ekstraksi diantara nya :

2.9.1 Etanol

Etanol merupakan suatu zat yang digunakan untuk melarutkan atau mengekstraksi suatu senyawa aktif (Permatasari, Batubara dan Nursid, 2020). Keuntungan menggunakan pelarut etanol di antara lain, bersifat netral, bersifat lebih selektif, dapat membunuh kuman, relatif tidak toksik dibandingkan dengan aseton dan metanol, biaya murah, dapat digunakan pada berbagai metode ekstraksi, serta aman untuk ekstrak yang akan dijadikan obat-obatan. Penggunaan pelarut etanol dalam upaya mendapatkan kadar senyawa flavonoid dan senyawa fenolik yang optimal sangat tergantung kepada faktor konsentrasi, suhu, waktu dan pemilihan metode ekstraksi (Hakim dan Saputri, 2020). Ekstrak etanol 70% dapat menghasilkan persen rendemen lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol 60%.

2.9.2 Dimethyl sulfoxide (DMSO)

Dimethyl sulfoxide atau DMSO merupakan pelarut polar aprotik yang mampu melarutkan senyawa organik maupun anorganik. DMSO juga merupakan pelarut yang tidak beracun, sehingga lebih aman dan ramah lingkungan (Fathanah *et al.*, 2022). DMSO dikenal dengan nama *methylsulfonylmethane* atau *sulfinyl-bis-*

methane. Berbeda dengan air, DMSO adalah pelarut aprotik dipolar, yang berarti tidak berfungsi sebagai pendonor proton, tetapi lebih cenderung menerima proton. DMSO juga merupakan senyawa amfifilik, yang memiliki sifat baik hidrofilik maupun hidrofobik. Oleh karena itu, DMSO dikenal sebagai surfaktan (molekul aktif permukaan) yang dapat berfungsi sebagai penghubung antara air dan minyak. Namun, berbeda dengan surfaktan lainnya, DMSO bersifat netral, yaitu tidak asam atau basa, karena termasuk dalam kategori pelarut aprotik. DMSO tidak memberikan zona hambat ketika digunakan pada konsentrasi di bawah 10%. (Mahmiah, Rama dan Riwanti, 2020).

2.10 Antibiotik Pembanding Sebagai Kontrol Positif

Kloramfenikol merupakan antibiotik (AB) dan termasuk dalam golongan antimikroba yang menghambat sintesis protein. Kloramfenikol adalah antibiotik berspektrum luas, menghambat bakteri Gram-positif dan negatif aerob dan anaerob. Mekanisme kerja AB ini dengan menghambat enzim peptidil transferase yang berperan dalam pembentukan ikatan-ikatan peptida dalam proses sintesis protein bakteri. Pembentukan ikatan peptide akan terus dihambat selama obat tetap terikat pada ribosom (Jamilah, 2018). Salah satu kerja utama kloramfenikol dengan mengikat subunit 50S ribosom bakteri. Kloramfenikol merupakan antibiotik yang digunakan sebagai kontrol positif pada penelitian ini karena kloramfenikol memiliki mekanisme kerja yang sama dengan senyawa yang terkandung dalam daun jeruk purut dan daun singkong yaitu salah satunya senyawa flavonoid. Selain itu, kloramfenikol memiliki sifat bakteriostatik, karena menggunakan proses

sintesis protein bakteri (Anatje J. P *et al.*, 2022). Penilaian AB menggunakan standard tabel CLSI.

Tabel 2.5 Tabel CLSI

Antibiotik	Diameter zona hambat		
	Resisten	Intermediate	Sensitif
Gentamisin	≤ 12	13-14	≥ 15
Siprofloksasin	≤ 15	16-20	≥ 21
Kloramfenikol	≤ 12	13-17	≥ 18

Sumber : (Anatje, 2022).



2.11 Pengaruh Daun Jeruk Purut dan Daun Singkong Sebagai Antibakteri

Ekstrak daun jeruk purut dengan daun singkong mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan terbentuknya zona bening di sekitar disk cakram. Hal ini disebabkan adanya aktivitas antibakteri dari senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam ekstrak kental daun singkong. Penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Syariah dan Ilmu (2022) tentang Uji Aktivitas Antibakteri Daun Singkong (*Manihot esculenta*) Pada Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang dibuktikan melalui skrining fitokimia terbukti terdapat alkaloid, flavonoid, tannin serta saponin dan penelitian Niswah (2023) tentang Efek Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix D.C.*) Dan Daun Kemangi (*Ocimum Sanctum L.*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 2593 Dengan Metode Pita Kertas Terbukti memiliki kandungan Flavonoid, alkaloid, saponin dan tannin.

Daun jeruk purut memiliki kandungan minyak atsiri yang juga dapat berperan sebagai antibakteri namun kandungan minyak atsiri sangat sedikit sekitar 1-1,5% (Mifthahendrawati, 2018). Minyak atsiri berperan sebagai antibakteri dengan cara mengganggu proses terbentuknya membran atau dinding sel sehingga tidak terbentuk atau terbentuk tidak sempurna (Sefriyanti, Jayuska dan Alimuddin, 2020). Minyak atsiri terdapat 12 senyawa dengan beberapa senyawa utamanya antara lain sitronellal (80,83%), 2,6-oktadiene (5,36%), bicyclo (3.1.0) hexane (3,79%), sitronellol (3,48%) dan linalol (2,57%). Berdasarkan data tersebut, senyawa sitronellal merupakan senyawa utama yang terkandung dalam minyak daun jeruk purut dengan persentase kandungan 80,83% dari keseluruhan Jurnal

senyawa yang ada (Simanjuntak, Mariani dan Yusro, 2021). Daun singkong memiliki kandungan senyawa aktif flavonoid dan fenolik.

