

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Karandas (*Carissa carandas* L.)

1. Sistematika tanaman

Klasifikasi secara lengkap tanaman karandas dalam taksonomi adalah sebagai berikut :

Kindom	: Plantae
Divisio	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Ordo	: Gentianales
Family	: Apocynaceae
Genus	: <i>Carissa</i>
Spesies	: <i>Carissa carandas</i> L. (Kumar <i>et al.</i> 2013)



Gambar 1. Tanaman karandas (*Carissa carandas* L.) (Kumar *et al.* 2013).

2. Nama daerah

Karandas yang memiliki nama latin *Carissa carandas* L. dikenal dengan beberapa nama daerah yaitu renda (Medan), kerendang (Betawi) dan karandas atau karandan (Jawa) (Hidayat *et al.* 2015).

3. Morfologi tanaman

Tanaman karandas merupakan semak memanjat, tinggi 1,5-5 meter, berwarna hijau dan berduri. Banyak tumbuh di negara India, umumnya ditanam sebagai tanaman pagar (Verma & Hotam 2011). Berakar tunggang dan berwarna putih, batangnya tegak, bulat, bercabang banyak, permukaan kasar, berduri tajam, berwarna coklat, kaya akan getah putih. Daun tunggal, berhadapan, tangkai pendek, hijau, helai daun lonjong, ujung bulat, pangkal bulat, tepi rata, panjang 2,5-7,5 cm, lebar 1,5-3 cm, permukaan kasar dan berkilau, tulang daun menyirip, hijau di bagian atas dan di bagian bawah. Jika daun dan batangnya terluka, getah putih akan terlihat (Virmani *et al.* 2017).

Bunga Karandas berbentuk payung, majemuk, diujung cabang dan di ketiak daun, panjang tangkai 6-20 mm, kelopak berbulu, diameter 3-5 cm, benang sari melekat pada dasar bunga, dasar mahkota membentuk tabung, panjang 1-3 cm, putih atau kekuningan. Buah berry, bulat memanjang, panjang 1-2 cm, berserat, lunak, masih muda merah cerah setelah tua ungu (Virmani *et al.* 2017).

4. Khasiat daun karandas

Secara tradisional buah karandas digunakan sebagai antidiabetes, gangguan pencernaan, meningkatkan nafsu makan, luka, dan memperkuat otot jantung. Daun digunakan untuk menurunkan demam, diare, luka, sakit telinga dan sifilis. Akar digunakan untuk mengobati perut kembung, kesulitan dalam berkemih, luka, dan menurunkan tekanan darah (Kirtikar & Basu 2003).

5. Kandungan daun karandas

Daun karandas memiliki berbagai kandungan yaitu flavonoid, alkaloid, saponin, triterpenoids, tanin dan steroid (Verma & Hotam 2011). Penelitian lain menyatakan daun karandas mengandung senyawa triterpenoids, carissin, carandinol, tanin, asam oleanolic, asam ursolat, asam betulinat, stigmasterol, dan β -sitosterol (Siddiqui *et al.* 2003; Begum *et al.* 2013)

5.1. Flavonoid. Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolik sekunder yang paling banyak terdapat di dalam jaringan tanaman. Flavonoid adalah senyawa turunan polifenol yang mempunyai 15 atom karbon yang tersusun dalam konfigurasi C₆-C₃-C₆ yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan

oleh tiga atom karbon yang merupakan rantai alifatik, senyawa ini merupakan senyawa polar karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil atau gula. Gugus gula yang terikat pada beberapa jenis struktur flavonoid (diistilahkan glikosida flavonoid) cenderung menyebabkan flavonoid tersebut mudah larut dalam air (Nugrahaningtyas *et al.* 2005). Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri diikuti keluarnya senyawa intraseluler. Flavonoid juga berperan dalam inhibisi sintesis DNA-RNA melalui interkalasi atau ikatan hidrogen dengan penumpukan basa asam nukleat (Nuria *et al.* 2009).

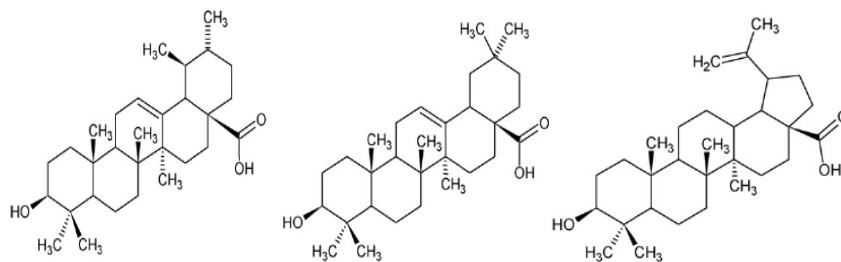
5.2. Saponin. Saponin adalah suatu glikosida alamiah yang terikat dengan steroid atau triterpena yang merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa dan menghemolisa sel darah merah. Pada umumnya saponin bereaksi netral (larut dalam air), beberapa ada yang bereaksi dengan asam (sukar larut dalam air) dan sebagian kecil ada yang bereaksi dengan basa (Hasiholan & Anju 2012). Mekanisme kerja saponin sebagai agen antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar (Nuria *et al.* 2009).

5.3. Alkaloid. Alkaloid adalah golongan senyawa yang bersifat basa, mengandung satu atau lebih atom nitrogen biasanya dalam gabungan berbentuk siklik, dan dapat bereaksi dengan pereaksi alkaloid. Menurut Harborne (1987), alkaloid umumnya berbentuk kristal padat dan sebagian kecil bersifat cair, memutar bidang polarisasi dan terasa pahit. Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri diprediksi melalui penghambatan sintesis dinding sel yang akan menyebabkan lisis pada sel sehingga sel akan mati (Nimah *et al.* 2012).

5.4. Tanin. Tanin merupakan senyawa umum yang terdapat dalam tumbuhan berpembuluh, mempunyai rasa sepat dan memiliki gugus fenol, jika bereaksi dengan protein membentuk kopolimer mantap yang tak larut dalam air. Tanin secara kimia dikelompokkan menjadi dua golongan yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis (Harborne 1987). Salah satu fungsi tanin adalah menghambat

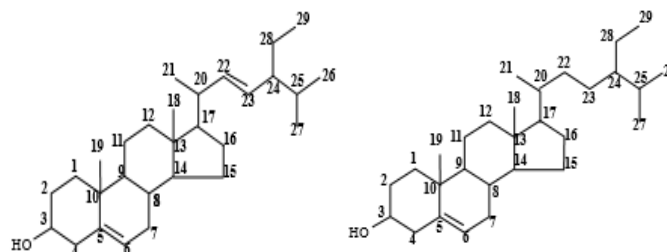
pertumbuhan bakteri dengan menghambat enzim *reverse* transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Nuria *et al.* 2009).

5.5. Triterpenoid. Triterpenoid adalah senyawa yang memiliki kerangka enam karbon satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C-30 asiklik yaitu skualena. Mekanisme triterpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri dan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Cowan 1999). Senyawa asam oleanolic, asam ursolat, dan asam betulinat merupakan senyawa turunan triterpenoid (Harborne 1987).



Gambar 2. Struktur kimia asam ursolat, asam oleanolic, asam betulinat (Fontanay *et al.* 2008).

5.6. Steroid. Steroid merupakan turunan dari senyawa terpenoid. Steroid berpotensi sebagai antibakteri, senyawa ini memiliki polisakarida sehingga dapat menembus membran sel bakteri dan menyebabkan sel bakteri tersebut rusak atau mati (Nimah *et al.* 2012). Senyawa stigmasterol dan β -sitosterol merupakan senyawa turunan fitosterol (Harborne 1987).



Gambar 3. Struktur kimia stigmasterol dan β -sitosterol (Woldeyes *et al.* 2012).

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan sebagai obat dan belum mengalami pengolahan apapun juga, kecuali dinyatakan lain, simplisia merupakan bahan yang telah dikeringkan. Simplisia terdiri dari tiga jenis yaitu simplisia hewani, simplisia nabati dan simplisia pelikan (mineral). Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat tanaman yaitu isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau isi sel yang dikeluarkan dari selnya, atau senyawa nabati lainnya yang dipisahkan dari tanamannya dan belum berupa senyawa kimia murni. Simplisia merupakan bahan awal pembuatan sediaan herbal. Mutu simplisia yang digunakan sangat mempengaruhi mutu sediaan herbal, suhu pengeringan simplisia tidak lebih dari 60°C (Prasetyo & Entang 2013).

2. Pengumpulan simplisia

Kadar senyawa aktif dalam suatu simplisia berbeda-beda antara lain tergantung pada bagian tanaman yang digunakan, umur atau bagian tanaman pada saat panen, waktu panen dan lingkungan tempat tumbuh. Pembentukan senyawa aktif dalam bagian tanaman berhubungan erat dengan waktu panen. Waktu panen yang tepat adalah ketika bagian tanaman tersebut mengandung senyawa aktif dalam jumlah terbesar. Senyawa aktif terbentuk secara maksimal pada umur dan bagian tertentu. Bagian yang digunakan adalah daun karandas yang dikumpulkan dan dicuci bersih (Gunawan & Mulyani 2004).

3. Pencucian dan pengeringan simplisia

Pencucian simplisia bertujuan untuk memisahkan kotoran atau bahan asing lainnya dari bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan air bersih. Bahan simplisia yang mengandung zat yang mudah larut air, pencucian dilakukan dalam waktu yang secepat mungkin (Prasetyo & Entang 2013).

Menurut Gunawan dan Mulyani (2004), tujuan pengeringan adalah untuk menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri. Pengeringan simplisia juga bertujuan untuk menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan zat aktif dan memudahkan dalam hal pengelolaan proses

selanjutnya. Pengeringan bahan simplisia dapat dilakukan dengan menggunakan suatu alat pengering atau menggunakan panas sinar matahari. Saat pengeringan, yang perlu diperhatikan adalah kelembaban udara, suhu pengeringan, aliran udara, waktu pengeringan dan luas permukaan bahan.

4. Penyerbukan Simplisia

Penyerbukan simplisia bertujuan untuk meningkatkan luas permukaan dari simplisia, umumnya penyarian akan bertambah baik bila permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan cairan penyari makin luas. Penyerbukan tidak boleh terlalu kasar atau terlalu halus, jika terlalu kasar maka banyak zat aktif di dalam sel yang tidak ikut tersari. Penyerbukan tidak boleh terlalu halus karena dapat menyebabkan dinding sel yang pecah sehingga zat yang tidak diinginkan akan terkikut dalam hasil penyarian. Serbuk yang terlalu halus juga dapat mempersulit penyaringan karena butir-butir halus membentuk suspensi yang sulit dipisahkan dengan penyaringan (Pradana 2016).

C. Metode Penyarian

1. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut dibedakan menjadi dua macam yaitu cara panas dan cara dingin. Cara panas terdiri dari refluks, soxhletasi, digesti dan infus. Cara dingin terdiri dari maserasi dan perkolasi. Diketuinya senyawa aktif yang dikandung oleh simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Mukhriani 2014).

Ekstrak adalah sediaan kental yang didapatkan dengan mengekstraksi senyawa aktif dari serbuk simplisia nabati maupun hewani dengan menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua pelarut diuapkan dan massa yang tersisa diproses sedemikian rupa hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes 1995).

2. Maserasi

Maserasi adalah proses mengekstraksi simplisia menggunakan pelarut yang sesuai dengan beberapa kali pengadukan atau pengocokkan pada suhu ruangan.

Prinsip metode maserasi adalah pencapaian konsentrasi pada keseimbangan antara larutan yang di luar dan di dalam sel. Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah selesai penyaringan maserat pertama dan seterusnya. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukkan secara terus menerus (kontinyu). Metode maserasi dapat menghasilkan ekstrak dalam jumlah banyak dan terhindar dari perubahan kimia senyawa-senyawa tertentu karena pemanasan (Depkes 1986).

Pada maserasi digunakan pelarut yang sesuai dan dapat menyari sebagian besar metabolit sekunder yang terkandung dalam serbuk simplisia. Jika tidak dinyatakan lain gunakan etanol 70%. Masukkan satu bagian serbuk kering simplisia ke dalam maserator, tambahkan 10 bagian pelarut. Rendam selama 6 jam pertama jam pertama sambil sekali-sekali diaduk, kemudian diamkan selama 18 jam. Pisahkan maserat dengan cara filtrasi. Ulangi proses penyarian sebanyak satu kali dengan jenis pelarut yang sama dan jumlah volume pelarut sebanyak setengah kali jumlah volume pelarut pada penyarian pertama. Kumpulkan semua maserat kemudian uapkan dengan penguap penguap tekanan rendah hingga diperoleh ekstrak kental. Hitung rendemen yang diperoleh yaitu presentase bobot (b/b) antara rendemen dengan bobot serbuk simplisia yang digunakan dengan penimbangan (Depkes 2013).

3. Fraksinasi

Fraksinasi adalah prosedur pemisahan dengan tujuan memisahkan senyawa berdasarkan tingkat kepolaran yang berbeda dalam dua pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda pula (Pratiwi *et al.* 2016). Senyawa yang bersifat polar maka akan larut dalam pelarut yang polar dan senyawa-senyawa nonpolar akan terlarut dalam pelarut nonpolar. Ekstrak kental yang didapat difraksinasi berturut-turut dengan pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda. Setiap pelarut akan memisahkan kelompok kandungan kimia secara selektif berdasarkan perbedaan kepolarannya, pertama-tama ekstrak disari dengan pelarut nonpolar kemudian disari dengan pelarut semipolar dan terakhir disari dengan pelarut polar (Harborne 1987).

4. Pelarut

Pemilihan pelarut harus memenuhi beberapa kriteria antara lain mudah didapat, mampu melarutkan senyawa yang diinginkan, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, selektif dalam menarik senyawa, dan tidak mempengaruhi zat berkhasiat (Nasir *et al.* 2009).

4.1. Etanol. Etanol merupakan pelarut serbaguna untuk ekstraksi pendahuluan. Pelarut ini mudah menembus membran sel dalam mengekstrak bahan intraseluler dari serbuk simplisia. Etanol lebih selektif, netral, absorbsinya baik, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% keatas (Harborne 1986). Senyawa organik dapat diperoleh melalui ekstraksi dengan menggunakan etanol atau metanol. Metanol lebih polar dan lebih sitotoksik dibandingkan dengan etanol, hal tersebut tidak cocok untuk ekstraksi dalam beberapa jenis penelitian sebab dapat mengakibatkan salah hasil (Tiwari *et al.* 2011).

Etanol adalah pelarut volatile bagi senyawa organik, bersifat semipolar karena dapat melarutkan baik senyawa polar maupun nonpolar sehingga dapat saling larut dengan air. Pelarut ini mampu melarutkan ekstrak dalam jumlah yang besar, bersifat non toksik, tidak korosif dan mudah diperoleh (Utomo 2016). Etanol dapat melarutkan minyak menguap, alkaloid, kumarin, glikosida, terpenoid, flavonoid, antrakuinon, steroid, damar dan klorofil (Harborne 1986).

4.2. *n*-Heksana. Pelarut *n*-heksana merupakan hasil penyulingan minyak tanah yang bersih, tidak berwarna atau pucat, transparan, mudah terbakar, dan mudah menguap, tidak dapat larut dalam air, mudah larut dalam alkohol, benzene, kloroform, eter. Umumnya berkisar 50% dari berat rantai isomer dan mendidih pada suhu 60-70°C. *n*-Heksana adalah pelarut nonpolar yang bersifat inert dapat melarutkan alkaloid, steroid, triterpenoid, karotenoid, minyak, lemak, dan lilin (Utomo 2016).

4.3. Kloroform. Kloroform (triklorometana) merupakan salah satu senyawa haloform, zat cair mudah menguap, sukar terbakar (tetapi uapnya mudah terbakar), tidak larut dalam air tetapi larut dalam alkohol dan eter, uapnya bersifat membius dan bila terkena udara dan cahaya dapat membentuk gas fosgen yang beracun. Kloroform digunakan untuk pembuatan senyawa fluorokarbon, sebagai pelarut

(cat), dan sebagai anestetik. Kelarutan dalam air pada suhu 25°C. Kloroform merupakan pelarut yang bersifat semipolar dapat melarutkan senyawa alkaloid, flavonoid, triterpenoid, saponin, dan steroid (Fajarullah *et al* 2018; Robinson 1995). Stigmasterol dan β -sitosterol merupakan senyawa golongan steroid (Nurcahyanti *et al.* 2015) asam betulinat, asam oleanolic dan asam ursolat merupakan senyawa golongan triterpenoid (Fontanay *et al.* 2008) sehingga dapat larut dalam pelarut kloroform.

4.4. Air. Air adalah pelarut universal dan sangat polar digunakan untuk menyari senyawa-senyawa organik polar sehingga cocok digunakan untuk pelarut polar dalam proses fraksinasi. Air digunakan sebagai penyari karena murah stabil, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, tidak beracun, dan alamiah. Pemekatan dilakukan dengan cara diuapkan di atas penangas air. Kekurangan menggunakan pelarut air adalah zat yang tidak diperlukan juga ikut tersari dan air juga merupakan tempat tumbuh bagi bakteri dan kapang serta diperlukan waktu pengeringan yang lama. Pelarut ini dapat melarutkan senyawa fenolik, garam alkaloid, minyak menguap, glikosida, tanin, gula, gom, pati, protein, lendir, enzim, lilin, lemak pektin, dan zat warna asam organik (Depkes 1986).

D. Kromatografi Lapis Tipis

1. Pengertian Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi didefinisikan sebagai prosedur pemisahan zat terlarut oleh suatu proses migrasi diferensial dinamis dalam sistem yang terdiri dari dua fase, salah satu diantaranya bergerak secara berkesinambungan dengan arah tertentu dan di dalamnya zat-zat itu menunjukkan perbedaan mobilitas disebabkan adanya perbedaan dalam adsorpsi, partisi, kelarutan, ukuran molekul, dan tekanan uap. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) umumnya lebih banyak digunakan untuk tujuan identifikasi, karena mudah dan sederhana serta memberikan pilihan fase diam yang lebih luas dan berguna untuk pemisahan masing-masing senyawa secara kualitatif dari suatu campuran (Depkes 2013).

Semua kromatografi mempunyai fase diam dan fase gerak. Fase diam dapat berupa padatan atau kombinasi cairan-padatan, dan fase gerak dapat berupa cairan

atau gas. Beberapa petunjuk dalam memilih dan mengoptimasi fase gerak yang pertama harus mempunyai kemurnian tinggi karena KLT merupakan teknik yang sensitif. Kedua, daya elusi fase gerak harus diatur sedemikian rupa sehingga harga R_f terletak diantara 0,2-0,8 untuk memaksimalkan pemisahan. Ketiga, untuk pemisahan dengan menggunakan fase diam polar seperti silika gel, polaritas fase gerak akan menentukan kecepatan migrasi solut yang berarti juga menentukan nilai R_f . (Rohman 2009).

2. Fase diam

Fase diam yang digunakan dalam KLT merupakan penjerap berukuran kecil dengan diameter partikel antara 10-30 μm . 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. Penjerap yang paling sering digunakan adalah silika dan serbuk selulosa, sementara mekanisme sorpsi yang utama pada KLT adalah adsorpsi dan partisi. Contoh fase diam lainnya yaitu silika modifikasi dengan hidrokarbon, alumina, kieselgur, selulosa penukar ion, gel sephadex dan β -siklodekstrin (Gandjar & Rohman 2007).

3. Fase gerak

Fase gerak adalah medium angkut dan terdiri atas satu atau beberapa pelarut. Fase gerak bergerak di dalam fase diam yaitu suatu lapisan berpori, karena ada gaya kapiler. Pelarut yang digunakan hanyalah pelarut bertingkat mutu analitik dan bila diperlukan, sistem pelarut multikomponen ini harus berupa suatu campuran sesederhana mungkin yang terdiri atas maksimum tiga komponen (Stahl 1985).

Hasil kromatografi pada KLT terlihat sebagai noda-noda atau spot yang terpisah melalui visualisasi fisika atau kimia. Visualisasi fisika dengan cara melihat noda kromatogram yang mengabsorpsi radiasi ultraviolet (UV) atau berfluoresensi dengan radiasi UV (254 nm atau 366 nm). Visualisasi kimia adalah dengan mereaksikan kromatogram dengan pereaksi warna yang memberikan warna atau fluoresensi spesifik yaitu dengan penyemprotan atomizer atau memberikan uap zat kimia. Penotolan cuplikan dapat dilakukan dengan memakai pipa kapiler halus yang dibuat dari pipa kaca, beberapa kali penotolan dapat dilakukan pada tempat yang sama, asal lapisan sudah kering sebelum penotolan berikutnya (Gritter 1991).

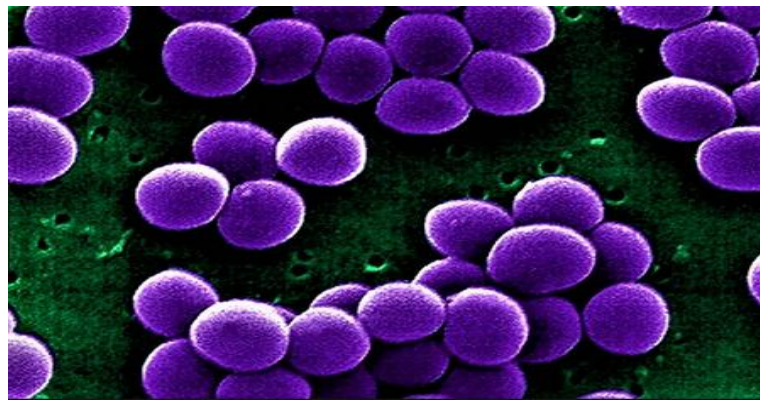
Contoh fase gerak yang sering digunakan yaitu *n*-heksana, sikloheksana, benzena, kloroform, eter (dietil eter), etil asetat, piridina, aseton, etanol, metanol dan air (Stahl 1985).

4. Preaksi semprot

Metode deteksi senyawa pada KLT dapat dilakukan dengan preaksi semprot. Preaksi semprot yang umum digunakan untuk mendeteksi senyawa pada KLT diantaranya adalah Dragendroff, sitroborat, FeCl_3 , Lieberman Burchard, asam fosfomolibdat dan lain-lain. Dragendroff dapat digunakan untuk mendeteksi adanya senyawa alkaloid. Sitroborat dapat digunakan untuk mendeteksi senyawa flavonoid. FeCl_3 dapat digunakan untuk mendeteksi adanya senyawa tanin. Lieberman Burchard untuk mendeteksi adanya senyawa steroid dan triterpenoid atau asam fosfomolibdat untuk mendeteksi terpenoid (Harborne 1987).

E. *Staphylococcus aureus*

1. Sistematika bakteri



Gambar 4. *Staphylococcus aureus* (Salle 1961).

Menurut Salle (1961), sistematika ilmiah bakteri *Staphylococcus aureus* sebagai berikut :

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

2. Klasifikasi bakteri

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif, berbentuk bulat, berdiameter 0,7-1,2 μm yang tersusun secara tidak teratur dan menyerupai untaian anggur. Secara umum bakteri ini merupakan organisme yang hidup bebas, baik berupa sel tunggal atau berupa kelompok yang berpasangan dua, ada juga yang berkelompok teratur secara tetrad, bahkan ada yang memiliki susunan tidak teratur (Jawetz *et al.* 2010). *Staphylococcus aureus* merupakan flora normal pada kulit dan saluran pernafasan bagian atas. Bakteri *Staphylococcus aureus* tidak mampu membentuk spora, tidak bergerak, fakultatif anaerob, dan sangat tahan pengeringan (Radji 2010).

Staphylococcus aureus relatif resisten terhadap pengeringan, pemanasan (tahan pada suhu 50°C selama 30 menit dan beberapa strain tahan terhadap suhu 80°C selama 30 menit), tahan kering (pada nanah yang kering akan tahan berminggu-minggu hingga berbulan-bulan) serta tahan terhadap sulfonamid dan beberapa antibiotik lainnya (Jawetz *et al.* 2012).

3. Patogenesis

Bakteri *Staphylococcus aureus* masuk ke dalam tubuh manusia melalui kelenjar keringat, folikel rambut, dan melalui luka. Bakteri patogen ini dapat menghasilkan enzim koagulase, pigmen kuning, memecah manitol menjadi asam dan mempunyai sifat menghemolisa darah. Infeksi lokal *Staphylococcus aureus* adalah infeksi suatu abses atau folikel rambut, biasanya suatu infeksi peradangan yang hebat terlokalisir, sakit karena peneranan sentral dan yang sembuh dengan cepat apabila nanah dikeluarkan. Infeksi akan lebih berat jika bakteri ini menyerang anak-anak, usia lanjut dan orang yang daya tahan tubuhnya menurun seperti penderita luka bakar dan diabetes mellitus (Jawetz *et al.* 2010).

F. Antibakteri

1. Definisi

Antibakteri merupakan zat yang dapat mengganggu pertumbuhan atau bahkan mematikan bakteri dengan cara mengganggu metabolisme mikroba yang merugikan. Suatu zat antibakteri yang ideal harus memiliki toksisitas yang rendah

pada manusia yang berarti obat tersebut berbahaya bagi bakteri patogen tetapi tidak membahayakan tuan rumah (Menon & Arif 2017).

2. Mekanisme kerja antibakteri

Mekanisme kerja antibakteri merupakan proses penghambatan pertumbuhan bakteri oleh senyawa antibakteri. Berdasarkan mekanismenya antibakteri dibagi menjadi 5 kelompok yaitu menghambat sintesis dinding sel bakteri, menghambat fungsi membran sel, menghambat sintesis protein sel bakteri, menghambat asam nukleat sel bakteri dan menghambat sintesis metabolit esensial (Pratiwi 2008).

2.1. Menghambat sintesis dinding sel bakteri. Dinding sel bakteri terdiri atas polipeptidoglikan yaitu suatu kelompok polimer mukopeptida (glikopeptida). Senyawa antibakteri dapat menghambat sintesis peptidoglikan karena kemampuan dari senyawa tersebut dalam menghambat pembentukan enzim-enzim yang berperan dalam pembentukan peptidoglikan seperti karboksipeptidase, endopeptidase, dan transpeptidase sehingga enzim autolitik sebagai reseptor hilang dan enzim tidak dapat mengendalikan aktivitasnya sehingga dinding sel bakteri akan mengalami degradasi. Contoh antibiotik golongan ini antara lain sefalosporin, vankomisin, basitrasin dan penisilin (Pratiwi 2008).

2.2. Menghambat fungsi membran sel bakteri. Membran sel bakteri berfungsi sebagai penghalang yang selektif, menjalankan fungsi transpor aktif, menahan beberapa zat yang larut dan meloloskan zat-zat yang terlarut lainnya. Rusaknya membran sel bakteri akan menyebabkan keluarnya makromolekul ion-ion sehingga menyebabkan kematian bakteri. Beberapa contoh antibiotik yang bekerja menghambat fungsi membran sel adalah polimiksin bekerja dengan merusak membran sel yang berisi fosfatidiletanolamin (komponen utama penyusun membran sel bakteri), daptomisin bekerja dengan membentuk ikatan pada membran sel dan menyebabkan depolarisasi sehingga menurunkan kemampuan membran sel bakteri (Radji 2010).

2.3. Menghambat sintesis protein sel bakteri. Sintesis protein sel bakteri berlangsung di dalam ribosom dengan bantuan mRNA. Mekanisme kerja antibakteri adalah menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA pada

waktu sintesis protein sehingga terbentuk protein abnormal dan nonfungsional bagi sel bakteri. Contoh antibakteri yang memiliki mekanisme menghambat sintesis protein sel bakteri yaitu eritromisin, linkomisin, tetrasiklin, gentamisin, aminoglikosida dan kloramfenikol (Radji 2010).

2.4. Menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri. Salah satu mekanisme kerja yang dimiliki oleh antibakteri ini adalah menghambat transkripsi dan replikasi mikroorganisme. Contohnya adalah rifampisin bekerja dengan membentuk ikatan dengan enzim β -RNA polimerase sehingga menghambat transkripsi mRNA. Contoh antibakteri lain yaitu kuinolon dan asam nalidixat (Pratiwi 2008).

2.5. Menghambat sintesis metabolit esensial. Salah satu mekanisme kerja yang dimiliki oleh antibakteri ini adalah menghambat pembentukan asam folat, bakteri membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya. Bakteri memperoleh asam folat dengan mensintesis *para-aminobenzoic acid* (PABA). Contohnya adalah sulfonamid (*sulfa drug*) bekerja bersaing dengan PABA dalam pembentukan asam folat sehingga terbentuk analog asam folat nonfungsional (Pratiwi 2008).

G. Uji Aktivitas Antibakteri

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

1. Metode difusi

Metode difusi menggunakan piringan atau cakram disk yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media agar yang sebelumnya telah ditanami mikroorganisme sehingga agen antimikroba dapat berdifusi pada media agar tersebut. Area bening pada permukaan media agar menunjukkan adanya kemampuan menghambat pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba (Pratiwi, 2008). Ukuran dari zona hambatan dapat dipengaruhi oleh kepadatan atau viskositas dari media biakan, konsentrasi antibiotik pada cakram, kecepatan difusi

antibiotik, sensitivitas organisme terhadap antibiotik, dan interaksi antibiotik dengan media. Metode difusi merupakan prosedur sederhana untuk menyelidiki apakah zat yang diuji mempunyai aktivitas antibiotik yang berguna (Harmita & Radji 2008).

Keuntungan metode difusi adalah cepat, praktis, dan dapat digunakan untuk menguji beberapa agen antimikroba dalam menghambat pertumbuhan mikroba. Kerugian dari metode ini adalah tidak dapat mengukur secara kuantitatif konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) (Harmita & Radji 2008).

2. Metode dilusi

Penggunaan metode dilusi bertujuan untuk menentukan konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM). Mulanya dilakukan pembuatan seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang dimasukkan mikroba. Larutan uji agen antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat bening ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang sudah ditetapkan sebagai KHM kemudian dikultur ulang pada medium padat tanpa dimasukkan mikroba uji kemudian diinkubasi. Konsentrasi terkecil pada medium yang tetap jernih setelah diinkubasi 18-24 jam ditetapkan sebagai KBM (Pratiwi 2008).

Keuntungan metode dilusi adalah memberikan hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk menghambat atau membunuh bakteri. Kerugian metode dilusi yaitu dapat mempersulit pengamatan, membutuhkan alat yang banyak, dan tidak praktis (Jawetz *et al.* 2010).

H. Media

1. Pengertian media

Media merupakan suatu bahan yang terdiri atas campuran nutrisi yang dipakai untuk menumbuhkan mikroorganisme baik dalam mengkultur bakteri, jamur dan mikroorganisme lainnya. Media pertumbuhan mikroorganisme bisa berupa media padat, media semi padat dan media cair. Mikroorganisme memanfaatkan nutrisi berupa molekul-molekul kecil untuk menyusun komponen

sel. Pada media pertumbuhan dapat dilakukan isolat mikroorganisme menjadi kultur murni dan juga memanipulasi komposisi media pertumbuhannya Nutrisi yang dibutuhkan mikroorganisme untuk pertumbuhannya meliputi nitrogen, karbon, unsur non logam seperti sulfur dan fosfor, unsur logam seperti Ca, Na, Zn, Cu, K, Mn, Fe, dan Mg juga vitamin, air dan energi. Media harus mempunyai tekanan osmosa, tegangan permukaan dan pH yang sesuai dengan kebutuhan mikroba. Media harus dalam keadaan steril artinya sebelum ditanami mikroba uji tidak boleh ditumbuhi mikroba lain (Cappucino & Sherma 2014).

2. Klasifikasi Media

Menurut Sutarma (2000), kegunaan dan sifat-sifat media dapat digolongkan menjadi 6 klasifikasi yaitu berdasarkan sumber nutrisinya, bentuk fisik, komposisi kimia, perbedaan pertumbuhan bakteri, dapat menyeleksi atau menghambat bakteri, yang tak diinginkan serta dapat tidaknya menumbuhkan bakteri yang rewel.

2.1. Klasifikasi berdasarkan sumber nutrisinya. Media dibagi menjadi dua yaitu alamiah dan buatan. Media dengan sumber nutrisi alamiah contohnya susu, kentang, dan telur. Media dengan sumber nutrisi buatan contohnya *Agar Heart Infusion*, *Nutrien Agar Media* (Sutarma 2000).

2.2. Klasifikasi berdasarkan bentuk fisik. Media dibagi menjadi 3 yaitu cair, setengah padat, dan padat. Media dengan bentuk fisik cair berguna untuk membuat kultur baru contohnya *Nutrien broth* dan *triptosa broth*. Media dengan bentuk fisik setengah padat dibuat dengan tujuan agar pertumbuhan mikroba dapat menyebar keseluruh media tetapi tidak mengalami pencampuran sempurna jika tergoyang contohnya *Amies Transport Medium* dan *Stuarth Transport Medium*. Media dengan bentuk fisik padat berguna untuk mengisolasi biakan murni contohnya *Nutrient Agar* dan *Triptosa Agar* (Laboffe & Pierce 2011; Sutarma 2000).

2.3. Klasifikasi berdasarkan komposisi kimia. Media dibagi menjadi dua yaitu kompleks dan sintetik. Media dengan komposisi kimia kompleks contohnya *Muler Hinton Agar* dan *Nutrien Agar*. Media dengan komposisi sintetik yaitu *Dorset Henley* (Sutarma 2000)

2.4. Klasifikasi berdasarkan perbedaan pertumbuhan. Media diferensial berfungsi untuk menyeleksi suatu mikroba dari berbagai jenis dalam suatu lempengan agar. Media ini memiliki sifat dapat membedakan bakteri di dalam media. Contohnya *Eosin Methilen Blue Agar* dan *Mac Conkey Agar* (Sutarma 2000)

2.5. Klasifikasi berdasarkan seleksi. Media selektif memiliki sifat dapat memilih (selektif) bakteri yang ditumbuhkan sehingga hanya bakteri tertentu saja yang dapat tumbuh di media tersebut. Contohnya *Briliant Green Agar*, *Salmonella Shigella Agar*, dan *Bismuth Sulsulfite Agar* (Sutarma 2000).

2.6. Klasifikasi berdasarkan rewel (*fastidious*). Sifat media yang digunakan adalah diperkaya, berguna untuk menumbuhkan mikroba yang diperoleh dari lingkungan alami karena jumlah mikroorganisme yang ada terdapat dalam jumlah sedikit. Media diperkaya adalah media yang ditambahkan penyubur di dalamnya, penyubur yang biasa dipakai yaitu darah domba atau sapi, serum ayam atau sapi, dan suplemen tertentu. Contoh media diperkaya adalah *Blood Agar* dan *Serum Agar* (Sutarma 2000).

I. Sterilisasi

Sterilisasi merupakan proses penghilangan semua bentuk hidup terutama mikroorganisme (protozoa, jamur, bakteri, virus, mycoplasma) baik secara fisika, kimia, dan mekanik. Cara sterilisasi yang umum dilakukan adalah sterilisasi secara fisik yaitu pemanasan kering dan basah, dan penyinaran dengan sinar gelombang pendek seperti sinar UV. Sterilisasi secara mekanik yaitu dengan menggunakan saringan atau filter, biasanya digunakan untuk bahan yang akan mengalami perubahan atau penguraian akibat pemanasan tinggi atau tekanan tinggi. Sterilisasi secara kimia yaitu dengan penggunaan desinfektan, larutan alkohol, larutan formalin (Waluyo 2004).

Sterilisasi pemanasan kering bertujuan untuk membunuh organisme dengan cara mengoksidasi komponen sel atau mendenaturasi enzim, metode tersebut tidak dapat digunakan untuk bahan yang terbuat dari plastik atau karet. Waktu sterilisasi adalah 1-2 jam dan alat yang digunakan yaitu oven dengan suhu 160°C-180°C. Sterilisasi pemanasan basah yaitu dengan penggunaan autoklaf, proses sterilisasi

dengan autoklaf dapat membunuh mikroorganisme dengan mendenaturasi atau mengkoagulasi protein pada enzim dan membran sel mikroorganisme (Cahyani 2009). Media yang ingin digunakan terlebih dahulu disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Alat-alat seperti gelas ukur dan beaker glass disterilkan dengan oven pada 160°C-180°C selama 1-2 jam, dan alat seperti jarum ose disterilkan dengan menggunakan api langsung, inkas disterilisasi menggunakan formalin cair (Waluyo 2004).

J. Siprofloksasin

Siprofloksasin adalah antibiotik golongan fluorokuinolon merupakan obat bakterisidal yang kuat terhadap bermacam-macam mikroorganisme. Strukturnya berhubungan dengan asam nalidiksat tetapi mempunyai aktivitas antibakteri yang lebih besar dan spektrum yang lebih luas dibanding asam nalidiksat tersebut. Mekanisme kerja dari antibiotik ini adalah dengan menghambat sintesis asam nukleat dimana antibiotik golongan ini dapat masuk ke dalam sel dengan cara difusi pasif melalui porin pada membran luar bakteri secara intraseluler, secara unik obat ini mampu menghambat secara selektif sintesis asam deoksiribose nukleat (DNA) bakteri dengan memblok sub unit A enzim DNA-girase suatu tipe II topoisomerase dan topoisomerase IV yang diperlukan bakteri untuk replikasi DNA. Hambatan tersebut menyebabkan sintesa DNA bakteri terganggu, sehingga menyebabkan bakteri mati. Antibiotik ini digunakan untuk pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri Gram positif tertentu seperti *Staphylococcus sp* dan *Streptococcus sp* serta bakteri Gram negatif seperti *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella sp*, *Shigella sp*, *Enterobacter* dan *Pseudomonas aeruginosa* (Raini 2015).

K. Landasan Teori

Infeksi adalah invasi tubuh oleh mikroorganisme patogen seperti bakteri, virus, dan jamur yang mampu menyebabkan sakit (Radji 2010). Penyakit infeksi yang banyak diderita oleh masyarakat diantaranya infeksi usus yaitu diare, infeksi akut pernafasan, dan penyakit kulit yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* (Jawetz *et al.* 2012).

Pengobatan dengan antibiotik dapat memusnahkan bakteri penyebab infeksi, tetapi dapat menimbulkan permasalahan yaitu timbulnya bakteri yang resisten sehingga mendorong peneliti untuk mencari obat baru yang lebih efektif untuk penyakit infeksi (Saepudin *et al.* 2007). Antibiotik alami pada umumnya berasal dari metabolit sekunder yang diperoleh dari ekstrak suatu tanaman tertentu yang memiliki peranan sebagai obat. Obat tradisional dipercaya memiliki efek samping yang lebih ringan dibandingkan obat sintetik (Hambali *et al.* 2005). Salah satu tanaman obat yang telah digunakan secara empiris adalah tanaman karandas (*Carissa carandas* L.).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan ekstrak diklorometana daun karandas mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat sebesar 6 mm dan 11 mm (Verma & Hotam 2011). Penelitian lainnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% daun karandas konsentrasi 50% mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat sebesar 21,5 mm (Agarwal *et al.* 2012). Penelitian Verma dan Hotam (2011) menyatakan bahwa buah dan daun karandas mengandung senyawa jenis flavonoid, alkaloid, saponin, terpenoids, tanin, dan steroid. Penelitian lain menyatakan daun karandas mengandung senyawa triterpenoids, carissin, carandinol, tanin, asam oleanolic, asam ursolat, asam betulinat, stigmasterol, dan β -sitosterol (Siddiqui *et al.* 2003; Begum *et al.* 2013).

Alkaloid mempunyai aktivitas antibakteri melalui penghambatan sintesis dinding sel yang akan menyebabkan lisis pada sel sehingga sel akan mati (Nimah *et al.* 2012). Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler. Tanin bekerja dengan menghambat enzim *reverse* transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk. Saponin bekerja dengan menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar (Nuria *et al.* 2009). Triterpenoid bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga

mengakibatkan rusaknya porin dan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Cowan 1999). Steroid berpotensi sebagai antibakteri, senyawa ini memiliki polisakarida sehingga dapat menembus membran sel bakteri dan menyebabkan sel bakteri tersebut rusak atau mati (Nimah *et al.* 2012).

Fraksinasi adalah suatu cara untuk memisahkan komponen-komponen senyawa aktif dari ekstrak sesuai sifat kepolaran pelarut yang berbeda. Pelarut yang digunakan untuk fraksinasi dalam penelitian ini adalah *n*-heksana, kloroform, dan air. Pelarut *n*-Heksana merupakan pelarut yang bersifat nonpolar sehingga dapat menarik senyawa yang bersifat nonpolar seperti steroid triterpenoid dan karotenoid (Harborne 1987). Pelarut kloroform merupakan pelarut yang bersifat semipolar dapat melarutkan senyawa alkaloid, flavonoid, triterpenoid, saponin, dan steroid (Fajarullah *et al* 2018; Robinson 1995). Stigmasterol dan β -sitosterol merupakan senyawa golongan steroid (Nurcahyanti *et al* 2015) asam betulinat, asam oleanolic, dan asam ursolat merupakan senyawa golongan triterpenoid (Fontanay *et al* 2008). Air adalah pelarut yang sangat polar dapat melarutkan senyawa fenolik, garam alkaloid, glikosida, tanin (Depkes 1986)

Metode uji aktivitas antibakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode difusi dan dilusi. Penggunaan metode difusi bertujuan untuk skrining aktivitas antibakteri yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat (bening) sehingga dapat diketahui fraksi teraktifnya. Penggunaan metode dilusi bertujuan untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari fraksi teraktif dengan mengetahui kadar obat terendah yang mampu menghambat dan membunuh mikroorganisme yang diteliti (Pratiwi 2008).

L. Hipotesis

Pertama, ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksana, fraksi kloroform, dan fraksi air dari ekstrak etanol daun karandas mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, fraksi *n*-heksana, fraksi kloroform, dan fraksi air dari ekstrak etanol 70% daun karandas yang memiliki aktivitas antibakteri paling aktif terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 adalah fraksi kloroform.

Ketiga, fraksi teraktif dari ekstrak etanol daun karandas mempunyai nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) pada konsentrasi tertentu terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.