

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Kari

1. Nama lain

Tanaman kari memiliki nama latin *Murraya koenigii* (L.) Spreng dikenal dengan beberapa nama yaitu kari atau salam koja (Indonesia), curry leaves (Inggris), hoja (Spanyol), kerriebladeren (Belanda), curryblatter (Jerman), fogli de cari (Italia) (Gahlawat *et al.* 2014).

2. Sistematika tanaman

Menurut Nishan *et al.* (2014) tanaman kari mempunyai sistematika sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Division	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Subclass	: Rosidae
Order	: Sapindales
Family	: Rutaceae
Genus	: <i>Murraya</i>
Species	: <i>Murraya koenigii</i> (L.) Spreng.



Gambar 1. Tanaman kari (Komal *et al.* 2018)

3. Morfologi tanaman

Tanaman kari (*Murraya koenigii* (L.) Spreng) termasuk dalam golongan familia Rutaceae merupakan semak daun atau pohon kecil dengan tinggi 0,9 hingga 6 m. Tanaman ini memiliki batang pendek dengan diameter 15-40 cm, kulit halus keabu-abuan atau coklat dan memiliki mahkota teduh padat. Batang utama berwarna hijau gelap sampai kecoklatan. Daun majemuk dengan panjang 15-30 cm masing-masing berisi 11-25 lembar daun. Panjang daun 2,5-3,5 cm bentuk bulat telur lanset dengan dasar miring. Tepi daun bergerigi tidak teratur dengan panjang tangkai daun 2-3 mm.

Bunga biseksual, putih, berbentuk corong, beraroma manis, berliku-liku dan teratur dengan diameter rata-rata bunga yang sepenuhnya terbuka adalah 1,12 cm. Kelopak bunga berjumlah 5 dengan kelenjar putus-putus yang bebas dan berwarna keputihan. Buah-buahan muncul dalam beberapa kelompok yang berdekatan berwarna hijau bayam ketika masih muda dan ungu setelah matang (Gahlawat *et al.* 2014). Tanaman kari memiliki aroma yang sangat khas dan rasa sedikit pahit, bentuknya oval dengan ujung runcing. Tanaman ini dapat tumbuh subur dalam iklim tropis dan berkembang biak melalui biji benih dan turunannya tumbuh melalui akarnya (Azis *et al.* 2014).

4. Distribusi

Tanaman kari (*Murraya koenigii* (L.) Spreng) adalah salah satu spesies *Murraya* yang ditemukan di Aceh. Tanaman ini biasanya dibudidayakan sebagai daun aromatik dan digunakan untuk penyedap alami dalam kari. Berasal dari Tarai wilayah Utara Pradesh, India, saat ini tanaman kari banyak ditemukan diseluruh bagian India, daun ini juga dibudidayakan di India Selatan, Sri Lanka, China, Australia, pulau-pulau pasifik, hingga Asia Tenggara. Tanaman ini menyebar ke Indonesia, Afrika Selatan dan pulau Reunion oleh imigran Asia Selatan (Azis *et al.* 2014).

5. Khasiat tanaman

Tanaman kari memiliki banyak kegunaan. Secara tradisional, bagian daunnya digunakan sebagai bumbu penyedap makanan. Pada obat tradisional

digunakan sebagai obat pencahar, penurun panas, antiinflamasi, antidiare, antiemetik (Gahlawat *et al.* 2014).

6. Kandungan kimia

6.1. Alkaloid. Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang banyak terdapat di alam. Hampir seluruh alkaloid berasal dari tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Ciri khas alkaloid adalah terdapat gugus basa yang mengandung paling sedikit satu atom N yang akan bereaksi dengan asam amino yang menyusun dinding sel bakteri dan DNA bakteri sehingga mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Kurniawan dan Aryana 2015). Pada umumnya, alkaloid basa larut dalam pelarut organik relatif nonpolar dan susah larut dalam air (Endarini 2016).

6.2. Flavonoid. Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan didalam jaringan tumbuhan. Flavonoid termasuk golongan fenolik dengan struktur kimia $C_6-C_3-C_6$, artinya kerangka karbonnya terdiri dari dua gugus C_6 (cincin benzen tersubstitusi) disambung oleh rantai alifatik tiga karbon (Redha 2010). Mekanisme kerja dari flavonoid yaitu flavonoid mengandung senyawa fenol yang memiliki kemampuan untuk mendenaturasi protein dan merusak dinding sel bakteri (Kuriawan dan Aryana 2015). Flavonoid juga menunjukkan penghambatan aktivitas terhadap berbagai jenis enzim laktamase yang dihasilkan oleh bakteri yang merupakan enzim kunci yang menonaktifkan aktivitas antibiotik (Xie *et al.* 2015).

6.3. Saponin. Saponin adalah senyawa aktif dengan permukaan yang kuat dan menimbulkan busa jika dikocok dalam air (Kurniawan dan Aryana 2015). Saponin dapat menekan pertumbuhan bakteri, karena senyawa tersebut dapat menurunkan tegangan permukaan dinding sel dan apabila berinteraksi dengan dinding sel bakteri maka dinding sel tersebut akan lisis. Senyawa saponin akan mengganggu tegangan permukaan dinding sel, maka pada saat tegangan permukaan terganggu zat antibakteri masuk dengan mudah ke dalam sel dan akan

mengganggu metabolisme hingga akhirnya terjadi kematian bakteri (Karlina *et al.* 2013).

6.4. Tanin. Tanin merupakan senyawa polifenol yang terdapat luas dalam tumbuhan berpembuluh dan dalam angiospermae terdapat khusus dalam jaringan kayu, sebagian besar tumbuhan yang banyak bertanin dihindari oleh hewan pemakan tanaman karena rasanya yang sepat. Tanin memiliki mekanisme kerja dengan target pada dinding polipeptida dinding sel bakteri sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna dan kemudian sel bakteri akan mati. Tanin juga memiliki kemampuan untuk menginaktifkan enzim bakteri serta mengganggu jalannya protein pada lapisan dalam sel (Sapara *et al.* 2016). Tanin juga menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak terbentuk (Nuria *et al.* 2009).

6.5. Steroid. Steroid adalah suatu golongan senyawa triterpenoid yang mengandung siklopentana perhidrofenantren yaitu dari tiga cincin sikloheksana dan sebuah cincin siklopentana. Steroid memiliki mekanisme kerja dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang bersifat permeabel terhadap senyawa-senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membran menurun serta morfologi membran sel berubah menyebabkan sel rapuh dan lisis (Sapara *et al.* 2016).

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan, kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan tidak lebih dari 60°C (Kemenkes RI 2013). Simplisia dibagi menjadi 3 macam yaitu, simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia mineral. Simplisia nabati adalah simplisia berupa tanaman utuh, bagian tanaman, atau eksudat tanaman dengan tingkat kehalusan tertentu. Simplisia hewani adalah simplisia berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat yang dihasilkan hewan yang masih berupa zat kimia. Simplisia pelikan (mineral) adalah simplisia yang berupa bahan pelikan (mineral) yang belum diolah atau telah diolah dengan cara

sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Kemenkes RI 2015). Simplisia harus memenuhi persyaratan minimal untuk menjamin keseragaman senyawa aktif, kemampuan maupun kegunaannya. Faktor yang mempengaruhi yaitu bahan baku simplisia, proses pembuatan simplisia termasuk cara penyimpanan bahan baku simplisia dan cara pengepakan (Kemenkes RI 2015).

2. Pengumpulan bahan

Pengumpulan bahan baku merupakan tahapan penting dalam menentukan kualitas bahan baku yang akan digunakan. Faktor yang berperan penting dalam tahap ini adalah waktu panen. Waktu yang tepat untuk panen disesuaikan dengan: kadar kandungan senyawa aktif, bagian tanaman yang akan dipanen, kondisi iklim untuk menghindari pengeringan, fermentasi, pertumbuhan jamur, pembusukan bahan dan jumlah biomasa. Waktu panen yang tepat adalah ketika bagian tanaman yang akan digunakan mengandung senyawa aktif dalam jumlah yang maksimal (Kemenkes RI 2015).

3. Sortasi basah

Sortasi basah merupakan suatu proses yang berguna untuk memisahkan simplisia dari kotoran atau bahan asing serta bagian tanaman lain yang tidak diinginkan yang umumnya bersifat merugikan. Kotoran yang dimaksud dapat berupa tanah, kerikil, rumput/gulma, tanaman lain yang mirip, bahan yang telah busuk/rusak, serta bagian tanaman lain yang memang harus dipisahkan dan dibuang. Simplisia nabati harus bebas dari fragmen hewan atau kotoran hewan, tidak boleh menyimpang bau dan warnanya, dan tidak boleh mengandung bahan lain yang beracun atau berbahaya (Kemenkes RI 2015).

4. Pencucian

Pencucian dilakukan untuk menghilangkan tanah dan kotoran lain yang melekat pada bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan menggunakan air bersih (standar air minum) misalnya pada air sumber, air sumur atau air PAM. Pencucian dilakukan dengan air mengalir agar kotoran yang terlepas tidak menempel kembali. Pencucian bahan simplisia dalam jumlah besar dapat lebih efektif bila dilakukan dalam bak bertingkat yang menerapkan konsep air mengalir (Kemenkes RI 2015). Pencucian bahan simplisia dapat menghilangkan mikroba

25% dari jumlah awal, jika dilakukan pencucian sebanyak tiga kali, jumlah mikroba yang tertinggal hanya 42% dari jumlah mikroba awal (Prasetyo & Inorah 2013).

5. Penirisan

Penirisan merupakan suatu proses untuk mengurangi atau menghilangkan kandungan air di permukaan bahan dan dilakukan sesegara mungkin sehabis pencucian. Selama proses penirisan bahan dibolak-balik untuk mempercepat penguapan, dilakukan di tempat teduh dengan aliran udara cukup agar terhindar dari fermentasi dan pembusukan. Setelah air yang menempel di permukaan bahan menetes atau menguap, bahan simplisia dikeringkan dengan cara yang sesuai (Kemenkes RI 2015).

6. Pengeringan

Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air agar bahan simplisia tidak rusak dan dapat disimpan, menghentikan reaksi enzimatik dan mencegah pertumbuhan kapang, jamur dan jasad renik lain. Pengeringan terdiri dua macam, yakni pengeringan secara alamiah (dengan sinar matahari dan dikering anginkan) dan pengeringan buatan (menggunakan oven, uap panas atau alat pengering lain). Bahan simplisia pada umumnya dapat dikeringkan pada suhu $\leq 60^{\circ}\text{C}$. Bahan simplisia yang mengandung senyawa aktif mudah menguap (volatil), tidak tahan panas (termolabil) sebaiknya dikeringkan pada suhu rendah, yaitu antara 30°C - 50°C selama waktu tertentu. Pengeringan ini berlangsung hingga diperoleh kadar air $\leq 10\%$ (Kemenkes RI 2015).

7. Sortasi kering

Sortasi kering sama dengan sortasi basah, tetapi dilakukan terhadap simplisia (bahan yang telah dikeringkan) yang bertujuan untuk memisahkan bahan-bahan asing dan simplisia yang belum kering seutuhnya. Kegiatan sortasi kering dilakukan untuk menjamin simplisia benar-benar bebas dari bahan asing. Kegiatan ini dilakukan secara manual, simplisia yang telah bersih dari bahan asing untuk tujuan tertentu (misalnya untuk memenuhi standar mutu) maka perlu dilakukan grading atau pemisahan menurut ukuran sehingga diperoleh simplisia dengan ukuran seragam (Kemenkes RI 2015).

8. Pengemasan

Pengemasan bertujuan untuk melindungi (proteksi) simplisia saat pengangkutan, distribusi dan penyimpanan dari gangguan luar seperti suhu, kelembaban, cahaya, pencemaran mikroba serta gangguan berbagai jenis serangga. Bahan pengemas harus kedap air dan udara serta dapat melindungi isinya terhadap berbagai gangguan dari luar. Untuk jenis simplisia tertentu bisa dikemas dengan kain katun atau karung yang terbuat dari plastik, jerami atau goni (Kemenkes RI 2015).

9. Penyimpanan

Penyimpanan merupakan upaya untuk mempertahankan kualitas fisik dan kestabilan kandungan senyawa aktif sehingga tetap memenuhi persyaratan mutu yang ditetapkan. Selama dalam penyimpanan, simplisia dapat rusak dan turun kualitasnya karena beberapa faktor internal dan eksternal antara lain: cahaya atau sinar dengan panjang gelombang tertentu, oksidasi, kontaminasi, serangga dan kapang (Kemenkes RI 2015).

10. Cara pembuatan

Pembuatan serbuk simplisia merupakan proses awal pembuatan ekstrak. Serbuk simplisia dibuat dari simplisia utuh atau potongan-potongan halus simplisia yang sudah dikeringkan melalui proses pembuatan serbuk dengan suatu alat tanpa menyebabkan kerusakan atau kehilangan kandungan kimia yang dibutuhkan dan diayak hingga diperoleh serbuk dengan derajat kehalusan tertentu. Derajat kehalusan serbuk simplisia terdiri dari serbuk sangat kasar, kasar, agak kasar, halus dan sangat halus (Depkes RI 2008).

C. Metode Penyarian

1. Pengertian ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok, di luar pengaruh cahaya matahari langsung (Kemenkes RI 2013). Berdasarkan konsentrasinya ekstrak dibagi menjadi tiga, yaitu ekstrak cair, kental dan kering. Ekstrak cair merupakan

sediaan cair hasil dari penyarian simplisia. Ekstrak kental merupakan sediaan kental yang dibuat dari simplisia kemudian diuapkan pelarutnya. Ekstrak kering merupakan sediaan berbentuk bubuk yang dibuat dari hasil tarikan simplisia yang diuapkan menggunakan pelarut sampai kering (Voight 1994).

Ekstraksi adalah metode pemisahan komponen dari suatu campuran menggunakan suatu pelarut yang bertujuan untuk menarik zat aktif dalam sampel. Pelarut yang digunakan didasarkan pada kemampuan melarutkan zat aktif dalam jumlah yang maksimum, sehingga terbentuklah ekstrak (hasil ekstraksi yang mengandung berbagai komponen kimia). Prinsip ekstraksi didasarkan pada distribusi zat terlarut dengan perbandingan tertentu antara dua pelarut yang tidak saling bercampur (Susanty & Bachmid 2016).

Pemilihan metode ekstraksi bergantung pada bagian tanaman yang akan diekstraksi dan bahan aktif yang diinginkan menurut cara yang sesuai, yaitu maserasi, soxhletasi, perkolasi atau penyeduhan dengan air mendidih. Metode ekstraksi yang ideal adalah metode ekstraksi yang mampu mengekstraksi bahan aktif yang diinginkan sebanyak mungkin, cepat, mudah dilakukan, murah, ramah lingkungan, dan hasil yang diperoleh konsisten jika dilakukan berulang-ulang (Endarini 2016).

2. Metode maserasi

Maserasi merupakan suatu metode ekstraksi simplisia dengan cara dingin (tanpa pemanasan) yang dilakukan menggunakan pelarut, disertai dengan beberapa kali pengadukan atau pengocokan pada suhu ruangan (kamar). Maserasi bertujuan untuk menarik zat-zat berkhasiat yang tahan pemanasan (Depkes 2000). Maserasi kecuali dinyatakan lain dalam monografi, digunakan etanol 70%. Maserasi dilakukan dengan cara 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok dimasukkan ke dalam bejana, kemudian dituangi dengan 75 bagian cairan penyari, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya, sambil berulang-ulang diaduk. Setelah 5 hari sari diserakai, ampas diperas. Ampas ditambah cairan penyari secukupnya, diaduk dan diserakai, sehingga diperoleh seluruh sari sebanyak 100 bagian. Bejana ditutup, dibiarkan ditempat sejuk, terlindung dari cahaya, selama 2 hari, lalu endapan dipisahkan (Depkes 1986).

Keuntungan metode maserasi adalah bagian tanaman yang akan di ekstraksi tidak harus dalam bentuk serbuk, tidak diperlukan keahlian khusus, dan lebih sedikit kehilangan pelarut. Kerugiannya adalah perlunya dilakukan penggojokan/pengadukan, terjadinya residu pelarut diampas karena penyarian kurang sempurna akibat kejenuhan cairan penyari, membutuhkan waktu yang lama serta mutu produk akhir yang tidak konsisten (Endarini 2016).

3. Metode fraksinasi

Fraksinasi adalah suatu cara pemisahan golongan utama kandungan yang satu dari golongan yang lain berdasarkan perbedaan kepolaran suatu senyawa. Pertama ekstrak kental difraksinasi berturut-turut dengan larutan penyari yang berbeda-beda polaritasnya. Masing-masing pelarut secara selektif akan memisahkan kelompok kandungan kimia tersebut, mula-mula disari dengan pelarut nonpolar lalu disari dengan pelarut semi polar kemudian dilanjutkan disari dengan pelarut polar (Harbourne 1987).

Fraksinasi yang digunakan adalah dengan cara ekstraksi cair-cair yang bersifat sederhana, bersih, cepat dan mudah. Ekstraksi cair-cair adalah suatu teknik bila suatu larutan dibuat bersentuhan dengan suatu pelarut kedua (biasanya organik), yang pada hakikatnya tidak tercampurkan dengan pelarut pertama dan menimbulkan perpindahan satu atau lebih zat terlarut ke dalam pelarut yang kedua. Pemisahan dilakukan dengan cara digojok dalam sebuah corong pemisah selama beberapa menit.

4. Larutan penyari

Pemilihan larutan penyari yang baik harus memiliki kriteria yaitu murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, selektif yakni hanya menarik zat aktif yang dikehendaki, tidak mempengaruhi zat berkhasiat (Depkes 1986).

Penyarian ekstrak daun kari dalam penelitian ini menggunakan metode fraksinasi dengan *n*-heksana, etil asetat, dan air. Penggunaan pelarut yang berbeda polaritasnya disebabkan kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam daun kari mempunyai polaritas yang berbeda-beda sehingga dengan dilakukan fraksinasi akan diketahui fraksi yang paling efektif terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

4.1. Etanol. Etanol merupakan senyawa organik dengan rumus kimia C_2H_5OH . Pelarut yang bersifat volatil, tidak berwarna dan merupakan pelarut organik yang tidak bersifat racun bagi tubuh. Pelarut ini sering digunakan untuk ekstraksi berbagai senyawa dalam tanaman karena lebih ramah lingkungan dibandingkan metanol (Basito 2011). Etanol dipertimbangkan sebagai penyari karena lebih selektif daripada air, diabsorpsi dengan baik, dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, memperbaiki stabilitas bahan aktif, dan tidak memerlukan suhu tinggi untuk pemekatan (Pratiwi 2014).

4.2. *n*-Heksana. *n*-heksana merupakan pelarut senyawa hidrokarbon alkana dengan rumus kimia C_6H_{14} . Senyawa ini merupakan pelarut nonpolar berupa cairan yang jernih, tidak berwarna, dapat bercampur dengan etanol, mudah menguap, mudah terbakar dan mempunyai bau seperti eter lemah atau bau seperti petroleum, praktis tidak larut dalam air, larut dalam etanol. Senyawa yang dapat larut dalam pelarut *n*-heksana yaitu senyawa yang bersifat nonpolar seperti lemak dan asam lemak tinggi, steroid, terpenoid, triterpenoid, dan karatenoid (Harborne 1987).

4.3. Etil asetat. Etil asetat merupakan pelarut semi polar dengan rumus kimia $CH_3CH_2OC(O)CH_3$, mudah terbakar dan menguap, maka disimpan dalam wadah tertutup rapat dan terhindar dari panas. Etil asetat merupakan suatu cairan jernih, tidak berwarna, bau khas seperti buah, larut dalam 15 bagian air, dapat bercampur dengan eter, etanol dan kloroform. Senyawa yang dapat larut dalam pelarut ini adalah golongan alkaloid, flavonoid, saponin dan polifenol (Harborne 1987).

4.4. Air. Air adalah pelarut universal bersifat polar dengan rumus kimia H_2O , digunakan untuk ekstrak tanaman dengan produk aktivitas antimikroba. Air digunakan sebagai penyari karena murah, mudah diperoleh, stabil, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, tidak beracun dan alamiah. Air melarutkan, glikosida, flavonoid, tanin, gula, gom, pati, protein, enzim, lilin, pektin, zat warna dan asam organik. Penggunaan air sebagai cairan penyari kurang menguntungkan karena zat ikut tersari sehingga zat lain yang tidak diperlukan mengganggu proses penyarian (Tiwari *et al.* 2011).

D. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan salah satu metode pemisahan komponen menggunakan fase diam berupa lapisan yang seragam (uniform) pada permukaan bidang datar yang didukung oleh lempeng kaca, pelat alumunium atau pelat plastik. KLT dilakukan beberapa kali menggunakan beberapa eluen dengan tingkat kepolaran yang berbeda untuk mendapatkan pelarut yang mampu memberikan pemisahan yang baik serta noda zat warna yang bagus. Bercak pada pelat KLT dimonitor dibawah lampu UV 254 nm dan UV 365 nm. Penentuan golongan senyawa pada uji KLT dilakukan dengan penyemprotan plat KLT dengan beberapa pereaksi (Alen *et al.* 2017).

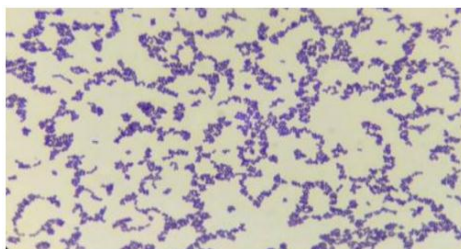
Prinsip KLT yaitu perpindahan analit pada fase diam karena pengaruh fase gerak. Proses ini disebut elusi. Semakin kecil ukuran rata-rata partikel fase diam dan semakin sempit kisaran ukuran fase diam, maka semakin baik kinerja KLT dalam hal efisiensi dan resolusinya. Fase gerak yang dikenal sebagai pelarut pengembang akan bergerak sepanjang fase diam karena pengaruh kapiler pada pengembangan secara menaik (*ascending*), atau karena pengaruh gravitasi pada pengembangan secara menurun (*descending*). Kromatografi lapis tipis dalam pelaksanaannya lebih mudah, murah dan sederhana dibandingkan dengan kromatografi kolom (Zaki 2013).

E. *Staphylococcus aureus*

1. Sistematika *Staphylococcus aureus*

Menurut Jawetz *et al.* (2005) sistematika ilmiah dari *Staphylococcus aureus* sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Protophyta
Classis	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Familia	: Micrococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>



Gambar 2. Bakteri *Staphylococcus aureus* (Riski *et al.* 2017)

2. Morfologi bakteri

Staphylococcus aureus adalah bakteri Gram positif, berbentuk bulat tersusun dalam kelompok ireguler seperti anggur yang memiliki diameter 0,5-1,0 μm , merupakan bakteri aerob dan anaerob fakultatif, tidak bergerak dan tidak membentuk spora. Bakteri Gram positif berwarna ungu disebabkan kompleks zat warna kristal violet-yodium tetap dipertahankan meskipun diberi larutan pemucat (Karimela 2017).

Staphylococcus aureus dapat tumbuh paling cepat pada suhu 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu (20-25°C). *S. aureus* membentuk koloni berwarna abu-abu hingga kuning emas pekat (Brooks *et al.* 2010). *S. aureus* bersifat katalase positif dan merupakan patogen utama pada manusia dan dapat hidup sebagai flora normal pada kulit dan selaput mukosa manusia. Bakteri ini mengandung polisakarida dan protein yang bersifat antigenik dan merupakan substansi penting di dalam struktur dinding sel (Jawetz *et al.* 2010).

Staphylococcus aureus merupakan bakteri patogen yang bersifat invasif dapat menginvasi jaringan atau organ tubuh manusia sehingga menyebabkan infeksi jaringan yang terdeteksi dengan ciri-ciri khas yaitu supurasi fokal (abses) (Jawetz *et al.* 2010).

3. Patogenesis

Staphylococcus aureus menyebabkan berbagai jenis infeksi pada manusia, antara lain infeksi pada kulit, seperti bisul dan furunkulosis, infeksi yang lebih serius, seperti pneumonia dan nosokomial, dan terdapat di hidung 20-50%. *S. aureus* memproduksi koagulase yang mengkatalisis perubahan fibrinogen menjadi fibrin dan dapat membantu organisme ini untuk membentuk barisan pelindung. Bakteri ini juga memiliki reseptor terhadap permukaan sel pejamu dan protein

matriks (misalnya fibronektin, kolagen) yang membantu organisme ini untuk melekat. Bakteri ini memproduksi enzim litik ekstraselular (misalnya lipase), yang memecah jaringan pejamu dan membantu invasi. Beberapa strain memproduksi eksotoksin poten, yang menyebabkan sindrom syok toksik. Enterotoksin juga dapat diproduksi, yang menyebabkan diare (Gillespie dan Bamford, 2009).

4. Pengobatan

Pengobatan terhadap infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan berbagai jenis antibiotik seperti penisilin, tetrasiklin dan vankomisin. Jika penderita alergi terhadap penisilin, maka digunakan eritromisin. Uji sensitivitas antibiotik diperlukan untuk memilih antibiotik yang tepat untuk mengatasi infeksi. Antibiotik yang biasa digunakan dalam penelitian adalah tetrasiklin, gentamisin, eritromisin, kloramfenikol dan trimetoprim-sulfametoksazol (Endang & Severin 2009).

E. Antibakteri

1. Definisi antibakteri

Antibakteri adalah suatu zat atau senyawa yang dapat menekan atau membunuh pertumbuhan atau produksi bakteri yang bersifat patogen pada manusia. Antibakteri berdasarkan toksisitas selektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) dan membunuh bakteri (bakteriosid) (Radji 2010). Konsentrasi zat minimum yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan mikroba atau membunuhnya masing-masing dikenal sebagai KHM dan KBM.

2. Mekanisme kerja antibakteri

Mekanisme antibakteri merupakan peristiwa penghambatan bakteri oleh antibakteri. Aktivitas antibakteri diukur secara *in vitro* untuk menentukan potensi agen antibakteri dalam larutan, konsentrasinya dalam cairan tubuh atau jaringan dan kepekaan mikroorganisme terhadap obat yang diketahui (Brooks *et al.* 2010).

Berdasarkan mekanisme kerja antibakteri dibagi dalam 5 kategori utama yaitu:

2.1. Menghambat dinding sel bakteri. Bakteri memiliki lapisan luar yang kaku, yaitu dinding sel yang terdiri atas polipeptidoglikan yaitu suatu kelompok polimer mukopeptida yang khas secara kimiawi dan tersusun atas polisakarida-polisakarida dan suatu polipeptida yang kaya ikatan silang. Sel yang aktif secara terus menerus mensintesis peptidoglikan yang baru. Antibakteri bereaksi dengan satu atau banyak enzim yang dibutuhkan pada proses sintesis, sehingga menyebabkan pembentukan dinding sel lemah dan menyebabkan pemecahan osmotik. Contoh antibakteri yang bekerja dengan menghambat dinding sel bakteri: penisilin, vankomisin (Brooks *et al.* 2010).

2.2. Menghambat fungsi membran sel bakteri. Sitoplasma pada semua sel hidup dibungkus oleh membran sel yang berperan sebagai barrier permeabilitas aktif, memiliki fungsi transportasi aktif dan mengatur komposisi internal sel. Jika fungsi integritas dari membran sel dirusak akan menyebabkan keluarnya makromolekul dan ion-ion dari sel, dan kemudian terjadi kerusakan atau kematian sel. Contoh antibakteri yang bekerja dengan menghambat fungsi membran sel bakteri: mikonazole, ketokonazole, amfotericin (Brooks *et al.* 2010).

2.3. Menghambat sintesis protein sel bakteri. DNA, RNA, dan protein memegang peranan di dalam proses kehidupan normal sel. Hal ini menunjukkan bahwa gangguan yang terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel. Kebanyakan obat menghambat translasi atau sintesis protein. Sintesis protein terjadi di ribosom. Mekanisme kerjanya antara lain dengan bantuan Mrna dan Trna, pada bakteri ribosom terdiri atas ribosom sub unit 30S' dan 50S'.

Antibakteri dapat berikatan pada sub unit 30S' dan 50S' sehingga menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA pada waktu sintesis protein yang mengakibatkan terbentuknya protein yang abnormal dan nonfungsional bagi sel bakteri. Contoh antibakteri yang bekerja dengan menghambat sintesis protein sel bakteri adalah eritromisin, linkomisin, tetrasiklin, glisiklin, aminoglikosida dan kloramfenikol (Brooks *et al.* 2010).

2.4. Menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri. Penghambatan pada sintesis asam nukleat berupa penghambatan terhadap transkripsi dan translasi

mikroorganisme. Penghambatan yang termasuk dalam transkripsi mikroorganisme, yaitu kuinolon dan rifampicin. Peranan antibiotika golongan kuinolon adalah menghambat kerja enzim DNA girase pada kuman bersifat bakteriosidal, sehingga kuman mati. Mekanisme kerja rifampicin adalah dengan menonaktifkan enzim bakteri yang disebut RNA polymerase, tanpa enzim-enzim ini bakteri tidak dapat berkembang biak dan bakteri akan mati (Brooks *et al.* 2010).

2.5. Menghambat metabolisme sel bakteri. Penghambatan terhadap sintesis metabolit esensial antara lain dengan adanya kompetitor berupa antimetabolit, yaitu substansi yang secara kompetitif menghambat metabolit mikroorganisme, karena memiliki struktur yang mirip dengan substrat normal bagi enzim metabolisme. Contohnya adalah antimetabolit sulfanilamid 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. Mikroba membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya. Antimikroba bila bersaing dengan PABA dalam pembentukan asam folat, maka terbentuk analog asam folat non fungsional sehingga kebutuhan akan asam folat tidak terpenuhi dan menyebabkan pertumbuhan bakteri terhambat (Pratiwi ST 2008).

F. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri suatu zat digunakan untuk mengetahui kemampuan zat tersebut dalam membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri uji. Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan berbagai metode, yaitu metode difusi dan dilusi (Brooks *et al.* 2010).

1. Metode difusi

Metode ini dapat dilakukan dengan menggunakan cakram (*diks*) kertas saring, sumuran atau silinder tidak beralas. Metode dengan sumuran atau silinder, dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme, kemudian pada sumur tersebut diberi agen antimikroba yang akan diuji. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah

hambatan disekeliling lubang. Metode cakram kertas yaitu meletakkan cakram kertas yang telah direndam larutan uji diatas media padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling cakram (Brooks *et al.* 2010).

2. Metode dilusi

Metode ini untuk mengukur (Kadar Hambat Minimum dan Kadar Bunuh Minimum). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji antimikroba dicampur dalam media dengan jumlah atau konsentrasi yang berbeda-beda, masing-masing media kemudian diinkubasi dan diamati konsentrasi antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri uji. Larutan uji agen antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba, dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah diinkubasi ditetapkan sebagai KBM. Keuntungan metode ini adalah memberikan hasil kualitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri (Brooks *et al.* 2010).

G. Media

Medium adalah suatu bahan yang terdiri dari nutrisi yang berguna untuk membiakkan mikroba. Media pertumbuhan mikroorganisme adalah suatu bahan yang terdiri dari campuran zat-zat makanan (nutrisi) yang diperlukan mikroorganisme untuk pertumbuhannya. Mikroorganisme memanfaatkan nutrisi media berupa molekul-molekul kecil yang dirakit untuk menyusun komponen sel. Dengan media pertumbuhan dapat dilakukan isolasi mikroorganisme menjadi kultur murni dan juga memanipulasi komposisi media pertumbuhannya sesuai kebutuhan bakteri (Putri 2017).

Media pembenihan harus dapat menyediakan energi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri. Media harus dapat menyediakan energi yang

dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri. Media harus mengandung sumber karbon, nitrogen, sulfur, fosfor dan faktor pertumbuhan organik (Radji 2010). Berikut merupakan beberapa contoh media menurut Radji (2010) :

1. Media sintetik

Media yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri kemoheterotrof. Pada uji kadar vitamin secara mikrobiologis, media yang digunakan harus mengandung semua faktor pertumbuhan yang dibutuhkan oleh bakteri kecuali vitamin yang diuji. Media, bahan media dan bakteri yang kemudian disatukan, lalu bakteri diamati. Pertumbuhan bakteri yang sebanding dengan kadar asam laktat yang dihasilkan bakteri akan sebanding dengan jumlah vitamin dalam bahan uji.

2. Media kompleks

Media yang sering digunakan secara rutin di laboratorium. Media ini mengandung nutrisi tinggi yang terdiri atas ekstrak ragi, ekstrak daging atau tumbuhan, ataupun protein sederhana dari sumber lain. Vitamin, mineral dan bahan organik lain yang diperoleh dari ekstrak daging atau ragi merupakan sumber nutrisi untuk pertumbuhan bakteri. Media kompleks yang berbentuk cair disebut *nutrient broth*, sedangkan yang ditambahkan agar disebut *nutrien agar*.

3. Media anaerob

Penanaman bakteri anaerob harus menggunakan media special disebut reducing media yang mengandung natrium trioglikolat. Media ini sebelum digunakan dipanaskan perlahan-lahan untuk menghilangkan oksigen yang terserap. Bejana anaerob digunakan untuk menginkubasi bakteri anaerob yang diinokulasikan dalam media agar di dalam cawan petri.

4. Media biakan khusus

Media ini digunakan untuk menentukan tipe pertumbuhan mikroba dan kemampuannya untuk mengadakan perubahan kimia tertentu. Bakteri anaerob membutuhkan CO₂ dengan konsentrasi lebih tinggi ataupun lebih rendah dari pada konsentrasi CO₂ di udara, maka konsentrasi CO₂ pada media ini dinaikkan.

5. Media selektif dan diferensial

Media ini digunakan untuk mendeteksi ada tidaknya bakteri spesifik yang berhubungan dengan penyakit atau sanitasi yang buruk. Media selektif dirancang

untuk menekan pertumbuhan bakteri yang tidak diinginkan dan mendukung pertumbuhan bakteri yang diinginkan. Sebagai contoh, *Bismuth Sulfite Agar* (BSA) digunakan untuk mengisolasi bakteri *Salmonella typhi* dari tinja. Media diferensial memudahkan perbedaan koloni bakteri yang diinginkan dari koloni lain yang tumbuh pada lempeng media yang sama. Karakteristik selektif dan diferensial kadang-kadang dikombinasikan di dalam satu jenis media.

6. Media pengayaan

Media yang digunakan untuk pengayaan biakan bakteri biasanya dalam bentuk media cair dan hampir sama dengan media selektif, tetapi dirancang untuk memperbanyak tipe bakteri yang diinginkan sehingga dapat dideteksi. Tahapan pengayaan adalah upaya untuk menumbuhkan bakteri dalam beberapa kali pemindahan ke media yang baru. Ketika biakan pengayaan terakhir disebarkan di atas media padat yang mengandung komposisi yang sama dengan media cair, hanya koloni yang mampu menggunakan fenol yang bertahan tumbuh.

H. Sterilisasi

Peralatan maupun bahan yang akan digunakan dalam bidang mikrobiologi harus dalam keadaan steril. Keadaan steril yang dimaksud yaitu bebas dari mikroba yang merusak atau mengganggu dalam proses pengerjaan. Sterilisasi merupakan suatu tindakan untuk membebaskan alat dan media dari mikroba. Cara sterilisasi yang umum dilakukan meliputi sterilisasi secara fisik yaitu pemanasan basah dan kering, penggunaan sinar bergelombang pendek seperti sinar-X, sinar- α , sinar- γ dan sinar UV. Sterilisasi dengan pemanasan basah menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit untuk mensterilkan media, sedangkan sterilisasi kering menggunakan oven dengan suhu 170°C selama 30 menit untuk mensterilkan cawan petri dan tabung reaksi. Sterilisasi secara kimia yaitu penggunaan desinfektan, larutan alkohol dan larutan formalin. Sterilisasi secara mekanik yaitu penggunaan saringan atau filter untuk bahan yang akan mengalami perubahan atau penguraian akibat pemanasan tinggi atau tekanan tinggi (Darmadi 2008).

I. Ciprofloksasin

Sebagian besar galur *Staphylococcus* sudah resisten terhadap berbagai antibiotik, seperti penisilin, metisilin, sefalosporin, eritromisin, linkomisin, dan rifampisin, sehingga perlu diberikan antibiotik berspektrum luas seperti kloramfenikol, amoksisilin dan tetrasiklin (Jawetz *et al.* 2005). Ciprofloksasin merupakan senyawa turunan fluorokuinolon. Fluorokuinolon merupakan suatu antibiotik berspektrum luas yang digunakan untuk terapi infeksi saluran pernafasan, saluran kemih, infeksi intraabdominal, infeksi tulang dan sendi, kulit dan jaringan lunak, dan beberapa infeksi lainnya (Raini 2016).

Pada tahun 1980, dengan penambahan atom fluor pada molekul kuinolon dihasilkan siprofloksasin yang merupakan generasi pertama fluorokuinolon atau generasi kedua dari kuinolon. Obat ini mempunyai aktivitas terhadap gram positif yang tinggi dan lebih kuat melawan Enterobacteriaceae dan mempunyai spektrum lebih lebar (Raini 2016). Ciprofloksasin adalah senyawa bakterisid dengan mekanisme kerja dari obat golongan ini adalah dengan menghambat enzim DNA girase pada replikasi DNA, sehingga akan menghambat proses replikasi DNA dan transkripsi mRNA (Pratiwi ST 2008).

J. Landasan Teori

Penyakit infeksi merupakan salah satu permasalahan yang banyak terjadi di dunia terutama di Indonesia dengan kawasan yang beriklim tropis dan dapat menyebabkan berbagai penyakit dan kematian. Salah satu contoh infeksi yang dominan terjadi di masyarakat adalah infeksi akibat keadaan kulit yang abnormal seperti luka bakar dan luka terbuka (Devi 2017). Penyebab terjadinya infeksi adalah bakteri. Bakteri penyebab penyakit infeksi utama adalah *Staphylococcus aureus* yang bersifat oportunistik dan merupakan patogen utama untuk manusia (Jawetz *et al.* 2010).

Staphylococcus aureus dapat menimbulkan penyakit karena mampu melekat ke sel, menyebar dalam jaringan, menghasilkan enzim ekstrasel atau eksotoksin dan membentuk abses (Elliott *et al.* 2007). *Staphylococcus aureus* menyebabkan berbagai jenis infeksi pada manusia, antara lain infeksi pada kulit,

seperti bisul dan furunkulosis, infeksi yang lebih serius, seperti pneumonia dan nosokomial, dan terdapat di hidung 20-50% (Gillespie & Bamford 2009).

Pengobatan terhadap infeksi *Staphylococcus aureus* sudah resisten terhadap berbagai antibiotik, seperti penisilin, metisilin, sefalosporin, eritromisin, linkomisin, dan rifampisin. Salah satu golongan fluorokuinolon yang digunakan adalah ciprofloksasin. Mekanisme kerja ciprofloksasin dengan menghambat menghambat enzim DNA girase pada replikasi DNA, sehingga akan menghambat proses replikasi DNA dan transkripsi mRNA (Pratiwi ST 2008)

Indonesia merupakan negara tropis yang kaya akan jenis tanaman obat-obatan, salah satunya adalah daun kari (*Murraya koenigii* (L.) Spreng) yang sering dimanfaatkan sebagai penyedap makanan (Komal *et al.* 2015). Ekstrak daun kari diketahui mengandung senyawa seperti saponin, tanin dan alkaloid (Prabakaran *et al.* 2013). Penelitian Rastina *et al.* (2015) membuktikan bahwa ekstrak etanol daun kari mengandung senyawa metabolik sekunder: alkaloid, flavonoid, saponin dan steroid. Dari hasil penelitian secara *in vitro* menunjukkan adanya daya hambat yang kuat pada konsentrasi 50% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat 10,5 mm. Berdasarkan penelitian tersebut daun kari memiliki potensi sebagai antibakteri Gram positif.

Penelitian lain Argal *et al.* (2011) ekstrak daun kari mengandung glikosida, steroid, tanin, alkaloid, flavonoid, saponin, kuinon, protein dan gula. Dari hasil penelitian dengan menggunakan pelarut 70% etil alkohol, 90% etil alkohol, metanol dan kloroform dengan konsentrasi 10%, 15% dan 20% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Pada konsentrasi 10% zona hambat masing-masing 11, 10, 14 dan 13mm. Pada konsentrasi 15% zona hambat masing-masing 13, 10, 14 dan 13mm. Pada konsentrasi 20% dengan zona hambat masing-masing 16, 10, 14 dan 17mm.

Penelitian ini menggunakan metode ekstraksi secara maserasi kemudian fraksinasi untuk memperoleh kandungan zat aktif yang diperkirakan dapat berkhasiat sebagai antibakteri. Fraksinasi adalah suatu cara pemisahan golongan utama kandungan yang satu dari golongan yang lain berdasarkan perbedaan kepolaran suatu senyawa. Pertama ekstrak kental difraksinasi berturut-turut

dengan larutan penyari yang berbeda-beda polaritasnya (Harbourne 1987). *n*-heksana merupakan pelarut nonpolar yang melarutkan senyawa nonpolar. Senyawa nonpolar dapat larut dalam *n*-heksana seperti lemak, asam lemak tinggi, steroid, terpenoid, triterpenoid dan karatenoid. Etil asetat merupakan pelarut semi polar yang melarutkan senyawa semi polar, senyawa yang dapat larut dalam etil asetat seperti alkaloid, flavonoid, saponin dan senyawa-senyawa polifenol (Harborne 1987). Air merupakan pelarut polar yang melarutkan senyawa polar seperti glikosida, flavonoid, tanin, gula, gom, pati protein, enzim lilin, pektin, zat warna dan asam organik (Tiwari *et al.* 2011).

Pengukuran aktivitas antibakteri pada penelitian ini dilakukan dengan metode difusi dan metode dilusi. Metode difusi untuk melihat pertumbuhan bakteri ada tidaknya daerah hambatan disekeliling cakram. Metode dilusi untuk mengukur (Kadar Hambat Minimum dan Kadar Bunuh Minimum).

K. Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah:

Pertama, ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari daun kari (*Murraya koenigii* (L.) Spreng) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, dari ekstrak etanol 70% dan ketiga fraksi (*n*-heksana, etil asetat dan air) dari daun kari (*Murraya koenigii* (L.) Spreng) yang memiliki aktivitas antibakteri paling efektif sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yaitu fraksi etil asetat.

Ketiga, ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air daun kari (*Murraya koenigii* (L.) Spreng) pada konsentrasi tertentu memiliki KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) dan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.