

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA
A. Tanaman Daun Sirih

1. Sistematika Tanaman

Klasifikasi tanaman sirih merah (*piper crocatum*) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Magnoliidae
Ordo	: Piperales
Famili	: <i>Piperaceae</i>
Genus	: Piper
Spesies	: <i>Piper crocatum</i> (Depkes 2001)

2. Morfologi Tanaman

Sirih merah termasuk dalam famili *Piperaceae* yaitu tumbuhan menjalar. Batangnya bulat berwarna hijau keunguan dan tidak berbunga. Daunnya bertangkai membentuk jantung dengan bagian atas meruncing bertepi rata dan permukaan mengkilap dan tidak berbulu. Panjang daunnya bisa mencapai 15–20 cm, warna daun bagian atas hijau bercorak putih keabu-abuan, bagian bawah daun berwarna merah hati cerah, daunnya berlendir, berasa pahit, dan beraroma wangi khas sirih. Batangnya berjalur dan beruas dengan jarak buku 5–10 cm di setiap buku bakal

akar (Sudewo, 2005). Sirih merah merupakan tanaman yang tumbuh merambat dan mirip tanaman lada. Tinggi tanaman biasanya mencapai 10 m, tergantung pertumbuhan dan tempat merambatnya. Batang sirih berkayu lunak, beruas-ruas, beralur dan berwarna hijau keabu-abuan. Daun tunggal berbentuk seperti jantung hati, permukaan licin, bagian tepi rata dan pertulangannya menyirip (Syariefa, 2006).

3. Habitat Tanaman Daun Sirih Merah

Sirih merah tidak dapat tumbuh dengan subur pada daerah yang panas, tetapi dapat tumbuh subur pada daerah yang dingin, teduh, dan tidak terlalu banyak terkena sinar matahari dengan ketinggian 300–1000 m. Tanaman sirih merah sangat baik pertumbuhannya apabila mendapatkan sekitar 60–75% cahaya matahari (Sudewo, 2010).

4. Khasiat Tanaman

Pemanfaatan sirih merah di masyarakat telah dilakukan menurut pengalaman secara turun menurun. Di masyarakat, sirih merah dipakai sebagai antiseptik, untuk mengatasi diabetes, kanker, hipertensi dan penyakit hepatitis. Dalam bentuk teh herbal, sirih merah digunakan untuk mengobati asam urat, kencing manis, maag dan kelelahan (Manoi, 2007).

Adapun manfaat lain dari kandungan senyawa pada daun sirih merah yaitu euganol yang merupakan turunan dari fenol senyawa minyak atsiri bersifat antifungal dengan menghambat pertumbuhan yeast (sel tunas) dari *C. albicans* dengan cara merubah struktur dan menghambat pertumbuhan dinding sel. Ini menyebabkan gangguan fungsi dinding sel dan peningkatan permeabilitas

membran terhadap benda asing dan seterusnya menyebabkan kematian (Haviva, 2011).

5. Kandungan Kimia

Daun sirih merah memiliki kandungan kimia dengan khasiat tertentu yang disebut dengan metabolit sekunder yang menyimpan senyawa aktif seperti flavonoid, alcohol, terpenoid, cyanogenic, glucoside, isoprenoid, nonprotein amino acid, euganol. Sedangkan senyawa flavonoid dan pulegone memiliki sifat antioksidan, antidiabetik, antikanker, antiseptic dan antiinflamasi (Sudewo, 2005).

Komponen-komponen ini mampu mencegah adanya bakteri patogen dalam makanan yang diketahui sebagai pembusuk pada makanan (Jenie *et al.*, 2001). Kandungan alkaloid, flavonoid dan tanin juga telah diteliti peranannya sebagai anti bakteri (Juliantina *et al.*, 2009).

5.1. Alkaloid. Alkaloid terdiri dari chavicine, piperidine dan piperretine, methyl caffeic acid, piperidine dan β -methyl pyrroline (Williamson, 2002). Piperin berupa kristal berbentuk jarum berwarna kuning, tidak berbau, tidak berasa dan lama-lama pedas, larut dalam etanol, benzene, kloroform dengan titik lebur 125-126°C (Septiatin, 2008). Senyawa alkaloid menyebabkan sel menjadi lisis dan perubahan morfologi sel bakteri (Jouvenez, 1972).

5.2. Flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa larut dalam air yang dapat juga diekstraksi dengan etanol 70% dan tetap ada lapisan air setelah dikocok dengan eter minyak bumi. Flavonoid berupa senyawa fenol, oleh karena itu warnanya berubah jika ditambah basa atau amonia. Flavonoid umumnya terdapat dalam tumbuhan, terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon flavonoid yang merupakan bentuk kombinasi glikosida. Flavonoid ini terdapat dalam semua

tanaman berpembuluh (Harborne, 1987). Flavonoid sebagai antibakteri merupakan kelompok fenol yang mempunyai kecenderungan menghambat aktivitas enzim mikroba, pada akhirnya mengganggu proses metabolisme (Robinson, 1991).

5.3. Tanin. Tanin adalah senyawa yang bersifat fenol yang mempunyai rasa yang sepat. Tanin larut dalam air dan membentuk larutan koloid. Tanin biasanya berupa senyawa amorf berwarna coklat kuning yang larut dalam pelarut organik yang polar, tetapi tidak larut dalam pelarut organik non polar seperti benzene dan kloroform. Tanin merupakan senyawa polifenol yang diduga mempunyai mekanisme kerja dengan cara merusak permeabilitas barrier dalam mikroorganisme, sehingga bersifat antibakteri (Harborne, 1987). Tanin bekerja sebagai antibakteri dengan membentuk ikatan yang stabil dengan protein sehingga terjadi koagulasi protoplasma bakteri (Ganiswara *et al.*, 1995).

5.4. Saponin. Saponin merupakan senyawa aktif dan menimbulkan busa jika dikocok dalam air serta pada konsentrasi rendah dapat menyebabkan hemolisis sel darah merah. Saponin bersifat polar maka dapat larut dalam air dan etanol, tetapi tidak larut dalam eter (Robinson 1995). Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar (Robinson 1995).

6. Ekologi

Pertumbuhan tanaman sirih di pengaruhi oleh beberapa faktor ekologi antara lain: iklim, jenis tanah, dan tinggi tempat. Intensitas cahaya berpengaruh terhadap pertumbuhan tanaman sirih. Tanaman tersebut tidak dapat tumbuh subur di daerah panas. Tanaman sirih dapat tumbuh dengan baik di tempat yang teduh dan

mendapatkan 60-75% sinar matahari pada daerah yang beriklim sedang hingga basah.

Jika banyak terpapar sinar matahari batangnya cepat mengering dan warna daunnya menjadi pudar. Pemeliharaan dengan memodifikasi perbaikan ekologi tanaman perlu dilakukan untuk mendapatkan pertumbuhan yang optimal tanaman sirih dengan cara pemupukan, pengaturan kebutuhan air, dan penggunaan naungan (Sudewo, 2008; Prahastuti & Tambunan, 2004).

B. Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibedakan menjadi simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia mineral (Depkes 1983). Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman dan eksudat tanaman. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia mineral adalah simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Gunawan & Mulyani, 2004).

C. Ekstraksi

Ekstrak merupakan sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani dengan metode ekstraksi yang sesuai. Metode ekstraksi digunakan berdasarkan beberapa faktor seperti daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi, kepentingan dalam memperoleh ekstrak yang

sempurna dari bahan mentah. Sifat dari bahan mentah obat merupakan faktor utama yang harus dipertimbangkan dalam memilih metode ekstraksi. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus dipilih berdasarkan kemampuan dalam melarutkan jumlah yang maksimal dari zat aktif dan seminimal mungkin bagi unsur yang tidak diperlukan. Ekstraksi merupakan penarikan zat pokok dari bahan mentah dengan menggunakan pelarut yang dipilih dimana zat pokok akan larut (Depkes, 1979).

1. Infusa

Infundasi adalah proses penyarian yang umumnya untuk menyari kandungan zat aktif yang ada pada sediaan tanaman yang larut dalam air dan bahan-bahan nabati. Infus adalah hasil dari proses ekstraksi dengan menggunakan metode infundasi dengan air pada suhu 90°C selama 15 menit. Serkai selagi panas melalui kain flannel, tambahkan air panas secukupnya melalui ampas hingga di peroleh volume infus yang di kehendaki. Penyarian dengan cara ini menghasilkan sari yang tidak stabil dan mudah tercemar oleh kuman dan kapang. Jadi sari yang diperoleh dengan cara ini tidak boleh disimpan lebih dari 24 jam. Bahan baku ditambah dengan air dan dipanaskan selama 15 menit pada suhu 90°C. Umumnya untuk 100 bagian sari diperlukan 10 bagian bahan. Pada simplisia tertentu tidak diambil 10 bagian bahan. Daun sirih memiliki derajat halus simplisia sebesar serbuk (5/8) atau serbuk sangat kasar yang digunakan untuk infus (FI Edisi III).

2. Pelarut

Pelarut yang digunakan yaitu aquadest, karena merupakan penyari serbaguna yang baik untuk infusa (Harbone, 1987). Aquadest tidak menyebabkan

pembengkakan membran sel, tidak beracun, netral, absorpsi baik, panas yang diperlukan untuk penelitian rendah (Depkes, 1986).

D. Bakteri

1. *Pseudomonas aeruginosa*

Sistematika *Pseudomonas aeruginosa*

Kingdom : Bacteria

Fillum : Proteobacteria

Kelas : Gamma Proteobacteria

Ordo : Pseudomonadales

Famili : *Pseudomonadaceae*

Genus : *Pseudomonas*

Spesies : *Pseudomonas aeruginosa* (Anonim, 2010)

2. Morfologi

Pseudomonas aeruginosa merupakan batang Gram negatif berukuran 0,6 x 2µm dan terlihat sebagai bentuk tunggal, ganda dan kadang-kadang dalam rantai pendek serta bergerak dengan flagel. *Pseudomonas aeruginosa* bersifat aerob obligat yang tumbuh dengan cepat pada berbagai tipe media, kadang memproduksi bau manis, seperti anggur atau seperti jagung (corn taco like odor). Beberapa galur menghemolisis darah *Pseudomonas aeruginosa* membentuk koloni bulat, halus dengan warna fluoresen kehijauan. Juga sering memproduksi pigmen kebiruan dan fluoresen yang disebut piosianin (pyocyanin) yang larut dalam agar. Spesies *pseudomonas* lain tidak memproduksi piosianin. Beberapa galur *Pseudomonas*

aeruginosa juga menghasilkan pigmen fluoresen pioverdin yang memberi warna kehijauan pada agar. Beberapa galur menghasilkan pigmen merah gelap piorubin atau pigmen hitam piomelanin (Brooks *et al.*, 2005; Todar, 2008).

Pseudomonas aeruginosa pada biakan dapat memproduksi berbagai kelompok koloni, memberikan kesan biakan campuran beberapa spesies bakteri. *Pseudomonas aeruginosa* dari bentuk koloni berbeda mungkin juga mempunyai aktifitas biokimia dan enzimatik yang berbeda, dan memberi profil kepekaan yang berbeda terhadap antimikroba. Biakan dari pasien dengan kistik fibrosis menghasilkan *P. aeruginosa* yang membentuk koloni mukoid sebagai hasil dari kelebihan produksi alginat, sebuah eksopolisakarida (Brooks *et al.*, 2005).

Pseudomonas aeruginosa tumbuh baik pada 37-42°C, pertumbuhan pada 42°C membantu membedakannya dari spesies pseudomonas pada kelompok fluoresen, bersifat oksidase positif. Tidak meragikan karbohidrat, tetapi berbagai galur mengoksidasi glukosa. Identifikasi biasanya berdasar pada bentuk koloni, adanya pigmen yang khas. Pembedaan pada *P. aeruginosa* dari *Pseudomonas* lainnya berdasar aktifitas biokimia membutuhkan tes dengan substrat yang banyak (Brooks *et al.*, 2005).

3. Struktur Antigen dan Toksin

Pili (*fimbriae*) menonjol dari permukaan sel dan berfungsi untuk perlekatan pada sel epitel inang. Kapsul polisakarida menyebabkan bentuk mukoid dari koloni yang dipisahkan dari pasien dengan kista fibrosis. Liposakarida yang ada dalam beragam bentuk antigenik, bertanggung jawab pada sifat endotoksin organisme. *Pseudomonas aeruginosa* dapat dibedakan secara serologis dengan anti-sera

polisakarida dan dengan kepekaan terhadap piosin. Sebagian besar *Pseudomonas aeruginosa* yang dipisahkan dari infeksi klinis memproduksi enzim ekstraselular, termasuk elastase, protease, dan dua hemolisin: sebuah fosfolipase C yang tidak tahan panas dan glikolipid yang tahan panas (Brooks *et al.*, 2005). Banyak galur *Pseudomonas aeruginosa* memproduksi eksotoksin A yang menyebabkan jaringan nekrosis dan jika bentuk murni disuntikkan pada binatang bisa mematikan. Toksin memblok sintesis protein dengan sebuah mekanisme yang identik dengan toksin diftteri, meskipun struktur kedua toksin tidak identik. Antitoksin terhadap eksotoksin A ditemukan di beberapa serum manusia, termasuk pada pasien yang sembuh dari infeksi *Pseudomonas aeruginosa* (Brooks *et al.*, 2005).

4. Patogenitas

Pseudomonas aeruginosa menjadi patogenik hanya jika berada pada tempat dengan daya tahan tidak normal, misalnya di selaput lendir dan kulit yang rusak akibat kerusakan jaringan. Bakteri menempel dan menyerang selaput lendir atau kulit, menyebar dari tempat tersebut, dan berakibat penyakit sistemik. Proses ini dipercepat oleh pili, enzim, dan toksin yang dijelaskan diatas. Lipopolisakarida mempunyai peran langsung dalam menyebabkan demam, syok, oliguria, leukositosis dan leukopenia, gangguan koagulasi darah (Disseminated Intravascular Coagulation, DIC), dan gejala susah bernafas pada orang dewasa. *Pseudomonas aeruginosa* dan *Pseudomonas* lain tahan terhadap berbagai antimikroba dan karena itu menjadi dominan dan penting jika bakteri yang lebih peka dari flora normal ditekan (Brooks *et al.*, 2005).

E. Antibakteri

1. Definisi antibakteri

Antibakteri merupakan senyawa atau suatu zat yang dapat membunuh pertanaman atau menekan reproduksi bakteri. Senyawa atau zat yang digunakan untuk membasmi bakteri penyebab infeksi pada manusia harus memiliki sifat toksisitas selektif. Sifat toksisitas selektif ada yang bersifat menghambat pertanaman mikroba, dikenal sebagai aktivitas bakteriostatik, dan ada yang bersifat membunuh bakteri, dikenal sebagai aktivitas bakterisid (Ganiswara, 1995).

2. Mekanisme kerja antibakteri

Mekanisme kerja antibakteri dibagi dalam 5 kelompok yaitu dengan mekanisme sebagai berikut. Pertama, mengganggu metabolisme sel bakteri. Mikroba membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya. Bakteri patogen harus mensintesis sendiri asam folat dari asam para amino benzoat (PABA) untuk kebutuhan hidupnya. Antimikroba bila bersaing dengan PABA untuk diikutsertakan dalam pembentukan asam folat, maka terbentuk analog asam folat non fungsional sehingga kebutuhan akan asam folat tidak terpenuhi, hal ini bisa menyebabkan bakteri mati (Ganiswara, 1995).

Kedua, menghambat sintesis dinding sel bakteri. Dinding sel bakteri terdiri atas polipeptidoglikan yaitu suatu kelompok polimer mukopeptida (glikoprotein). Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk. Kerusakan dinding sel bakteri akan menyebabkan terjadinya lisis (Ganiswara, 1995).

Ketiga, mengganggu permeabilitas membran sel bakteri. Membran biologi terdiri atas lipid, protein, dan lipoprotein. Membran sel berperan sebagai pembatas (*barrier*) difusi molekul air, ion, nutrien, dan sistem transport. Agen antimikroba dapat mengakibatkan disorganisasi membran lipid ganda. Membran memelihara integritas komponen seluler. Kerusakan pada membran ini mengakibatkan terhambatnya molekul-molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alaminya. Kondisi atau substitusi yang mengubah keadaan ini mendenaturasikan protein dan asam nukleat dapat merusak sel tanpa memperbaiki kembali. Suhu tinggi dan konsentrasi pekat beberapa zat kimia dapat mengakibatkan koagulasi inversibel komponen-komponen seluler yang vital contohnya amfoteresin B, azoles, polien, polimiksin (Ganiswara, 1995).

Keempat, menghambat sintesis protein sel bakteri. Beberapa substansi yang mengikat DNA tidak satu pun dari mereka berfungsi penuh pada agen antibakteri, meskipun agen-agen saling berhubungan dalam DNA dan terjadi penghambatan oleh agen bakteri selanjutnya pada sintesis asam nukleat. Penghambatan DNA polymerase terjadi yang mana rantai polipeptida dalam RNA polymerase mengikat faktor yang memberikan spesifitas untuk menaikkan tempat-tempat dimulainya transkripsi DNA. Agen antibakteri berikatan dengan enzim polymerase-RNA sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut. Kehidupan mikroba mensintesis berbagai protein. Sintesis protein berlangsung di ribosom dengan bantuan mRNA dan tRNA. Enzim dari beratus-ratus enzim yang berada di dalam sel merupakan sasaran potensial bagi kerjanya suatu penghambat. Agen-agen antibakteri bertindak menghambat fungsi ribosom. Ribosom bakteri mengandung

dua sub unit yaitu sub unit 50S dan 30S, dan ini memungkinkan untuk tempat aksi antibiotik untuk satu sub unit atau keduanya, memungkinkan untuk mengisolasi protein spesifik ribosom dan untuk melakukan perlawanan terhadap agen tertentu. Perlawanan ini dilakukan dengan mengisolasi bakteri mutan yang tidak memiliki protein ribosomal (Ganiswara, 1995).

Kelima, menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri. Agen antimikroba dapat mengganggu sintesis asam nukleat pada tingkat yang berbeda. Agen antimikroba dapat menghambat sintesis asam nukleat dan dapat mencegah DNA dari fungsinya dengan mengganggu polymerase yaitu suatu enzim yang mengkatalisis proses sintesis DNA yang terlibat dalam replikasi dan transkripsi DNA. Protein, DNA, dan RNA memegang peranan penting dalam kehidupan normal sel. Gangguan apapun dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel contohnya aminoglikosida, tetrasiklin, kloramfenikol, linkomisin (Ganiswara, 1995).

F. Uji Aktivitas Antibakteri

Antibakteri merupakan bahan atau senyawa yang khusus digunakan untuk kelompok bakteri. Aktivitas antibakteri dibagi menjadi dua macam yaitu aktivitas bakteristatik (menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh patogen) dan aktivitas bakterisidal (dapat membunuh patogen dalam kisaran luas) (Brooks *et al.*, 2005). Metode yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri yaitu dilusi dan difusi, prinsip metode dilusi adalah senyawa antibakteri diencerkan hingga diperoleh beberapa macam konsentrasi, kemudian masing-masing konsentrasi ditambahkan

suspensi bakteri uji dalam media cair. Perlakuan tersebut akan diinkubasi dan diamati ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri, yang ditandai dengan terjadinya kekeruhan. Larutan uji senyawa antibakteri pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan bakteri uji, ditetapkan sebagai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan bakteri uji ataupun senyawa antibakteri, dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) (Pratiwi, 2008).

Keuntungan metode dilusi yaitu memungkinkan adanya hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah obat tertentu yang diperlukan untuk menghambat atau membunuh mikroorganisme yang diuji (Jawetz *et al.*, 2008). Prinsip metode difusi adalah menggunakan zona hambatan pertumbuhan bakteri yang terjadi akibat difusi zat yang bersifat sebagai antibakteri di dalam media padat melalui pencadang. Daerah hambatan pertumbuhan bakteri adalah daerah jernih disekitar cakram. Luas daerah berbanding lurus dengan aktivitas bakteri, semakin kuat daya aktivitas antibakteri maka semakin luas daerah hambatnya (Anonimc, 2011)

G. Sterilisasi

Sterilisasi adalah suatu usaha untuk membebaskan alat dan bahan dari segala macam kehidupan terutama kehidupan mikroorganisme. Pemeriksaan untuk menentukan mikroorganisme penyebab infeksi adalah suatu proses mengidentifikasi mikroorganisme tersebut sampai tingkat spesies yang didasarkan

atas pengenalan sifat-sifat biakan murni dari spesies tersebut, untuk mendapatkan biakan murni serta mengetahui sifat biokimia masing-masing spesies diperlukan alat, bahan, dan media yang steril.

Praktik sterilisasi alat dan bahan serta media dilakukan dengan banyak cara yaitu secara fisika, kimia dan secara mekanik. Cara sterilisasi yang dipakai tergantung pada macam dan sifat alat atau bahan yang akan disterilkan. Pelaksanaan sterilisasi alat tidak dapat dipisahkan dengan tahap-tahap sebelumnya yaitu pencucian dan pembungkusan (Depkes, 2000).

H. Media

Pembiakan adalah proses memperbanyak mikroorganisme pada suatu media, yaitu suatu bahan yang terdiri atas campuran nutrien/zat makanan yang dipakai untuk menambahkan mikroorganisme. Mikroorganisme ditambahkan pertama harus dipahami kebutuhan dasarnya, kemudian dicari suatu media yang memberikan hasil yang terbaik. Susunan dan kadar nutrien dalam suatu media harus seimbang agar pertumbuhan mikroba dapat sebaik mungkin. Hal ini perlu dikemukakan mengingat banyak senyawa-senyawa yang menjadi penghambat atau menjadi racun bagi mikroba kalau kadarnya terlalu tinggi (Depkes RI, 1991).

Media adalah substrat yang diperlukan untuk menumbuhkan dan mengembangbiakkan mikroba. Media harus dalam keadaan steril sebelum dipergunakan untuk suatu penelitian, artinya tidak ditumbuhi oleh mikroba lain yang tidak diharapkan. Media diperlukan persyaratan tertentu, yaitu media harus mengandung semua unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan dan

perkembangan mikroba. Media harus mempunyai tekanan osmosa, tegangan permukaan dan pH yang sesuai dengan kebutuhan mikroba. Media harus dalam keadaan steril artinya sebelum ditanami mikroba yang dimaksud, tidak ditumbuhi oleh mikroba lain yang tidak diharapkan (Suriawiria, 1986).

Medium dapat dibedakan menurut konsistensinya menjadi medium cair, medium padat, dan medium setengah padat. Pertama, medium cair seperti kaldu nutrient atau kaldu glukosa dapat digunakan untuk berbagai keperluan seperti perbiakan organisme dalam jumlah besar, penelaahan fermentasi dan berbagai macam uji. Kedua, medium padat, dapat ditambahkan bahan pematat ke dalam medium kaldu. Medium padat biasanya digunakan untuk mengamati penampilan atau morfologi koloni dan mengisolasi biakan murni. Ketiga, medium setengah padat, digunakan untuk menguji ada tidaknya dan kemampuan fermentasi. Medium setengah padat mengandung gelatin ataupun agar-agar namun konsentrasi lebih kecil daripada medium padat (Hadioetomo, 1985).

I. Metode Dilusi

Metode dilusi digunakan untuk mengukur *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) atau Konsentrasi Hambat minimum (KHM) dan *Minimum Bacterial Concentration* (MBC) atau Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri tabung yang telah disiapkan dengan media dimana memiliki variasi konsentrasi dari agen antimikroba yang telah ditambahkan (CLSI, 2008).

Zat bakteri dan antijamur dengan konsentrasi berbeda-beda dimasukkan dalam media cair kemudian media tersebut diinokulasi dan diinkubasi selama 18-24 jam. Tujuan metode ini adalah menentukan konsentrasi terkecil suatu zat antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroba uji. Dilusi memiliki kelemahan yaitu membutuhkan waktu yang lama dan penggunaannya dibatasi dan keuntungan metode ini adalah memberikan hasil kualitatif yang menunjukkan jumlah mikroba yang dibutuhkan untuk mematikan mikroba (Jawetz *et al.*, 2001)

J. Metode Difusi

Pengukuran potensi antibakteri menggunakan metode difusi yaitu metode yang digunakan untuk mengukur aktivitas antibakteri berdasarkan pengamatan luas daerah hambatan pertumbuhan bakteri uji karena berdifusinya obat dari titik awal pemberian ke daerah difusi (Jawetz dkk, 1996). Metode difusi digunakan untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Piringan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih pada permukaan media agar mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba (Pratiwi, 2008). Metode difusi dikenal dengan beberapa cara yaitu :

1. Cara Kirby Bauer

Metode difusi disk (tes Kirby Bauer) dilakukan untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Piringan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar

tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media agar (Pratiwi, 2008). Keunggulan uji difusi cakram agar mencakup fleksibilitas yang lebih besar dalam memilih obat yang akan diperiksa (Sacher & McPherson, 2004).

2. Cara sumuran

Metode ini serupa dengan metode difusi disk, di mana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antimikroba yang akan diuji (Pratiwi, 2008).

K. Landasan Teori

Dalam bidang kesehatan, infeksi merupakan penyebab utama penyakit dunia terutama di daerah tropis yang disebabkan oleh berbagai mikroorganisme. *Pseudomonas aeruginosa* merupakan contoh bakteri yang dapat menyebabkan infeksi dan merupakan golongan bakteri Gram negatif berbentuk batang, motil dan berukuran 0.6 x 2 mm. *Pseudomonas aeruginosa* juga banyak ditemukan di rumah sakit dan berkaitan dengan infeksi nosokomial pada pasien di rumah sakit dengan bertindak sebagai patogen oportunistik. Meningkatnya kasus penyakit infeksi *Pseudomonas aeruginosa* dikarenakan adanya penurunan keefektifan pengobatan, hal tersebut disebabkan *Pseudomonas aeruginosa* secara alamiah telah resisten terhadap berbagai jenis antibiotik. *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan resistensi yang tinggi untuk fluoroquinolon, dengan resistensi terhadap siprofloksacin dan levofloksacin mulai dari 20%-35% (Yohanes *et al.*, 2015).

Mengingat potensi alam indonesia yang begitu melimpah, salah satu bahan alami yang dapat digunakan atau dimanfaatkan untuk obat menangani infeksi

diantaranya adalah daun sirih merah (*Piper crocatum*). Menurut penelitian (Widaningrum, 2008) infusa daun sirih merah mempunyai daya antifungi terhadap *Candida albicans*. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri infusa daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa*.

Aktivitas antibakteri infusa daun sirih merah (*Piper crocatum*) memiliki kandungan kimia senyawa fitokimia yaitu alkaloid, saponin, tannin dan flavonoid (Hidayat, 2013). Flavonoid pada daun sirih merah memiliki sifat antioksidan, senyawa fenol yang bersifat sebagai koagulator protein antidiabetik, antifungi, antikanker, antioksidan, antiseptic, antihepatotostik, antihiperglikemi, antiinflamasi (Amalia *et al.*, 2002).

Metode pengujian pada penelitian ini menggunakan metode difusi dan dilusi. Metode difusi digunakan untuk menentukan diameter zona hambatan. Metode difusi merupakan uji aktivitas dengan menggunakan lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji dibuat suatu lubang yang selanjutnya diisi dengan zat antimikroba uji. Setiap lubang diisi dengan zat uji, kemudian diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan mikroba uji, dilakukan pengamatan dengan melihat ada atau tidaknya zona hambatan di sekeliling lubang (Bonang G, 1992)

Metode dilusi digunakan untuk mengukur *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) atau Konsentrasi Hambat minimum (KHM) dan *Minimum Bacterial Concentration* (MBC) atau Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri tabung yang telah disiapkan dengan media dimana memiliki variasi konsentrasi dari agen antimikroba yang telah ditambahkan (CLSI, 2008).

L. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori yang ada, dapat disusun hipotesis dalam penelitian ini, yaitu :

1. Infusa daun sirih merah (*piper crocatum*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
2. Infusa daun sirih merah (*piper crocatum*) memiliki nilai KHM dan KBM dengan konsentrasi tertentu.