

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### A. Tanaman Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.)

#### 1. Klasifikasi bangle

Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) adalah suatu jenis temu-temuan yang berasal dari Asia tropika. Tanaman ini banyak ditemukan di India, Asia tenggara dan Indocina. Tanaman ini banyak tersebar di Indonesia, yaitu di daerah Sumatera, Jawa, Kalimantan, Maluku dan Nusa Tenggara. Tanaman bangle memiliki taksonomi sebagai berikut:

Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Subkelas	: Zingiberidae
Bangsa	: Zingiberales
Suku	: Zingiberaceae
Marga	: Zingiber
Spesies	: <i>Zingiber cassumunar</i> Roxb. (Marliani 2012).



Gambar 1. Rimpang Bangle



Gambar 2. Tanaman Bangle

(Sumber: [Medicaholistik.com](http://Medicaholistik.com))

#### 2. Nama daerah

Bangle memiliki nama lain di setiap daerah seperti di Sunda (Panglai), Jawa (Bengle), Madura (Pandiyang), Sulawesi (Manglai), Makasar (Bale),

Kalimantan (Bangalai), Aceh (Mungle), Palembang (Banglai), Melayu (Bunglai, Bangle, Kunit Bolai), Bali (Banggele), Ambon (Unin Pakei) dan Ternate, Tidore (Bangle) (Syukur *et al* 2001).

### 3. Morfologi tanaman bangle

*Zingiber cassumunar* Roxb. merupakan tanaman herba semusim. Batangnya tegak, berwarna hijau dengan rimpang kuat, menjalar berdaging, tangkai daun pendek, daun tunggal, penyilangan menyirip, pangkal tumpul, ujung sangat lancip, kedua permukaan berbulu halus, panjang helai daun 23-25 cm, dan lebar 20-25 cm. Bagian yang mengandung bunga berbentuk tandan, bentuk bulat telur, panjang 6-10 cm, dan lebar 4-5 cm. Daun kelopak tersusun seperti sisik tebal. Kelopak seperti tabung, ujungnya bergerigi 3, panjang lebih kurang 1,5 cm, dan mempunyai warna merah menyala. Akar serabut berwarna putih kotor (Syukur *et al* 2001).

### 4. Kandungan kimia

*Zingiber cassumunar* Roxb. mengandung senyawa kimia berupa minyak atsiri 1,8% atas dasar bahan kering, mengandung komponen antara lain sabinen, seskuifeladren, sineol, asam, dan gom, asam-asam organik, dan albuminoid serta kurkuminoid (Hanani 2000; Depkes 1989; Syamsuhidayat dan Hutapea 1991). Kandungan senyawa lain yang terkandung dalam rimpang bangle adalah saponin, flavonoid, minyak atsiri, alkaloid, tanin, glikosida, quinon, steroid, dan triterpenoid (Padmasari *et al* 2013; Buldani *et al* 2017).

**4.1 Flavonoid.** Flavonoid merupakan salah senyawa aktif yang biasanya digunakan sebagai antibakteri (Suteja 2016). Flavonoid merupakan senyawa golongan fenolik dengan struktur kimia C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C<sub>6</sub> (cincin benzen tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon (Redha 2010). Struktur flavonoid memiliki hubungan dengan aktivitasnya sebagai antibakteri. Mekanisme flavonoid, seperti quercetin sebagian besar disebabkan oleh penghambatan DNA *gyrase*. Sophoraflavone G dan (-)-*epigallocatechin gallate* telah diusulkan dapat menghambat fungsi membran sitoplasma, sedangkan *licochalcones* A dan C dapat menghambat metabolisme energi (Chusnie dan Lamb 2005). Flavonoid juga

memiliki kemampuan untuk bergabung dengan membran sel bakteri dan protein ekstraseluler (Aini dan Mardyaningsih 2016).

**4.2 Alkaloid.** Alkaloid merupakan suatu golongan senyawa yang tersebar luas hampir pada semua jenis tanaman. Semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa dan membentuk cincin heterosiklik (Harborne 1984). Alkaloid dapat ditemukan pada biji, daun, ranting dan kulit kayu dari tanaman. Kadar alkaloid dari tanaman dapat mencapai 10-15%. Alkaloid kebanyakan bersifat racun, tetapi ada pula yang sangat berguna dalam pengobatan. Alkaloid merupakan senyawa tanpa warna, sering kali bersifat optik aktif, kebanyakan berbentuk kristal tetapi hanya sedikit yang berupa cairan (misalnya: nikotin) pada suhu kamar (Sabirin *et al* 1994). Alkaloid berfungsi sebagai obat dan aktivator kuat bagi sel imun yang dapat menghancurkan bakteri, virus, jamur dan sel kanker (Depkes 1987).

**4.3 Tanin.** Tanin merupakan senyawa yang bersifat fenol yang mempunyai rasa sepat dan kemampuan menyamak kulit. Fungsi tanin sebagai alat pertahanan bagi tumbuhan untuk mengusir hewan pemangsa tumbuhan, mempunyai aktivitas antioksidan, menghambat pertumbuhan tumor dan mendenaturasi protein. Tanin larut dalam air, tetapi tidak larut dalam pelarut nonpolar organik (Robinson 1995). Tanin memiliki aktivitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktifkan adhesin sel mikroba juga menginaktifkan enzim dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel. Tanin juga mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Sel bakteri menjadi lisis akibat tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati. Kompleksasi dari ion besi dengan tanin dapat menjelaskan toksisitas tanin. Mikroorganisme yang tumbuh di bawah kondisi aerobik membutuhkan zat besi untuk berbagai fungsi karena tanin mengikat kuat besi, termasuk reduksi prekursor ribunokleotida DNA (Priya 2014).

**4.4 Steroid.** Mekanisme kerja steroid sebagai antibakteri berhubungan dengan membran lipid dan sensitivitas terhadap komponen steroid yang dapat menyebabkan kebocoran pada liposom (Madduluri *et al* 2013). Steroid dapat

berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang bersifat permeabel terhadap senyawa-senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membran menurun serta morfologi membran sel berubah yang menyebabkan sel rapuh dan lisis (Ahmed 2005).

**4.5 Triterpenoid.** Triterpenoid merupakan senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isopren dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C<sub>30</sub> asiklik yang disebut skualen. Triterpenoid berupa senyawa tak berwarna, berbentuk kristal, biasanya bertitik leleh tinggi (Harborne 1987). Triterpenoid merupakan golongan senyawa metabolit sekunder. Golongan senyawa triterpenoid mempunyai khasiat sebagai antifungi, insektisida, antivirus, antioksidan, dan antibakteri (Putra *et al* 2013).

## 5. Penggunaan

Dalam pengobatan secara tradisional rimpang bangle di gunakan sebagai obat perut mulas, karminatif, diare, sakit kuning, rematik dan asma (Sastroamidjojo 2001), selain rimpangnya, bagian bangle yang dapat digunakan sebagai pengobatan adalah bagian daunnya yang berkhasiat sebagai amara dan obat untuk perut kembung (Wijayakusuma *et al* 1996).

## 6. Perkembangan penelitian antibakteri rimpang bangle

Penelitian yang telah dilakukan oleh Sayuti (2014), kombinasi minyak atsiri rimpang bangle dan lempuyang wangi memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Metode yang digunakan adalah metode difusi sumuran. Minyak atsiri sebanyak 5 µl dimasukkan, dengan perbandingan masing-masing 3:1, 1:1, 1:3, 1:0, dan 0:1. Zona hambat yang terbentuk pada perbandingan 3:1 terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 10,67 mm dan pada bakteri *Escherichia coli* sebesar 4,50 mm, zona hambat pada konsentrasi 1:1 terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 14,90 mm dan bakteri *Escherichia coli* sebesar 8,67 mm, zona hambat pada konsentrasi 1:3 terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 19,67 mm dan *Escherichia coli* sebesar 10,83 mm, zona hambat pada konsentrasi 1:0 terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 8,67 dan *Escherichia coli* 0, dan zona hambat pada konsentrasi 0:1 terhadap bakteri

*Staphylococcus aureus* sebesar 15,50 mm dan terhadap *Escherichia coli* sebesar 4,73 mm. Penelitian yang telah dilakukan oleh Buldani *et al* (2017), ekstrak rimpang bangle dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% menunjukkan adanya aktivitas antibakteri. Bakteri yang diujikan adalah bakteri *Vibrio cholerae* pada konsentrasi 25% memberikan daya hambat sebesar 2,35 mm, sedangkan pada konsentrasi 50% daya hambatnya 4,36 mm, pada konsentrasi 75% memberikan daya hambat 6,09 mm dan pada konsentrasi 100% memberikan daya hambat 7,90 mm dan pada bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 25% dapat memberikan daya hambat sebesar 5,59 mm, pada konsentrasi 50% daya hambat yang terbentuk adalah 6,55 mm, pada konsentrasi 75% daya hambatnya 7,52 mm dan pada konsentrasi 100% daya hambat yang terbentuk adalah 10,60 mm. Citradewi (2019) dalam penelitiannya ekstrak rimpang bangle memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Pengujain aktivitas antibakteri digunakan pelarut etanol 96% dengan menggunakan metode maserasi, dan dengan beberapa seri konsentrasi, yaitu 25%, 50%, 75%, dan 100%. Zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 25% sebesar 14,25 mm, zona hambat pada konsentrasi 50% sebesar 16,50 mm, zona hambat pada konsentrasi 75% sebesar 17,75 mm, dan zona hambat pada konsentrasi 100% adalah 19,50 mm.

## **B. Simplisia**

Simplisia adalah bahan alamiah yang dimanfaatkan sebagai bahan obat yang belum mengalami pengolahan apapun kecuali dinyatakan lain, simplisia merupakan bahan yang telah dikeringkan. Simplisia digolongkan menjadi tiga macam yaitu, simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia mineral.

Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman, atau eksudat tanaman. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, atau zat yang dihasilkan oleh hewan yang belum diolah berupa zat kimia murni. Simplisia mineral adalah bahan mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara yang sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Gunawan dan Mulyani 2004).

### **1. Tahapan pembuatan simplisia**

Proses pembuatan simplisia memiliki beberapa tahapan. Tahapan itu dimulai dari pengumpulan bahan baku untuk menentukan kualitas bahan baku. Langkah selanjutnya sortasi basah yaitu pemilihan hasil panen ketika tanaman masih segar. Lalu dilakukan pencucian yang berguna untuk membersihkan kotoran yang melekat terutama untuk bahan-bahan yang tercemar peptisida. Pengeringan bertujuan untuk menurunkan kadar air agar tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri, menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan aktif, kemudian sortasi kering yaitu pemilihan bahan setelah mengalami proses pengeringan. Langkah terakhir adalah pengepakan dan penyimpanan, disimpan dalam rak pada gudang penyimpanan (Depkes 2007).

### **2. Pengeringan simplisia**

Pengeringan bertujuan untuk menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang atau bakteri, menghentikan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan zat aktif, memudahkan dalam hal pengelolaan proses selanjutnya. Pengeringan simplisia secara alamiah dapat dilakukan dengan panas sinar matahari langsung. Pengeringan alamiah lainnya yaitu dengan cara diangin-anginkan dan tidak di bawah sinar matahari langsung. Pengeringan simplisia yang dilakukan menggunakan alat pengering yang harus diperhatikan, yaitu jenis bahan, suhu pengeringan dan waktu pengeringan, sehingga simplisia tidak mudah rusak dan kandungan kimia yang berkhasiat tidak berubah karena proses fermentasi. Pengeringan yang paling banyak dilakukan yaitu pengeringan secara alamiah yang menggunakan panas sinar matahari secara langsung (Gunawan dan Mulyani 2004).

### **3. Pembuatan serbuk**

Pembuatan serbuk simplisia ini bertujuan untuk meningkatkan luas permukaan dari bahan sehingga senyawa kimia yang ada dalam tanaman dapat ditarik secara optimal. Pembuatan serbuk simplisia dilakukan dengan cara mengumpulkan bahan baku dan menentukan kualitas bahan baku. Bahan baku yang dipilih adalah yang masih segar, lalu dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada bahan baku. Rimpang yang telah

kering kemudian dihaluskan dengan menggunakan alat penggiling dan diayak. Pemilihan nomor ayakan tercantum dalam Kemenkes (2011) dimana untuk mendapatkan serbuk yang agak kasar biasanya menggunakan *mess* 40, setelah diayak serbuk kemudian ditimbang dan dilakukan perhitungan bobot kering terhadap bobot basah rimpang bangle.

### **C. Ekstraksi**

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

Ekstraksi adalah penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak larut dengan pelarut cair. Simplisia yang di ekstrak mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan senyawa yang tidak dapat larut seperti serat, karbohidrat, protein, dan lain-lain. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat di golongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, dan lain-lain. Struktur kimia yang berbeda-beda akan mempengaruhi kelarutan serta stabilitas senyawa-senyawa tersebut terhadap pemanasan udara, cahaya, logam berat, dan derajat keasaman. Dengan diketahuinya senyawa aktif yang terkandung dalam simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat. Simplisia yang lunak seperti rimpang dan daun mudah diserap oleh pelarut, oleh karena itu pada proses ekstraksi tidak perlu diserbuk sampai halus. Simplisia yang keras seperti biji, kulit kayu, dan kulit akar susah diserap oleh pelarut, karena itu perlu diserbuk sampai halus. Disamping memperhatikan sifat fisik dan senyawa aktif dari simplisia juga harus memperhatikan senyawa-senyawa lain yang terdapat dalam simplisia seperti protein, karbohidrat, lemak, dan gula, karena senyawa ini akan mempengaruhi tingkat kejenuhan pelarut sehingga akan berpengaruh pada proses pelarutan senyawa aktif. Kejegan kadar senyawa aktif merupakan syarat mutlak mutu ekstrak yang diproduksi, oleh sebab itu setiap ekstrak harus distandarisasi (Depkes 2000).

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

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan campurannya dengan menggunakan pelarut (Agoes 2009). Menurut Voight (1995) pada dasarnya

terdapat dua prosedur untuk membuat sediaan obat tumbuhan, salah satunya dengan cara ekstraksi. Cara ekstraksi dilakukan dengan pengeringan bahan segar kemudian dihaluskan dan diproses dengan suatu pelarut atau cairan pengestraksi. Metode dasar dari ekstraksi adalah maserasi (proses M) dan perkolasi (proses P). Biasanya metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa faktor seperti sifat dari bahan mentah obat dan daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi serta kepentingan dalam memperoleh ekstrak yang sempurna atau mendekati sempurna (Voight 1995). Sifat bahan mentah merupakan faktor utama yang harus diperhatikan dalam memilih metode ekstraksi.

Maserasi merupakan salah satu jenis metode ekstraksi dengan sistem tanpa pemanasan atau dikenal dengan istilah ekstraksi dingin, jadi pada metode ini pelarut dan sampel tidak mengalami pemanasan sama sekali, sehingga maserasi dapat digunakan untuk senyawa yang tidak tahan dengan panas (Hamdani 2014). Maserasi merupakan penyarian paling sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari (Afifah 2012). Prinsip maserasi adalah pengikatan/pelarutan zat aktif yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari yang sesuai selama 5 hari dalam temperatur kamar, terlindung dari cahaya, cairan penyari akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel. Isi sel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh cairan penyari dengan konsentrasi rendah (Depkes 2000).

### **3. Ekstrak**

Ekstrak merupakan sediaan pekat yang diperoleh dengan cara mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati ataupun hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes 1995).

Berdasarkan sifatnya ekstrak dibagi menjadi empat, yaitu: ekstrak encer, ekstrak kental, ekstrak kering, dan ekstrak cair. Ekstrak encer (*Extractum tenue*) merupakan sediaan yang memiliki konsistensi semacam madu dan dapat di tuang. Ekstrak kental (*Extractum spissum*) merupakan sediaan dalam keadaan dingin dan

tidak dapat di tuang. Kandungan airnya berjumlah sampai dengan 30%. Ekstrak kering (*Extractum siccum*) merupakan sediaan yang memiliki konsistensi kering dan mudah digosokkan. Memiliki kandungan lembab tidak lebih dari 5%. Ekstrak cair (*Extractum fluidum*) merupakan ekstrak yang dibuat sedemikian rupa sehingga 1 bagian simplisia sesuai dengan 2 bagian (kadang-kadang juga satu bagian) ekstrak cair (Voigt 1984).

#### **D. Pelarut**

Kandungan senyawa yang terdapat di dalam tanaman dapat ditarik oleh suatu pelarut pada saat proses ekstraksi. Pemilihan pelarut yang sesuai merupakan faktor penting dalam proses ekstraksi. Jenis dan mutu pelarut yang digunakan ini menentukan keberhasilan proses ekstraksi (Harborne 1987). Proses ekstraksi dengan pelarut didasarkan pada sifat kepolaran zat dalam pelarut saat ekstraksi. Senyawa polar hanya akan larut pada pelarut polar, seperti etanol, metanol, butanol, dan air. Senyawa non-polar juga hanya akan larut dalam pelarut non-polar, seperti eter, kloroform, dan *n*-heksan (Gritter *et al* 1991).

Pelarut non-polar dapat mengekstrak likopen, triterpenoid, dan sebagian kecil karotenoid, sedangkan pelarut polar dapat mengekstrak senyawa *xanthine* dan senyawa polar lainnya (Arifulloh 2013). Pelarut semi polar mampu menarik senyawa likopen, beta karoten, vitamin C, padatan terlarut, dan total fenol (Ma'sum *et al* 2014). Pelarut yang digunakan harus dapat melarutkan zat yang diinginkan, mempunyai titik didih yang rendah, murah, tidak toksik, dan tidak mudah terbakar (Harborne 1987).

##### **1. Etanol**

Pelarut etanol dipilih karena selektif, kapang dan khamir sulit tumbuh dalam etanol dengan konsentrasi lebih dari 20%, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, dan panas yang diperlukan dalam pemekatan lebih sedikit. Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak atsiri, glikosida, kurkumin, antrakinin, flavonoid, steroid, damar, klorofil, lemak, tanin, dan saponin (Depkes 1986). Dalam penelitian ini menggunakan pelarut etanol 96% yang merupakan campuran dari etanol murni

dan air dengan kadar 96%. Menurut Farmakope Herbal Indonesia Edisi I (2008) etanol 96% adalah pelarut yang universal dan dapat melarutkan senyawa polar, semi polar maupun non polar.

## **2. *n*-Heksan**

*n*-heksan ( $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$ ) adalah pelarut petroleum yang mudah menguap. Ikatan pada heksana bersifat tunggal dan kovalen, sehingga menyebabkan *n*-heksan tidak reaktif sehingga sering digunakan sebagai pelarut inert pada reaksi senyawa organik. Heksana mempunyai karakteristik sangat tidak polar dan mudah menguap. Berat molekul heksana adalah 86,17 gram/mol dengan titik leleh  $-94,3$  sampai  $-95,3^\circ\text{C}$  (Daintith 1994). *n*-heksan memiliki tetapan dielektrik pada suhu  $20^\circ\text{C}$  sebesar 1,890 (Stahl 1985).

## **3. Etil asetat**

Etil asetat ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{COOH}$ ) merupakan senyawa turunan steroid yang memiliki berat molekul 72,08 gram/mol. Pelarut ini bersifat semi polar (Daintith 1994). Etil asetat merupakan pelarut yang baik digunakan untuk ekstraksi karena dapat dengan mudah diuapkan, tidak higroskopis dan memiliki toksisitas rendah. Etil asetat memiliki tetapan dielektrik pada suhu  $20^\circ\text{C}$  sebesar 6,02 (Stahl 1985).

## **4. Air**

Air dipilih sebagai pelarut karena harganya yang murah, mudah didapat, stabil, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, tidak beracun, dan alamiah. Air merupakan suatu pelarut universal yang dapat digunakan untuk ekstrak tanaman produk aktivitas antibakteri. Air juga bisa melarutkan gom, pati gula, protein, enzim, lendir, lilin, lemak, peptida, minyak menguap, garam alkaloid, asam organik, dan zat warna (Depkes 1986).

## **E. Fraksinasi**

Fraksinasi pada prinsipnya merupakan proses penarikan senyawa pada suatu ekstrak dengan menggunakan dua macam pelarut yang tidak saling bercampur. Pelarut yang umumnya dipakai untuk fraksinasi adalah *n*-heksan, etil asetat dan metanol. Untuk menarik lemak dan senyawa non polar digunakan pelarut *n*-heksan, etil asetat digunakan untuk menarik senyawa yang bersifat semi

polar dan metanol digunakan untuk menarik senyawa yang bersifat polar. Dari proses ini dapat diduga sifat kepolaran dari senyawa-senyawa yang akan dipisahkan. Senyawa-senyawa yang bersifat non polar akan larut dengan pelarut non polar, senyawa yang semi polar akan larut dengan pelarut semi polar dan senyawa polar akan larut dengan pelarut yang bersifat polar juga (Mutiasari 2012).

Tujuan dilakukannya fraksinasi adalah untuk mendapatkan fraksi ekstrak yang lebih murni dengan aktivitas yang lebih tinggi. Fraksinasi dengan menggunakan pelarut merupakan salah satu metode pemisahan yang baik dan populer karena dapat dilakukan untuk tingkat mikro maupun makro. Fraksinasi terdiri dari dua macam yaitu ekstraksi padat-cair dan cair-cair. Fraksinasi padat-cair dapat dilakukan dengan cara sokhletasi dengan menggunakan alat sokhlet, pada fraksinasi ini terjadi keseimbangan di antara fase padat dan fase cair (pelarut). Fraksinasi cair-cair merupakan suatu pemisahan yang didasarkan pada perbedaan kelarutan komponen dua pelarut yang tidak saling bercampur. Alat yang digunakan adalah alat yang sederhana yaitu corong pisah. Prinsip fraksinasi menggunakan pelarut didasarkan pada distribusi zat terlarut dan perbandingan tertentu antara dua pelarut yang tidak saling bercampur (Harborne 2006).

## **F. *Staphylococcus aureus***

### **1. Sistematika *Staphylococcus aureus***

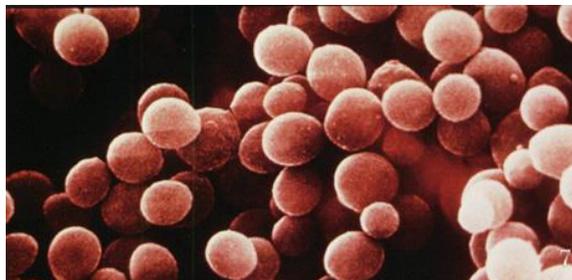
Sistematika *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: <i>Staphylococcus</i> (G.M. Garrity <i>et al</i> 2007)
Species	: <i>S. aureus</i>
Nama binomial	: <i>Staphylococcus aureus</i> (Rosenbach 1884).

## 2. Morfologi *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat dengan diameter 0,7-1,2  $\mu\text{m}$ , tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora dan tidak bergerak. Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25°C). Koloni pada perbenihan padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol dan berkilau. Lebih dari 90% isolat klinik menghasilkan *S. aureus* yang mempunyai kapsul polisakarida atau selaput tipis yang berperan dalam virulensi bakteri. Berbagai derajat hemolisis disebabkan oleh *S. aureus* dan kadang-kadang disebabkan oleh *staphylococcus* lainnya (Jawetz. *et al* 2008).

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu jenis bakteri penyebab keracunan makanan yang paling sering terjadi. Sel-sel *Staphylococcus aureus* tersusun dalam tandan khas berbentuk Gram positif. *Staphylococcus* dapat tumbuh baik pada kondisi aerobik tetapi umumnya tidak mampu bersaing dengan bakteri lain yang ada dalam makanan. Strain tertentu dari *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan penyakit yaitu yang menghasilkan endotoksin. Suatu endotoksin yang dihasilkan oleh strain bakteri dapat dibentuk satu atau lebih dari lima tipe antigenik yang berbeda dari endotoksin tersebut. Umumnya penularan oleh *Staphylococcus aureus* tidak di dalam tubuh tetapi nampak di permukaan tubuh, biasanya di dalam hidung dan bisul-bisul (Ali 2005). Gambar bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. *Staphylococcus aureus* dilihat dari mikroskop elektron (Todar 2008).

### **3. Patogenisitas *Staphylococcus aureus***

*Staphylococcus aureus* merupakan patogen utama pada manusia. Hampir semua orang pernah mengalami infeksi *S. aureus* selama hidupnya, dengan derajat keparahan yang beragam, dari keracunan makanan atau infeksi kulit ringan hingga infeksi berat yang mengancam jiwa. Sebagian bakteri *Staphylococcus* merupakan flora normal pada kulit, saluran pernafasan dan saluran pencernaan makanan pada manusia. Bakteri ini juga terdapat di udara dan lingkungan sekitar. *S. aureus* yang patogen bersifat invasif yang menyebabkan hemolisis, membentuk koagulasi dan mampu meragikan manitol. Infeksi oleh *S. aureus* ditandai dengan kerusakan jaringan yang disertai abses. Beberapa penyakit yang disebabkan oleh *S. aureus* adalah bisul, jerawat, impetigo dan infeksi luka. Infeksi yang lebih berat antara lain pneumonia, mastitis, plebitis, meningitis, infeksi saluran kemih, osteomielitis dan endokarditis. *S. aureus* juga penyebab utama infeksi nosokomial, keracunan makanan dan sindroma syok toksik (Kusuma 2009).

### **4. Pengobatan *Staphylococcus aureus***

Pengobatan bakteri *Staphylococcus aureus* untuk kasus ringan di luar rumah sakit dapat diberikan penisilin G. Warsa (1993) menyebutkan bahwa apabila infeksi yang diderita pasien termasuk infeksi yang berat atau bakteri *Staphylococcus aureus* resisten terhadap penisilin, maka dapat diberikan metisilin atau derivat penisilin lain. Pasien yang terkena abses peka terhadap penisilin maka pemilihan terapi pertama menggunakan antibiotik nafsilin atau oksasilin dan pemilihan terapi kedua menggunakan antibiotik golongan sefalosporin golongan pertama, kedua, ketiga secara berurutan, sedangkan terapi pilihan ketiga menggunakan antibiotik klindamisin.

### **5. *Staphylococcus aureus* yang resisten**

*S. aureus* yang resisten adalah golongan bakteri Gram positif. *S. aureus* yang resisten dianggap sebagai salah satu organisme utama penyebab infeksi nosokomial sejak dilaporkan pada tahun 1961. Infeksi oleh *S. aureus* yang resisten diasosiasikan dengan peningkatan morbiditas, kebutuhan akan terapi antibiotik yang lebih lama dan peningkatan resiko kematian. Resiko meningkat lebih besar pada pasien yang telah diterapi kurang optimal, baik dengan terapi

antibiotik yang tidak efektif maupun dengan intervensi bedah yang inadekuat (Lowy 2003).

## 6. Resistensi terhadap beta laktam

*Staphylococcus aureus* berubah menjadi galur resisten metisilin (MRSA) karena mendapat sisipan suatu elemen DNA berukuran besar antara 20-100 kb yang disebut *staphylococcal cassette chromosome mec* (SCCmec). SCCmec atau mecDNA terintegrasi ke dalam koromosom *S. aureus* pada regio di dekat *origin of replication* (ori) kromosom. Kemampuan integrasi ini dikarenakan pada ujung 3' SCCmec merupakan sekuen yang berulang dan *inverted* yang disebut orfX. SCCmec juga memiliki kemampuan integrasi dan eksisi (keluar dari kromosom) karena pada ujung 5' mengandung gen *ccrA* dan *ccrB* yang merupakan anggota famili invertase/resolvase. SCCmec selalu mengandung *mecA* yaitu gen yang menyandi PBP2a yang mendasari resisten MRSA. Ada satu *insertion element* IS431 atau IS257 pada sebelah hulu *mecA* yang menjadi situs bagi proses rekombinasi elemen genetik dari plasmid maupun transposon seperti Tn554 (Arai *et al* 1996; Parvez *et al* 2008).

Resisten MRSA terhadap metisilin dan terhadap semua antimikroba golongan beta laktam disebabkan perubahan pada *protein binding penicillin* (PBP) yang normal yaitu PBP 2 menjadi PBP 2a. PBP 2a memiliki afinitas yang sangat rendah terhadap beta laktam sehingga sekalipun bakteri ini dibiakkan pada medium mengandung konsentrasi tinggi beta laktam, MRSA tetap dapat hidup dan mensintesa dinding sel (tumbuh). Eksplorasi pada struktur PBP 2a menunjukkan adanya perubahan pada situs pengikatan (*binding site*) yang mengakibatkan rendahnya afinitas PBP 2a disandi oleh gen *mecA* yang merupakan bagian dari SCCmec (Memmi *et al* 2008).

*Protein binding penicillin* merupakan sekelompok protein yang terlibat dalam biosintesa peptidoglikan yaitu mengkatalis reaksi transpeptidase (pembentukan anyaman peptida). Peptidoglikan *Staphylococcus* memiliki ciri khas berukuran panjang, berupa struktur anyaman (*cross linkage*) dengan rantai samping pentaglisin yang fleksibel. Peptidoglikan ini menjadi target antimikroba beta laktam. Resistensi terjadi karena produksi enzim betalaktamase seperti pada

galur *Staphylococcus aureus producing betalactamases* dan perubahan pada struktur PBP seperti yang terjadi pada MRSA. PBP 1, 2 dan 3 memiliki aktifitas transpeptidase primer sedangkan PBP 4 memiliki aktifitas transpeptidase sekunder. Reaksi lain dalam pembentukan peptidoglikan adalah transglikolasi yang tidak berhubungan dengan *penicillin binding activity* (tidak berhubungan dengan reseptor penisilin). PBP 2 memiliki aktifitas unik yaitu selain sebagai enzim transpeptidase ternyata juga memiliki aktifitas transglikosilase. Afinitas PBP 2a yang sangat rendah terhadap beta laktam mengakibatkan antimikroba ini tidak dapat mempengaruhi reaksi transpeptidase. Aktifitas transglikosilasi PBP 2a sama sekali tidak terpengaruh oleh beta laktam maka diduga resisten MRSA juga ditemukan oleh keutuhan fungsi transglikosilasi dari PBP 2a ini (Memmi *et al* 2008; Horne *et al* 2009).

### **G. Antibakteri**

Antibakteri merupakan senyawa atau zat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Dalam penggolongannya antibakteri dikenal dengan antiseptik dan antibiotik. Daya kerja antibiotik, yaitu tidak membedakan antara mikroorganisme dan jaringan tubuh. Sedangkan antibiotik merupakan zat kimia yang dihasilkan oleh bakteri dan fungi yang memiliki khasiat mematikan atau menghambat pertumbuhan kuman (Rostinawati 2009).

Mekanisme kerja dari senyawa antibakteri diantaranya yaitu menghambat metabolisme sel bakteri, menghambat sintesis dinding sel bakteri, mengganggu permeabilitas membran sel bakteri, menghambat sintesa protein sel bakteri, menghambat sintesa asam nukleat sel bakteri (Jawetz *et al* 1986). Pertama, menghambat metabolisme sel bakteri. Bakteri membutuhkan asam folat untuk hidup, sehingga harus mensintesis sendiri asam folat dari asam para amino benzoat (PABA) untuk memenuhi kebutuhan hidupnya. Senyawa antibakteri bersaing dengan PABA untuk diikuti sertakan dalam pembentukan asam folat menyebabkan terbentuknya analog asam folat non fungsional sehingga kebutuhan asam folat sel bakteri tidak terpenuhi. Kebutuhan asam folat oleh sel bakteri yang tidak terpenuhi menyebabkan kematian sel bakteri. Contoh antibakteri yang

bekerja dengan menghambat metabolisme sel bakteri adalah sulfonamid dan trimetoprim (Jawetz *et al* 2007).

Kedua, menghambat dinding sel bakteri. Dinding sel bakteri terdiri dari polipeptida yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida (glukopeptida). Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukan atau merusak dinding sel. Kerusakan dinding sel bakteri akan menyebabkan terjadinya lisis. Contoh antibiotik yang bekerja dengan cara menghambat sintesis dinding sel bakteri adalah penisilin, sefalosporin, vankomisin, dan sikloserin (Jawetz *et al* 2007).

Ketiga, mengganggu permeabilitas membran sel bakteri. Membran sel berguna sebagai penghalang yang selektif dan menjalankan fungsi transport aktif, meloloskan beberapa zat yang terlarut dan menahan zat-zat yang terlarut lainnya. Kerusakan membran sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen dari dalam sel bakteri yaitu makromolekul dan ion sehingga terjadi kematian bakteri. Contoh antibiotik yang bekerja dengan cara mengganggu atau menghambat permeabilitas membran sel bakteri adalah polimiksin, asam nalidixat, daptomisin, valinomisin, amfoterisin, dan imidazol. (Jawetz *et al* 2007).

Kempat, menghambat sintesa protein sel bakteri. Bakteri perlu mensintesis berbagai protein untuk kelangsungan hidupnya. Sintesis protein berlangsung di ribosom dengan bantuan mRNA dan tRNA. Penghambatan sintesis protein bakteri menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA pada waktu sintesis protein, akibatnya akan terbentuk protein yang abnormal dan non fungsional bagi sel bakteri. Contoh antibakteri yang bekerja dengan cara menghambat sintesis protein sel bakteri adalah eritromisin, linkomisin, tetrasiklin, dan kloramfenikol (Jawetz *et al* 2007).

Kelima, menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri. Mekanisme dalam menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri, salah satunya adalah dengan menghalangi sintesis DNA dengan cara membloki DNA gyrase, contohnya antibiotik kuinolon dan fluorokuinolon. Antibiotik rifampisin bekerja dengan membentuk ikatan dengan enzim polimerase RNA sehingga menghambat sintesis RNA oleh enzim tersebut (Jawetz *et al* 2007).

### **H. Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Difusi**

Uji aktivitas antibakteri merupakan suatu uji untuk mengetahui apakah zat tersebut dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri. Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode dilusi atau pengenceran (Bonang & Koeswardono 1982). Metode difusi merupakan suatu uji aktivitas antibakteri dengan menggunakan suatu cawan yang berliang renik yang menggunakan obat dalam jumlah tertentu dan ditempatkan pada suatu pembedihan yang telah ditanami oleh biakan bakteri yang akan diperiksa. Garis tengah daerah hambatan jernih yang mengelilingi dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap bakteri yang diperiksa (Jawetz *et al* 1986).

Faktor-faktor yang mempengaruhi metode difusi yaitu pradifusi, ketebalan medium agar, ketebalan inokulum, komposisi media agar, suhu inkubasi, waktu inkubasi, dan pengaruh pH. Perbedaan ketebalan media agar mempengaruhi zat uji masuk ke dalam agar, sehingga akan mempengaruhi diameter hambatan. Media agar yang digunakan semakin tebal maka daya hambatan yang terjadi akan semakin kecil (Bonang & Koeswardono 1982).

Keuntungan metode difusi adalah dapat dengan mudah menentukan potensi antibakteri dengan mengukur diameter zona radikal dan zona iradikal, dibanding dengan metode dilusi yang pengamatannya sulit karena warna ekstrak sangat berpengaruh. Zona radikal merupakan suatu daerah disekitar sumuran atau cakram yang sama sekali tidak terlihat pertumbuhan bakteri, sedangkan zona iradikal merupakan daerah disekitar sumuran atau cakram yang pertumbuhan bakterinya dihambat oleh zat antimikroba tetapi tidak dimatikan. Kekurangan metode difusi adalah aktivitas antibakterinya dapat dipengaruhi oleh tebal tipisnya medium dan faktor difusibilitas obat karena suspensi bakteri tidak tersebar merata seperti metode dilusi (Jawetz *et al* 1986).

Pengujian antibakteri dengan metode difusi digunakan untuk menentukan aktivitas antibakteri berdifusi pada lempeng agar yang telah diinokulasi terlebih dahulu. Potensi suatu antibakteri ditetapkan dengan cara mengukur diameter zona hambatan bakteri di sekitar cakram yang berisi zat antibakteri. Semakin besar

aktivitasnya maka zona hambat yang terbentuk juga semakin besar. Metode difusi dibagi menjadi tiga cara.

### **1. Cara cakram**

Cara cakram dilakukan dengan cara suatu cakram kertas yang mengandung obat dalam konsentrasi tertentu ditempatkan pada lempeng agar yang telah dibiakan bakteri. Setelah diinkubasi sesuai waktu yang telah ditentukan, zona hambat jernih yang mengelilingi cakram dianggap sebagai aktivitas antibakteri. Lebar daerah hambatan tergantung pada daya serap obat ke dalam agar dan kepekaan bakteri terhadap obat tersebut (Bonang *et al* 1982), jelas bahwa metode ini dipengaruhi oleh banyak faktor fisik dan kimiawi disamping interaksi antara obat dan bakteri (misalnya, sifat perbenihan dan daya difusi, ukuran molekul dan stabilitas obat) (Jawetz *et al* 1986).

### **2. Cara parit (*Ditch-plate technique*)**

Pada metode ini sampel uji agen antibakteri diletakkan pada parit yang didapat dengan cara memotong media agar dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur dan bakteri uji (maksimal 6 macam) digoreskan pada parit yang berisi agen antibakteri. Kemudian dilihat ada atau tidaknya zona hambat di sekeliling parit (Pratiwi 2008).

### **3. Cara cawan**

Metode ini di buat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan bakteri dan pada sumur tersebut diberi agen antibakteri yang akan diuji.

## **I. Media**

Media merupakan bahan-bahan yang terdiri dari zat kimia organik maupun anorganik yang telah melalui proses pengolahan tertentu dan dapat digunakan untuk menumbuhkan atau mengembangbiakan mikroba. Syarat media yang baik untuk digunakan dalam mikrobiologi adalah harus mengandung unsur-unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan atau perkembangbiakan mikroba. Media tersebut harus mempunyai tekanan osmose, tegangan permukaan, dan pH yang sesuai dengan mikroba, steril, tidak ditumbuhi mikroba lain yang tidak diinginkan, dan tidak bersifat toksik (Suriawiria 1986).

Media mempunyai tiga jenis bentuk yaitu media padat, media cair, dan media semi padat. Media padat merupakan media yang ditambahkan tepung agar-agar sebanyak 12-15 gram per 1.000 mL media. Tepung agar-agar yang ditambahkan tergantung pada jenis dan kelompok mikroba yang akan diuji. Media padat umumnya digunakan untuk bakteri, ragi, jamur, dan mikroalga. Media cair (*liquid media*) dapat digunakan untuk pembiakan organisme dalam jumlah yang besar, fermentasi, dan berbagai uji. Media tidak ditambahkan zat pematat, media cair digunakan untuk perbaikan mikroalga terutama bakteri dan ragi. Media semi padat dapat digunakan untuk menguji ada atau tidaknya motilitas dan kemampuan fermentasi. Media ini untuk pertumbuhan mikroba yang banyak memerlukan kandungan air dan hidup aerobik atau fakultatif (Suriawira 1986).

#### **J. Sterilisasi**

Peralatan maupun bahan yang akan digunakan dalam bidang mikrobiologi harus dalam keadaan steril. Keadaan steril merupakan keadaan yang bebas dari mikroba yang merusak ataupun mengganggu dalam proses pengerjaan. Sterilisasi merupakan suatu tindakan untuk membebaskan mikroba dari alat dan media. Cara sterilisasi yang umum dilakukan adalah cara sterilisasi secara fisika yaitu dengan pemanasan basah dan kering, penggunaan sinar gelombang pendek seperti sinar X, sinar  $\alpha$ , sinar gamma, dan sinar UV. Sterilisasi secara kimia dilakukan dengan cara menggunakan desinfektan, larutan alkohol, dan larutan formalin. Sterilisasi secara mekanik juga dapat dilakukan yaitu dengan cara penggunaan saringan atau filter untuk bahan yang akan mengalami perubahan atau peruraian akibat pemanasan tinggi atau tekanan tinggi (Darmadi 2008). 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 (Pratiwi 2008).

#### **K. Vancomycin**

Vankomisin merupakan antibiotik golongan glikopeptida yang digunakan untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh bakteri Gram positif (Gardete dan

Tomasz 2014). Vankomisin merupakan antibiotik ketiga yang terutama aktif terhadap bakteri Gram positif. Vankomisin biasanya diindikasikan untuk infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap metisilin (MRSA). Vankomisin tidak efektif digunakan untuk pengobatan penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri Gram negatif, karena mekanisme kerjanya yang berbeda. Mekanisme kerja dari vankomisin adalah menghambat sintesis dari dinding sel, sehingga dinding tidak terbentuk dengan sempurna dan bakteri akan lisis. Vankomisin diberikan secara intravena dengan waktu paruh sekitar 6 jam, karena antibiotik ini merupakan molekul hidrofilik yang besar dan memiliki partisi yang buruk dalam saluran pencernaan, sehingga sulit diserap di dalam usus. Efek samping dari antibiotik ini adalah reaksi hipersensitifitas, demam, gangguan pendengaran, dan nefrotoksitas pada penggunaan dengan dosis tinggi (Permenkes 2011). Penggunaan vankomisin sebagai kontrol positif dikarenakan antibiotik ini merupakan lini pertama yang digunakan untuk infeksi MRSA (Guiliano *et al* 2010). Vankomisin di Indonesia digunakan sebagai *life saving* dalam pengobatan infeksi MRSA (Kemenkes 2013).

#### **L. Landasan Teori**

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan jenis bakteri yang dapat menimbulkan infeksi dan kelainan pada kulit. Kelainan kulit yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* adalah impetigo, folikulitis, dan infeksi pada folikel rambut. Bakteri *Staphylococcus aureus* ini dapat ditemukan pada hidung, mulut, kulit, mata, jari, usus, dan hati. Anak-anak, penderita diabetes, tenaga kesehatan dan pasien penyakit kulit biasanya beresiko tinggi mengalami infeksi *Staphylococcus aureus*, hal ini disebabkan karena *Staphylococcus aureus* biasanya terjadi pada luka terbuka atau luka potong (Radji 2011).

Antibiotik di Indonesia masih sering digunakan. Penggunaan antibiotik yang terlalu sering dapat mengakibatkan resistensi patogen terhadap antibiotik. Salah satu patogen yang resisten terhadap antibiotik adalah MRSA. *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* merupakan salah satu agen penyebab infeksi

nosokomial yang utama. Bakteri MRSA berada diperingkat ke empat sebagai agen penyebab infeksi nosokomial setelah *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Enterococcus* (Howard 1993).

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki keanekaragaman tanaman obat di dunia. Bangle merupakan salah satu tanaman obat yang berasal dari familia Zingiberaceae. Tanaman bangle memiliki nama lain yaitu *Zingiber purpureum* Roxb. Artini (2013) melakukan penelitian uji fitokimia ekstrak etil asetat dari rimpang bangle (*Zingiber purpureum* Roxb) memiliki kandungan kimia yaitu, saponin, flavonoid, tanin, alkaloid, minyak atsiri dan glikosida. Penelitian yang telah dilakukan oleh Chairul *et al* (2009), bahwa kandungan senyawa yang terdapat dalam rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb) adalah curcuminoid kompleks, *Phenylbutanoids*, dan *Phenylbutenoid*.

Citradewi (2019) dalam penelitiannya rimpang bangle memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Pengujian aktivitas antibakteri digunakan pelarut etanol 96% dengan menggunakan metode maserasi, dan dengan beberapa seri konsentrasi, yaitu 25%, 50%, 75%, dan 100%. Zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 25% sebesar 14,25 mm, zona hambat pada konsentrasi 50% sebesar 16,50 mm, zona hambat pada konsentrasi 75% sebesar 17,75 mm, dan zona hambat pada konsentrasi 100% adalah 19,50 mm. Penelitian lain yang telah dilakukan oleh Buldani *et al* (2017), ekstrak rimpang bangle dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Vibrio cholerae* dan *Staphylococcus aureus*. Zona hambat terhadap bakteri *Vibrio cholerae* pada konsentrasi 25% sebesar 2,35 mm, sedangkan pada konsentrasi 50% sebesar 4,36 mm, pada konsentrasi 75% sebesar 6,09 mm dan pada konsentrasi 100% memberikan daya hambat 7,90 mm. Zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 25% sebesar 5,59 mm, pada konsentrasi 50% sebesar 6,55 mm, pada konsentrasi 75% sebesar 7,52 mm dan pada konsentrasi 100% daya hambat yang terbentuk adalah 10,60 mm.

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi dan fraksinasi cair-cair. Maserasi merupakan metode yang sederhana

dengan cara merendam serbuk simplisia ke dalam pelarut. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke rongga sel yang mengandung zat aktif. Cairan penyari yang digunakan bisa berupa air, air-etanol atau pelarut lain. Fraksinasi dilakukan dengan tujuan untuk mengambil senyawa yang lebih spesifik, sehingga diharapkan aktifitasnya lebih besar. Fraksinasi dilakukan dengan cara menggabungkan dua pelarut yang berbeda kepolarannya, sehingga senyawa yang akan diambil sesuai dengan tingkat kepolaran dari pelarut.

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96%, *n*-heksan, etil asetat, dan air. Pelarut etanol 96% dipilih karena dapat melarutkan senyawa alkaloid basa, flavonoid, steroid, damar, minyak atsiri, glikosida, kurkumin, kumarin, antrakuinon, dan klorofil (Depkes 1986). Pelarut *n*-heksan merupakan pelarut yang dapat melarutkan senyawa yang bersifat non polar seperti steroid, triterpenoid, terpenoid, karotenoid, dan asam lemak tinggi (Kristijono 2008). Etil asetat dapat melarutkan senyawa semipolar seperti, flavonoid, alkaloid, senyawa fenolik seperti fenol-fenol, fenilpropanoid, asam fenolat, antrakuinon, dan xanton (Harborne 1987). Air dapat melarutkan senyawa polar seperti, gom, pati, gula, protein, enzim, lendir, lilin, lemak, peptida, minyak atsiri, garam alkaloid, asam organik, dan zat warna (Depkes 1986).

Pengujian aktivitas antibakteri dalam penelitian ini menggunakan metode difusi. Prinsip kerja metode difusi adalah mencari fraksi teraktif berdasarkan zona hambat yang terbentuk. Keuntungan menggunakan metode difusi adalah praktis, cepat, dan dapat digunakan untuk menguji beberapa agen antimikroba dalam satu waktu terhadap suatu mikroba (Jawetz *et al* 2007).

### **M. Hipotesis**

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

1. Ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari rimpang bangle dengan konsentrasi 5%, 10%, dan 50% memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*.

2. Diameter zona hambat dari ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air rimpang bangle dalam menghambat bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* dapat ditentukan dari zona bening disekitar ekstrak dan fraksi teraktif.
3. Dari ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air rimpang bangle yang mempunyai aktivitas antibakteri yang paling efektif dalam menghambat bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* adalah ekstrak etanol.