

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### A. Tanaman Kari (*Murraya koenigii*. (L.) Spreng)



Gambar 1. Tanaman Kari  
(Koleksi pribadi 2019)

#### 1. Klasifikasi tanaman

Sistematis dari tanaman kari (*Murraya koenigii* (L.) Spreng) sebagai berikut:

Kerajaan : Plantae

Anak kerajaan : Tracheobionta

Super divisi : Spermatophyta

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Anak kelas : Rosidae

Bangsa : Sapindales

Keluarga : Rutaceae

Marga : Murraya

Jenis : *Murraya koenigii* (L.) Spreng (Akula *et al.* 2016).

#### 2. Nama lain

Tanaman kari disebut juga sebagai *Murray koenigii* (L.) Spreng. Beberapa daerah di Indonesia seperti temurui (Aceh), sicerek (Maningkabau), ki becetah (Sunda). Pada negara lain seperti curry (English), garupillai (Malaysia), kerriebladeren (Belanda), feuilles de cari (Prancis), curryblatter (Jerman), fogli de cari (Italia), hoja (Spanyol) (Gahlawat *et al.* 2014).

### 3. Morfologi tanaman

Tanaman kari (*Murraya koenigii* (L.) Spreng) merupakan tanaman yang mudah tumbuh dalam hutan hujan tropis yang mana membutuhkan sinar matahari pada suhu minimal 55°C dan mekar di musim panas. Tanaman ini dapat tumbuh setinggi 6-15 kaki atau 13–20 kaki (4–6 m) dan lebarnya 4 -12 kaki. Daun kari ini beraroma khas pada daun yang muda dan berwarna hijau. Setiap tangkai daun memiliki 11 hingga 21 lembar daun, setiap daun mempunyai panjang 2-4 cm (0,79-1,57 inci) dan lebar 1–2 cm (0,39-0,79 inci). Daun-daun ini tipis, bulat telur, mengkilap, dan berwarna hijau gelap. Tanaman ini menghasilkan bunga berwarna putih, berukuran kecil dan beraroma wangi (masing-masing 5-16 cm) berjenis bunga majemuk yang tidak selalu mekar sepanjang tahun. Bunga kari dapat melakukan penyerbukan sendiri untuk menghasilkan buah kecil yang mengkilap berwarna hitam kebiruan (masing-masing diameter 2 atau 3 inci) yang berisi satu biji besar. Bentuk buah ini bulat telur hingga lonjong, buah yang belum matang berwarna hijau dan buah matang berwarna hitam keunguan (Singh *et al.* 2014).

### 4. Kandungan kimia

Daun kari mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, saponin, steroid, alkaloid, dan mengandung vitamin A, vitamin C, vitamin E, vitamin B1, vitamin B2, vitamin B3. Daun kari juga memiliki kandungan mineral Ca, Mg, Fe, Mn, Zn dan Cu (Igara *et al.* 2016).

**4.1 Flavonoid.** Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Flavonoid di alam dapat ditemukan dalam bentuk glikosidanya. Senyawa ini berperan sebagai pigmen bunga berupa zat warna merah, ungu, biru dan sebagian zat warna kuning yang terdapat dalam tanaman, flavonoid berperan juga dalam menarik serangga untuk membantu proses penyerbukan. Beberapa fungsi flavonoid yang lain bagi tumbuhan adalah sebagai zat pengatur tumbuh, pengatur proses fotosintesis, zat antimikroba, antivirus dan antiinsektisida. Flavonoid dihasilkan oleh jaringan tumbuhan sebagai respon terhadap infeksi atau luka yang kemudian berfungsi menghambat fungsi penyerangnya (Endarini 2016). Mekanisme antibakteri flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom

dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri (Cushine & Lamb 2005).

**4.2 Tanin.** Tanin merupakan senyawa yang terdapat luas dalam tumbuhan berpembuluh, dalam angiospermae terdapat khusus dalam jaringan kayu, tanin dapat bereaksi dengan proteina membentuk kopolimer yang tak larut dalam air. Pada industri, tanin adalah senyawa yang berasal dari tanaman, yang mampu mengubah kulit hewan yang mentah menjadi kulit siap pakai karena kemampuannya menyambung silang proteina. Dalam tanaman, letak tanin terpisah dari protein dan enzim sitoplasma, sebagian besar tanaman yang banyak bertanin dihindari oleh hewan pemakan tanaman karena rasanya yang sepat (Endarini 2016). Mekanisme kerja antibakteri tanin mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna, menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati (Sari & Sari 2011).

**4.3 Saponin.** Saponin merupakan senyawa aktif yang permukaannya kuat yang menimbulkan busa yang stabil jika dikocok dalam air, senyawa ini berasa pahit menusuk menyebabkan bersin dan iritasi terhadap selaput lendir. Pada konsentrasi yang terendah senyawa ini menyebabkan hemolisis sel darah merah dan bersifat racun bagi hewan berdarah dingin (Endarini 2016). Mekanisme senyawa saponin sebagai antibiotik dengan merusak membran. Rusaknya membran sitoplasma dapat mengakibatkan sifat permeabilitas membran sel berkurang sehingga transport zat ke dalam sel dan ke luar sel menjadi tidak terkontrol. Zat yang berada di dalam sel seperti ion organik, enzim, asam amino, dan nutrisi dapat keluar dari sel. Enzim-enzim keluar dari sel bersama dengan zat-zat seperti air dan nutrisi dapat menyebabkan metabolisme terhambat sehingga terjadi penurunan ATP yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan sel, selanjutnya pertumbuhan sel bakteri menjadi terhambat dan menyebabkan kematian sel (Antika *et al.* 2014).

**4.4 Steroid.** Steroid adalah kelompok senyawa bahan alam yang kebanyakan strukturnya terdiri atas 17 karbon dengan membentuk struktur 1,2-siklopentenoperhidrofenantren. Steroid terdiri atas beberapa kelompok senyawa

yang pengelompokannya didasarkan pada efek fisiologis yang dapat ditimbulkan. Ditinjau dari segi struktur, perbedaan antara berbagai kelompok ini ditentukan oleh jenis substituent R1, R2, dan R3 yang terikat pada kerangka dasar sedangkan perbedaan antara senyawa yang satu dengan senyawa yang lain dari satu kelompok ditentukan oleh panjangnya rantai karbon substituent, gugus fungsi yang terdapat pada substituent, jumlah dan posisi gugus fungsi oksigen dan ikatan rangkap pada kerangka dasar serta konfigurasi pusat asimetris pada kerangka dasar (Endarini 2016). Mekanisme steroid sebagai antibakteri berhubungan dengan membran lipid dan sensitivitas terhadap komponen steroid yang menyebabkan kebocoran pada liposom (Madduluri *et al.* 2013).

**4.5 Alkaloid.** Alkaloid merupakan senyawa metabolit sekunder yang ada di alam biasa di temukan pada tumbuhan dan hewan, yang mengandung atom N heterosiklik, biosintesa berasal dari asam amino dan bukan dari asam amino. Pada umumnya dalam dosis kecil, alkaloid dapat memberikan aktivitas biologi yang cukup kuat (Endarini 2016). Mekanisme antibakteri alkaloid yaitu dengan cara mengganggu komponen peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara sempurna dan menyebabkan kematian sel tersebut (Darsana *et al.* 2012).

## **5. Khasiat tanaman**

Tanaman kari bagian daunnya biasanya digunakan sebagai rempah penyedap masakan. Selain berperan penting di kuliner, minyak atsirinya juga dimanfaatkan oleh industri aromaterapi sabun dan kosmetik. Daun kari direbus dengan minyak kelapa sampai menjadi residu yang kemudian digunakan sebagai tonik rambut yang sangat baik untuk mempertahankan rambut alami dan merangsang pertumbuhan rambut. Pada obat tradisional digunakan sebagai antiemetik, antidiare, obat demam, antijamur, antiinflamasi, nyeri tubuh, dan muntah (Jain *et al.* 2012). Penelitian lain menunjukkan bahwa ekstrak daun kari memiliki aktivitas antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan dari *Pseudomonas aeruginosa*, hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak daun kari memiliki aktivitas antimikroba tertinggi terhadap bakteri tersebut pada konsentrasi 6% dengan zona hambat 9 mm (Nithya *et al.* 2015).

## **B. Simplisia**

### **1. Pengertian simplisia**

Simplisia adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan, suhu pengeringan tidak lebih dari 60°C. Simplisia dapat berupa simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan (mineral). Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau isi sel yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, atau bagian hewan, atau zat-zat yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia mineral merupakan bahan mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Sulistiyani 2018).

### **2. Pengumpulan simplisia**

Bagian yang digunakan dalam penelitian adalah daun. Kadar senyawa aktif dalam satu simplisia berbeda-beda tergantung pada bagian yang digunakan, kualitas bahan baku simplisia sangat dipengaruhi beberapa faktor yaitu umur tanaman atau bagian tanaman pada waktu panen, waktu panen dan lingkungan tempat tumbuh. Senyawa aktif yang terbentuk sangat berhubungan dengan waktu panen (Sulistiyani 2018).

### **3. Sortasi simplisia**

Proses sortasi simplisia digunakan untuk memisahkan simplisia dari kotoran atau bahan asing serta bagian tanaman lain yang tidak diinginkan dari bahan simplisia. Selain itu juga untuk memisahkan dari simplisia yang bagus seutuhnya dan simplisia yang rusak. Sortasi dilakukan sortasi basah dan sortasi kering setelah pengeringan simplisia (Sulistiyani 2018).

### **4. Pencucian simplisia**

Pencucian dilakukan setelah dilakukan sortasi basah untuk menghilangkan tanah dan pengotoran lainnya yang melekat pada bahan simplisia. Untuk menurunkan jumlah mikroba yang menyebabkan pembusukan, pencucian dilakukan dengan air bersih yang mengalir agar kotoran langsung terlepas, dapat

juga dengan penyemprotan bertekanan tinggi. Simplisia yang mengandung zat aktif mudah larut dalam air, pencucian dilakukan sesingkat mungkin dan segera dilakukan penirisan (Sulistyani 2018).

#### **5. Penirisan simplisia**

Penirisan ditujukan untuk mengurangi jumlah air yang masih menempel pada simplisia dan mencegah pembusukan. Penirisan dilakukan sesegera mungkin setelah pencucian (Sulistyani 2018).

#### **6. Pengeringan simplisia**

Tujuan pengeringan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak dan dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Proses pengeringan dapat menurunkan kadar air serta menghentikan reaksi enzimatik yang menyebabkan kerusakan simplisia serta mencegah tumbuhnya kapang, jamur dan mikroorganisme lain. Pengeringan dapat dilakukan dengan cara alamiah yaitu dengan sinar matahari langsung, sedangkan cara buatan menggunakan oven dengan suhu tidak lebih 60°C. Simplisia yang mengandung senyawa aktif yang tidak tahan panas pengeringan dilakukan pada suhu antara 30-40°C (Sulistyani 2018).

#### **7. Penyerbukan simplisia**

Simplisia yang telah dilakukan pengeringan dapat diserbuk dengan derajat kehalusan yang diinginkan sebelum diekstraksi. penyerbukan bertujuan untuk memperluas permukaan kontak antara penyari dan permukaan simplisia sehingga senyawa aktif dalam tumbuhan dapat ditarik optimal pada proses ekstraksi (Sulistyani 2018).

#### **8. Pengemasan**

Pengemasan bertujuan untuk simplisia pada saat pengangkutan dan distribusi, bahan pengemas harus kedap air, kedap udara dan dapat menghindari bahan dari faktor eksternal (Sulistyani 2018).

#### **9. Penyimpanan**

Penyimpanan bertujuan simplisia tetap tersedia ketika dibutuhkan proses selanjutnya, dan selama penyimpanan perlu dihindari faktor eksternal seperti dari

faktor eksternal seperti suhu, kelembaban, cahaya matahari, pencemaran mikroba dan gangguan dari serangga tertentu (Sulistiyani 2018).

### **C. Ekstraksi**

#### **1. Pengertian ekstraksi**

Ekstraksi atau penyarian merupakan proses penarikan zat aktif yang berada dalam sel dari simplisia dengan pelarut yang sesuai. Hasil ekstraksi diuapkan dengan metode penguapan sehingga terbentuk ekstrak, ekstrak dapat berupa ekstrak cair, ekstrak kental dan ekstrak kering. Ekstraksi dapat dilakukan dengan berbagai macam metode seperti maserasi, infundasi, perkolasi, digesti, refluks, pemerasan, ekstraksi fluida superkritis (Sulistiyani 2018).

#### **2. Metode maserasi**

Maserasi merupakan cara penyarian sederhana yaitu dengan cara merendam simplisia dalam larutan yang sesuai. Prinsip maserasi adalah cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut akan adanya perbedaan konsentrasi. Pelarut digunakan pada maserasi adalah etanol atau campuran etanol-air (Sulistiyani 2018). Maserasi dilakukan dengan cara 10 bagian simplisia ditambahkan dengan 75 bagian cairan penyari. Maserasi dilakukan selama 5 hari, terlindung dari cahaya dan sesekali dikocok. Sari disaring selama 5 hari, ampas diperas. Ampas ditambahkan cairan penyari secukupnya diaduk dan disaring, sehingga diperoleh seluruh sari sebanyak 100 bagian. Bejana ditutup, dibiarkan selama 2 hari, kemudian endapan dipisahkan (Depkes 1986).

#### **3. Fraksinasi**

Fraksinasi merupakan cara memisahkan golongan utama dari golongan yang lain berdasarkan kepolaran senyawa. Jumlah dan jenis senyawa yang telah dipisahkan akan menjadi fraksi yang berbeda. Serbuk simplisia disari berturut-turut dengan pelarut yang berbeda-beda polaritasnya. Pelarut dimulai dengan non polar, kemudian disari dengan pelarut semi polar dan yang terakhir disari dengan pelarut polar. Pelarut nonpolar yaitu *n*-heksana, kloroform, benzena, karbon tetraklorida, dietil eter. Pelarut semi polar yaitu etil asetat, aseton. Pelarut polar yaitu air, asam format, etanol. Senyawa yang bersifat polar misal saponin, dan

tanin akan terlarut dalam pelarut polar. Keuntungan fraksinasi dapat diperoleh isolat suatu senyawa yang lebih spesifik terhadap polaritas pelarut yang digunakan (Harborne 1987).

#### **4. Pelarut**

Pelarut adalah cairan yang digunakan untuk ekstraksi. Pemilihan pelarut yang digunakan dalam ekstraksi dari bahan obat tertentu berdasarkan daya larut zat yang aktif, zat yang tidak aktif serta zat yang tidak diinginkan tergantung preparat yang digunakan (Ansel 1989). Pelarut yang digunakan sebagai berikut:

**4.1 Etanol.** Etanol adalah pelarut dari alkohol atau campurannya dengan air yang merupakan pelarut pengekstraksi yang mempunyai *extractive power* yang terbaik untuk hampir semua senyawa yang mempunyai berat molekul rendah seperti alkaloid, saponin dan flavonoid (Arifianti *et al.* 2014).

**4.2 n-heksana.** *n*-heksana adalah pelarut dari hasil penyulingan minyak tanah yang telah bersih, terdiri atas suatu campuran rangkaian hidrokarbon, Senyawa yang dapat dengan pelarut *n*-heksana yaitu senyawa yang bersifat non polar (Romadanu *et al* 2014) seperti alkaloid, terpenoid, triterpenoid, sterol, dan saponin (Yusnawan 2013)

**4.3 Etil asetat.** Etil asetat merupakan pelarut yang mudah diuapkan, tidak higroskopis, dan memiliki toksisitas rendah (Wardhani & Sulistyani 2012). Etil asetat bersifat semi polar sehingga dapat menarik senyawa aglikon maupun glikon. Etil asetat dapat digunakan sebagai pelarut karena dapat menarik senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, polifenol, dan triterpenoid (Putri *et al.* 2013).

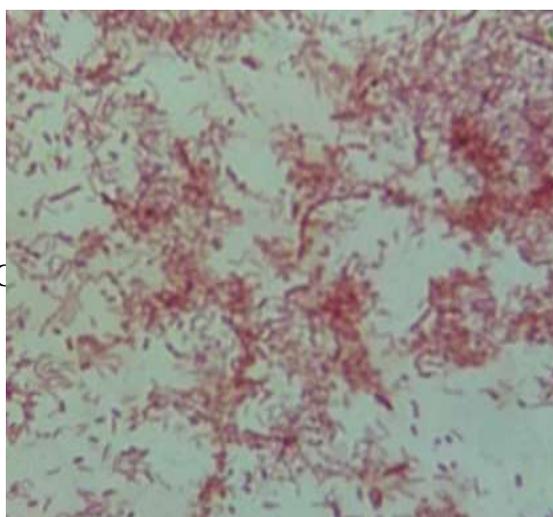
**4.4 Air.** Air dipertimbangkan sebagai pelarut stabil, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, tidak beracun, dan alamiah. Air dapat melarutkan enzim sehingga enzim yang terlarut dengan adanya air akan menyebabkan reaksi enzimatik, yang mengakibatkan penurunan mutu, tetapi adanya air akan mempercepat proses hidrolisis (Tiwari *et al.* 2011). Senyawa yang dapat larut dalam pelarut air adalah garam alkaloid, minyak menguap, glikosida, gula, gom, pati, protein, lilin, lemak pektin, saponin dan tanin (Depkes 1986).

#### D. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis merupakan metode pemisahan campuran analit dengan mengelusi analit melalui sesuatu lempeng kromatografi lalu melihat komponen atau analit yang terpisah dengan penyemprotan atau pengecatan. Lempeng-lempeng KLT diletakan dalam wadah dengan ukuran yang sesuai, kromatogram hasil dapat *discanning* secara visual. Terdapat berbagai jenis lempeng KLT, teknik penotolan sampel, pendeteksi, dan penjerap (fase diam). Fase diam pada KLT berupa lapisan yang seragam (*uniform*) pada permukaan bidang datar yang didukung oleh lempeng kaca, lempeng aluminium, atau lempeng plastik. Fase gerak yang dikenal sebagai pelarut pengembang akan bergerak sepanjang fase diam karena pengaruh kapiler pada pengembangan secara menaik (*ascending*), atau karena pengaruh gravitasi pada pengembangan secara menurun (*descending*). Pada KLT hasil-hasil yang diperoleh dengan mencantumkan nilai Rf-nya yang merujuk pada imigrasi relatif analit terhadap ujung depan fase gerak atau eluen, dan nilai terkait dengan koefisien distribusi komponen (Gandjar & Rohman 2017).

Prinsip kerja kromatografi lapis tipis adalah suatu analit bergerak naik atau melintasi fase diam (gel silika), dibawah pengaruh fase gerak (campuran pelarut organik), yang bergerak melalui fase diam oleh kerja kapiler. Jarak pemindahan analit ditentukan afinitas relatifnya untuk fase diam-fase gerak (Watson 2010).

#### E. *Pseudomonas aeruginosa*



## 1. Sistematika *Pseudomonas aeruginosa*

Sistematika bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dalam sistematika bakteri menurut Kuswiyanto (2018) sebagai berikut:

Kerajaan	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gamma Proteobacteria
Bangsa	: Pseudomonadales
Keluarga	: Pseudomonadaceae
Marga	: Pseudomonas
Jenis	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>

## 2. Morfologi dan identifikasi bakteri

*Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri obligat aerob yang mudah tumbuh pada berbagai medium kultur, menghasilkan aroma yang manis atau berbau seperti anggur dan jagung taco. *Pseudomonas aeruginosa* membentuk koloni bundar dan licin dengan warna kehijauan yang berfluoresensi. *Pseudomonas aeruginosa* tumbuh baik pada suhu 37-42°C, bersifat oksidase-positif. *Pseudomonas aeruginosa* tidak memfermentasi karbohidrat (Brooks *et al.* 2014).

## 3. Toksin

*Pseudomonas aeruginosa* dari isolat infeksi klinis menghasilkan enzim ekstraselular, antara lain elastase, protease, hemolisin, fosfolipase C labil-panas dan glikolipid stabil-panas. Banyak galur *Pseudomonas aeruginosa* menghasilkan eksotoksin A, yang menyebabkan nekrosis jaringan letal bagi hewan jika diinjeksikan dalam bentuk yang telah dimurnikan. Mekanisme toksin ini menghambat sintesis protein melalui mekanisme kerja yang identik dengan mekanisme kerja toksin difetri meskipun struktur kedua toksin tidak identik. (Brooks *et al.* 2014).

## 4. Patogenesis

*Pseudomonas aeruginosa* menjadi patogenik jika mencapai daerah yang tidak memiliki pertahanan normal. Seperti membran mukosa dan kulit yang terluka oleh cedera jaringan langsung, saat penggunaan kateter urin atau intravena

atau jika terdapat neutropenia, seperti pada kemoterapi kanker. Bakteri melekat dan membentuk koloni pada membran mukosa atau kulit, menginvasi secara local, dan menyebabkan penyakit sistemik. Proses dibantu pili, enzim, dan toksin. Lipopolisakarida berperan langsung dalam menyebabkan demam, syok, oliguria leukositosis dan leukopenia, koagulasi intravaskuler diseminata, dan sindrom gawat napas dewasa (Brooks *et al.* 2014).

## 5. Pengobatan

Infeksi *Pseudomonas aeruginosa* secara klinik tidak boleh diterapi dengan obat tunggal karena angka keberhasilannya rendah, dan bakteri ini dapat dengan cepat menjadi resisten jika hanya diberikan obat tunggal. Penesilin seperti Piperasilin yang aktif terhadap *Pseudomonas aeruginosa* digunakan dalam kombinasi bersama suatu aminoglikosida, biasanya Tobramisin. Obat lain yang aktif terhadap *Pseudomonas aeruginosa* meliputi aztreonam, karbapenem seperti imipenem atau meropenem, dan kuinolon terbaru, termasuk ciprofloksasin. Sefolosporin yang lebih baru seperti seftasidim dan sefaperason merupakan jenis yang aktif terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. seftasidim digunakan bersama suatu aminoglikosida dalam terapi primer infeksi *Pseudomonas aeruginosa*. Pola sensitivitas *Pseudomonas aeruginosa* bervariasi secara geografis, dan uji sensitivitas harus dilakukan untuk membantu pemilihan terapi antimikroba (Brooks *et al.* 2014).

## F. Antibakteri

Antibakteri adalah suatu senyawa organik sintetis atau alami yang menghambat atau merusak bakteri tertentu (selektif), umumnya pada konsentrasi terendah. Beberapa istilah yang digunakan untuk menjelaskan proses antimikroba yaitu Biosida, bakterisidal, bakteristatik, sterilisasi, antiseptik, desinfektan, septic, aseptik, dan pengawet.

Biosida adalah agen fisik atau kimia, biasanya berspektrum luas yang menonaktifkan mikroorganisme. Biosida kimia mencakup hidrogen peroksida dan fenol, sedangkan biosida fisik meliputi panas dan radiasi. Bakteristatik adalah sifat biosida yang mampu menghambat multiplikasi bakteri, multiplikasi bakteri

akan berlanjut jika agen antimikroba dihilangkan. Bakterisidal adalah sifat biosida yang mampu membunuh bakteri, sehingga tidak lagi mampu bereproduksi bahkan setelah dihilangkan kontakannya dari agen antimikroba. Sterilisasi adalah proses khusus yang digunakan untuk membuat suatu permukaan atau produk bebas dari organisme viable yang juga mencakup spora bakteri. Disinfektan biosida yang digunakan untuk mengurangi jumlah mikroorganisme viable atau beban biologis. Disinfektan tidak harus bersifat sporisidal, tetapi dapat pula sporostatik, menghambat germinasi atau pertumbuhan cepat. Septik adalah adanya mikroba patogenik di dalam jaringan hidup. Antiseptik adalah biosida yang merusak atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme di dalam jaringan hidup (kulit). Aseptik adalah metode untuk mempertahankan kondisi bebas mikroorganisme. Pengawet adalah pencegahan multiplikasi mikroorganisme dalam produk yang diformulasi (Brooks *et al.* 2014).

### **1. Mekanisme kerja antibakteri**

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antimikroba dibagi dalam lima kelompok, yaitu antibiotik dengan mekanisme penghambatan sintesis dinding sel, merusak membran plasma, penghambatan sintesis protein, penghambatan sintesis asam nukleat, dan penghambatan sintesis metabolit esensial (Pratiwi 2008)

**1.1 Penghambatan sintesis dinding sel.** Antibiotik yang merusak lapisan peptidoglikan yang menyusun dinding sel bakteri Gram positif maupun Gram negatif contohnya penisilin, sefalosporin, karbapenem, basitrasin, vankomisin, isoniazid, dan etambutol (Pratiwi 2008).

**1.2 Penghambatan sintesis metabolit esensial.** Adanya kompetitor berupa antimetabolit, yaitu substansi yang secara kompetitif menghambat metabolit mikroorganisme, karena memiliki struktur yang mirip dengan substrat normal bagi enzim metabolisme. Obatnya seperti antimetabolit sulfanilamid (*sulfa drug*) dan para-amino benzoic acid (PABA). PABA merupakan substrat untuk reaksi enzimatik sintesis asam folat. Asam folat merupakan vitamin bagi mikroorganisme, yaitu sebagai koenzim untuk sintesis purin dan pirimidin. Struktur *sulfa drug* serupa dengan PABA sehingga *sulfa drug* merupakan kompetitif PABA dalam hal berkaitan dengan enzim. Jika *sulfa drug* berkaitan

dengan enzim, tidak akan terbentuk enzim-substrat dan tidak akan terbentuk produk berupa asam folat (Pratiwi 2008).

**1.3 Penghambatan fungsi membran plasma.** Membran plasma bersifat semipermeabel dan mengendalikan transport berbagai metabolit ke dalam dan luar sel. Adanya gangguan atau kerusakan struktur pada membran sel dapat menghambat atau merusak kemampuan membran sel sebagai penghalang (*barrier*) osmosis dan mengganggu sejumlah proses biosintesis yang diperlukan dalam membran. Antibiotik yang bersifat merusak membran plasma umum terdapat pada antibiotik golongan polipeptida yang berkerja dengan mengubah permeabilitas membran plasma sel bakteri. Contohnya adalah polimiskin B yang melekat pada fosfolipid membran. (Pratiwi 2008).

**1.4 Penghambatan sintesis protein.** Antibiotik ini berkerja dengan cara menghambat sintesis protein, karena bakteri memiliki ribosom 70S, sedangkan sel mamalia memiliki ribosom 80S. Subunit masing-masing tipe ribosom, susunan kimia, dan spesifisitas fungsional mereka cukup berbeda untuk menjelaskan mengapa obat antimikroba dapat menghambat sintesis protein pada ribosom bakteri tanpa menyebabkan efek yang signifikan pada ribosom mamalia. Pada sintesis protein mikroba yang normal, pesan mRNA secara simultan oleh beberapa ribosom yang membentang disepanjang untai mRNA, susunan ribosom tersebut dinamakan polisom. Contoh obatnya eritromisin, linkomisin, tetrasiklin, glisilsiklin, aminoglikosida, dan koramfenikol (Brooks *et al.* 2014).

**1.5 Penghambatan sintesis asam nukleat.** Antimikroba berikatan dengan enzim polymerase-RNA sehingga menghambat sintesis DNA oleh enzim tersebut. Obat yang termasuk kelompok ini adalah rifampisin, dan golongan kuinolon (Brooks *et al.* 2014).

## **2. Uji aktivitas antibakteri**

Biakan murni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang berumur 24 jam diambil beberapa ose, ditanam pada media Brain Heart Infusion (BHI) cair dan dihomogenkan. Kekeruhan disesuaikan dengan kekeruhan standart *McFarland* 0,5 ekuivalen dengan suspensi sel bakteri dengan konsentrasi  $1,5 \times 10^8$  CFU/mL (Bonang & Koeswardono 1982). Kemudian lanjutkan metode difusi dan dilusi.

**2.1 Metode difusi.** Metode difusi adalah suatu uji aktivitas menggunakan cakram (*disk*) atau suatu silinder tidak beralas yang mengandung obat dalam jumlah tertentu, ditempatkan pada pembedahan padat yang ditanami dengan biakan bakteri uji. Setelah diinkubasi, diameter hambatan jernih yang mengelilingi obat dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap bakteri yang diperiksa. Dalam metode ini, zat yang akan ditentukan aktivitas antibakterinya berdifusi pada lempeng agar yang telah ditanami biakan bakteri uji. Dasar penggunaannya terbentuk atau tidaknya zona hambatan pertumbuhan bakteri disekeliling cakram atau silinder yang berisi zat antibakteri. Ukuran zona hambatan dapat dipengaruhi oleh kepadatan atau viskositas dari media biakan, kecepatan difusi antibiotik, konsentrasi antibiotika pada cakram atau silinder, sensitivitas organisme terhadap antibiotika, dan interaksi antibiotika dengan media. Metode cakram atau silinder difusi dapat mewakili prosedur sederhana untuk menyelidiki zat dalam menentukan apakah signifikan dan mempunyai aktivitas antibiotika yang berguna (Harmita & Radji 2005).

**2.2 Metode dilusi.** Metode dilusi dilakukan mencampurkan secara homogen suatu obat dalam media dengan jumlah yang berbeda-beda atau membuat larutan obat dengan kadar yang berbeda-beda, masing-masing media ditambahkan suspensi kuman kemudian diinkubasi dan diamati daerah media yang jernih (Bonang & Koeswardono 1982). Metode ini menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap pada media cair maupun padat. Media diinokulasikan terhadap bakteri uji, diinkubasi dan diamati konsentrasi antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri uji. Keuntungan metode ini mungkin adanya hasil kuantitatif, yang menunjukkan jumlah obat untuk menghambat atau membunuh mikroorganisme yang diuji (Brooks *et al.* 2014).

## G. Media

Media adalah bahan untuk menumbuhkan mikroorganisme dan tumbuh di dalam atau di atas media. Media yang digunakan harus steril dan pH harus sesuai dengan kebutuhan mikroba. Media harus dalam keadaan steril, artinya sebelum

ditanami mikroba yang dimaksud, tidak ditumbuhi oleh mikroba lain yang tidak diharapkan. Media ada beberapa macam menurut bentuk, sifat, dan susunannya yang ditentukan oleh senyawa penyusun media, prosentase campuran, dan tujuan penggunaan. Media juga digunakan untuk isolasi, identifikasi maupun diferensiasi (Suriawiria 2005). Media yang digunakan untuk menumbuhkan dan mengembangbiakan mikroorganisme tersebut harus sesuai susunannya dengan kebutuhan jenis-jenis mikroorganisme yang bersangkutan. Media berdasarkan menjadi tiga bagian, yaitu:

Media cair (*liquid media*) dapat digunakan pembiakan organisme dalam jumlah besar, fermentasi dan berbagai uji. Media tidak ditambahkan zat pematat, media cair dipergunakan untuk perbakaan mikroalga terutama bakteri dan ragi. (Suriawiria 1985)

Media semi cair atau semi padat digunakan untuk menguji ada tidaknya mortalitas dan kemampuan fermentasi. Media ini untuk pertumbuhan mikroba yang banyak memerlukan kandungan air dan hidup aerobik atau fakultatif (Suriawiria 1985)

Media padat diperoleh dengan menambahkan agar-agar. Agar berasal dari ganggang atau alga yang berfungsi sebagai bahan pematat, karena bahan ini tidak diuraikan oleh mikroorganisme, dan dapat membeku pada suhu 45°C (Waluyo 2004).

## H. Gentamisin

Gentamisin adalah antibiotik golongan aminoglikosida yang bersifat bakterisidal bagi banyak bakteri Gram negatif dan Gram positif yaitu *Serratia*, *Proeteus*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. Gentamisin tidak efektif terhadap *Streptococcus* dan *Bacteroids*. Gentamisin dalam konsentrasi 0,5-5 µg/mL bersifat bakterisidal pada bakteri Gram negatif dan Gram positif tersebut dan telah digunakan pada infeksi berat oleh bakteri Gram negatif yang resisten terhadap obat-obat lain. Obat gentamisin tidak boleh diberikan bersamaan dengan penisilin secara *in vitro* karena penisilin dapat mengendapkan gentamisin, tetapi secara *in*

*vivo* penisilin dapat memfasilitasi masuknya aminoglikosida dalam batang Gram negatif sehingga menjadi sinergis bakterisidal (Brooks *et al.* 2014)

Gentamisin bersifat toksik terutama kondisi terganggunya fungsi ginjal, dan gentamisin sulfat 0,1% telah dibuat dalam bentuk sediaan krim untuk luka bakar terinfeksi dan lesi kulit. Mekanisme kerja gentamisin dengan penghambatan pada sintesis protein, antibiotik ini berikatan dengan subunit 30S ribosom bakteri atau beberapa terikat pada subunit 50S ribosom dan menghambat translokasi peptidil-tRNA dari situs A ke situs P dan menyebabkan kesalahan pembacaan mRNA kemudian mengakibatkan bakteri tidak mampu menyintesis protein vital untuk pertumbuhannya (Pratiwi 2008).

### I. Sterilisasi

Sterilisasi dalam mikrobiologi merupakan proses penghilangan semua jenis mikroorganisme (protozoa, fungi, bakteri, *mycoplasma*, virus) yang terdapat di dalam suatu benda. Proses ini melibatkan aplikasi *biocidal agent* atau proses fisik dengan tujuan untuk membunuh atau menghilangkan mikroorganisme. Sterilisasi didesain untuk membunuh atau menghilangkan mikroorganisme. Target suatu metode inaktivasi tergantung dari metode dan tipe mikroorganismenya, yaitu tergantung dari asam nukleat, protein, atau membran mikroorganisme tersebut. Metode sterilisasi dibagi menjadi dua, yaitu metode fisik dan metode kimia. (Pratiwi 2008).

Metode sterilisasi kimia dilakukan dengan menggunakan bahan-bahan kimia, misalnya metil bromide dan formaldehida. Formaldehida berupa cairan yang larut air tak berwarna, membuat pedih/ iritasi terhadap mata dan membran mucous, digunakan terutama untuk pengendalian fungi. Metil bromide yang digunakan berupa gas (fumigasi), bersifat letal terhadap manusia dan hewan tetapi tidak berbahaya untuk tanaman, digunakan untuk pengendalian nematode dan fungi. Metode sterilisasi fisik dapat dilakukan dengan cara pemanasan kering menggunakan oven selama atau pemanasan basah menggunakan autoklaf, radiasi sinar uv, dan filtrasi (Cahyani 2009).

## J. Landasan Teori

*Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri utama dalam infeksi nosokomial. *Pseudomonas aeruginosa* menyebabkan beberapa penyakit infeksi yaitu dermatitis, otitis eksterna, folikulitis, infeksi pada mata, infeksi pada luka bakar, infeksi pada saluran napas bagian bawah, saluran kemih, dan organ lain. prevalensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* mencapai lebih dari 30% dari semua penyebab infeksi (Radji 2011).

Pengobatan terhadap infeksi *Pseudomonas aeruginosa* dapat menggunakan gentamisin antibiotik golongan aminogliskosida, dalam konsentrasi 0,5-5  $\mu\text{g/mL}$  gentamisin bersifat bakterisidal terhadap bakteri Gram negatif dan Gram positif (Brooks *et al.* 2014). Mekanisme kerja gentamisin yaitu dengan menghambat pada sintesis protein, antibiotik ini berikatan dengan subunit 30S ribosom bakteri atau beberapa terikat pada subunit 50S ribosom dan menghambat translokasi peptidil-tRNA dari situs A ke situs P dan menyebabkan kesalahan pembacaan mRNA kemudian mengakibatkan bakteri tidak mampu menyintesis protein vital untuk pertumbuhannya (Pratiwi 2008).

*Pseudomonas aeruginosa* sering menimbulkan masalah terkait penggunaan antibiotik, yaitu terjadinya resistensi antibiotik. Penggunaan senyawa bioaktif dari bahan alam dilakukan sebagai upaya pencegahan terjadinya peningkatan kasus resistensi yang disebabkan oleh Gram negatif. Pengobatan alternatif dapat dengan mengembangkan bahan-bahan alam sebagai pengobatan penyakit infeksi (Siwi 2012).

Tanaman kari atau dikenal dengan nama latin *Murray koenigii* (L.) Spreng merupakan tanaman populer di masyarakat Aceh dan banyak ditemukan daerah Aceh. Daun kari biasanya dimanfaatkan sebagai bumbu penyedap berbagai masakan khas Aceh karena akan memberikan aroma yang sedap dan rasa yang nikmat pada makanan (Rastina *et al* 2015). Berperan penting dikuliner, minyak atsirinya juga dimanfaatkan oleh industri aromaterapi sabun dan kosmetik. Daun kari direbus dengan minyak kelapa sampai menjadi residu yang kemudian digunakan sebagai tonik rambut yang sangat baik untuk mempertahankan rambut alami dan merangsang pertumbuhan rambut. Pada obat tradisional digunakan

sebagai antiemetik, antidiare, obat demam, antijamur, antiinflamasi, nyeri tubuh, dan muntah (Jain *et al.* 2012). Penelitian Nithya *et al* (2015) membuktikan bahwa ekstrak etanol daun kari yang mengandung senyawa metabolik sekunder golongan fenolik, alkaloid, steroid, flavonoid, dan saponin. Memiliki daya hambat aktivitas antibakteri, berpengaruh signifikan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Dengan menunjukkan adanya zona hambat pada etanol daun kari dengan konsentrasi 2% (20mg/mL), 4% (40mg/mL), dan 6% (60mg/mL) terhadap bakteri *Pseudomonas aureginosa*. Masing-masing konsentrasi mempunyai zona hambat sebesar 6 mm, 8 mm, dan 9 mm.

Penelitian ini menggunakan metode ekstraksi secara maserasi kemudian difraksinasi untuk memperoleh kandungan zat aktif yang diperkirakan dapat berkhasiat sebagai antibakteri. Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana yaitu dengan cara merendam simplisia dalam larutan yang sesuai. Prinsip maserasi adalah cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut akan adanya perbedaan konsentrasi. Pelarut yang digunakan pada maserasi adalah etanol atau campuran etanol-air (Sulistiyani 2018).

Fraksinasi merupakan suatu cara untuk memisahkan golongan utama dari golongan yang lain berdasarkan kepolaran suatu senyawa. Jumlah dan jenis senyawa yang telah dipisahkan akan menjadi fraksi yang berbeda. Serbuk simplisia disari berturut-turut dengan pelarut yang berbeda-beda polaritasnya. Pelarut dimulai dengan non polar, kemudian disari dengan pelarut semi polar dan dengan pelarut polar (Harbourne 1987). *n*-heksana merupakan pelarut non polar yang dapat melarutkan senyawa yang bersifat non polar seperti alkaloid, terpenoid, triterpenoid, sterol, dan fenil propanoid (Tiwari *et al.* 2011). Etanol adalah pelarut dari alkohol atau campurannya dengan air yang merupakan pelarut pengestraksi yang mempunyai kemampuan ekstrak yang terbaik untuk hampir semua senyawa yang mempunyai berat molekul rendah seperti alkaloid, saponin dan flavonoid (Arifianti *et al.* 2014). Etil asetat merupakan pelarut bersifat semi polar sehingga dapat menarik senyawa aglikon maupun glikon flavonoid. Etil asetat dapat digunakan sebagai pelarut karena dapat menarik senyawa golongan alkaloid,

flavonoid, saponin, tanin, polifenol, dan triterpenoid (Putri *et al* 2013). Air merupakan pelarut polar, senyawa yang dapat larut dalam pelarut air adalah garam alkaloid, minyak menguap, glikosida, gula, gom, pati, protein, lilin, lemak pektin, saponin dan tanin (Depkes 1986).

Pengujian aktivitas bakteri ini menggunakan metode difusi dan dilusi. Metode difusi bertujuan untuk melihat potensi antimikroba yang efektif berdasarkan luasnya zona hambat pertumbuhan bakteri akibat berdifusinya senyawa uji dari titik pemberian ke daerah difusi. Metode dilusi bertujuan mencari Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Prinsip metode dilusi adalah senyawa uji diencerkan hingga diperoleh berbagai macam konsentrasi. Tabung yang mengandung senyawa uji dan suspensi bakteri pada kadar kecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan bakteri uji ditetapkan sebagai KHM. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan dengan cara tabung media yang jernih diinokulasi secara goresan pada media selektif diinkubasi pada suhu kamar 37°C selama 18-24 jam. Hasil dari konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditunjukkan oleh konsentrasi terendah pada *Muller Hinton Agar* (MHA) yang tidak menunjukkan pertumbuhan koloni bakteri.

### **K. Hipotesis**

Berdasarkan permasalahan yang ada, maka dapat disusun suatu hipotesis dalam penelitian adalah:

Pertama, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air daun kari (*Murraya koenigii* (L.) Spreng) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Kedua, fraksi teraktif adalah fraksi etil asetat dari ekstrak etanol 70% daun kari mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Ketiga, dapat diketahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) fraksi teraktif daun kari (*Murraya koenigii* (L.) Spreng) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

