

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman kucai (*Allium schoenoprasum* L.)



Gambar 1. Tanaman daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.)
(Koleksi pribadi 2019)

1. Sistematika tanaman kucai (*Allium schoenoprasum* L.)

Klasifikasi secara lengkap tanaman kucai (*Allium schoenoprasum* L.) sebagai berikut :

Superdivisio	: Embryophyta
Divisio	: Tracheophyta
Classis	: Magnoliopsida
Subordo	: Liliales
Ordo	: Asparagales
Familia	: Amaryllidaceae
Genus	: <i>Allium</i> L.
Spesies	: <i>Allium schoenoprasum</i> L. (ITIS 2018).

2. Nama lain

Tanaman kucai disebut juga sebagai (*Allium schoenoprasum* L.) Beberapa daerah di Indonesia seperti Sumatera: Lokio (Melayu); ganda isi (Palembang). Jawa: Langkio, kucai (Sunda, Jawa). Pada negara lain seperti Chivet, cive garlic, chive (Inggris), patzia (Cekoslovakia), ciboullete (Perancis), schnittlauch (Jerman), cipoletta (Italia), cebollino (Spanyol), purlog (Denmark), bislook (Belanda) (BPOM RI 2008).

3. Morfologi tanaman

Daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.) umumnya memiliki tinggi 15 - 30 cm. Bercabang pada dasarnya. Helaian daun tipis dengan umbi berbentuk lonjong. Kulit umbi sangat tipis, putih. Batang bulat, biasanya bertekstur halus. Umbinya kecil, bulat memanjang, berwarna putih. Daun berbentuk seperti rumput, dengan ukuran panjang yang hampir sama. Kucai tumbuh di daerah pada ketinggian \pm 1700 m dpl. Kucai menyukai kondisi tanah yang basah dan bersuhu dingin. Penyebarannya meliputi Eropa Selatan, Iran, India dan Cina, Amerika Utara (New York sampai Colorado Selatan) dan Jepang (BPOM RI 2008).

Pada umumnya daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.) memiliki tinggi sekitar 15 - 50 cm, membentuk rumpun, dan berumbi. Daun beraroma tajam, berwarna hijau, ramping, pipih, dan memanjang. Bunga berwarna putih atau ungu (Andarwulan & Faradilla 2012).

Tanaman kucai diketahui berasal dari sebagian wilayah Amerika Utara dan Eropa Utara. Tanaman ini dikenal sebagai sayuran daun dari keluarga Lili (tanaman berumbi) dan biasa disajikan dalam irisan kecil - kecil. Kucai selain sebagai tanaman sayur, sering juga ditanam sebagai tanaman hias. Kucai dapat tumbuh pada berbagai jenis tanah. Pertumbuhannya akan sangat baik jika ditanam pada tanah yang agak dalam dan dipenuhi dengan kompos serta bahan organik (Andarwulan & Faradilla 2012).

Kucai dapat tumbuh di bawah panas matahari ataupun di tempat yang teduh. Musim kemarau tidak terlalu mempengaruhi perkembangan kucai karena masih memiliki bawang sebagai cadangan air. Sama seperti bawang, kucai mempunyai akar berbawang dan daun. Kucai dapat ditanam dari bijinya dan dikenal tanaman yang berumur panjang (perennial). Kucai dapat terus tumbuh hingga beberapa tahun jika keadaan tanahnya terus dijaga, yaitu tanah yang subur (Andarwulan & Faradilla 2012).

4. Kandungan Kimia

Daun kucai memiliki kandungan senyawa metabolit seperti alkaloid, saponin, tanin, flavonoid, dan triterpenoid/steroid yang diduga dapat bersifat sebagai antibakteri (Sinaga *et al.* 2018).

4.1 Alkaloid. Alkaloid adalah senyawa metabolit sekunder yang mengandung atom N heterosiklik, alkaloid umumnya dalam dosis kecil dapat memberikan aktivitas biologi yang cukup kuat. Alkaloid biasa diturunkan dari asam amino serta banyak alkaloid yang bersifat racun, alkaloid juga banyak ditemukan untuk pengobatan dan hampir semua alkaloid memiliki rasa yang pahit (Endarini 2016).

Mekanisme antibakteri dari alkaloid yaitu dapat mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Darsana *et al.* 2012).

4.2 Saponin. Saponin adalah glikosida yang aglikonnya berupa sapogenin, glikosida saponin bisa berupa saponin steroid atau saponin triterpenoida yang tersebar luas diantara tanaman tinggi. Keberadaan saponin sangat mudah ditandai dengan pembentukan larutan koloidal dengan air jika digojog akan timbul buih yang stabil, dapat menghemolisis darah, memiliki rasa pahit dan bersifat racun bagi hewan berdarah dingin (Endarini 2016).

Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah mengganggu permeabilitas membran sel mikroba, yang mengakibatkan kerusakan membran sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel mikroba yaitu protein, asam nukleat, nukleotida dan lain-lain (Rahmawati 2014).

4.3 Tanin. Tanin merupakan senyawa yang terdapat luas dalam tumbuhan yang berpembuluh, tanin dapat bereaksi dengan protein yang membentuk kopolimer yang tidak larut dalam air. Sebagian besar tanaman yang banyak bertanin dihindari oleh hewan pemakan tanaman karena rasanya yang sepat. Salah satu fungsi utama tanin dalam tanaman yaitu penolak hewan pemakan tanaman (Endarini 2016). Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah menghambat enzim *reverse* transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Nuria *et al.* 2009).

4.4 Flavonoid. Flavonoid merupakan golongan senyawa fenolik (Rinawati 2011). Flavonoid di alam juga sering dijumpai dalam bentuk glikosidanya. Beberapa kemungkinan fungsi flavonoid yang lain bagi tumbuhan adalah sebagai zat pengatur tumbuh, pengatur proses fotosintesis, zat antimikroba, antivirus dan anti insektisida (Endarini 2016). Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membrane sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Nuria *et al.* 2009).

4.5 Triterpenoid/Steroid. Steroid merupakan golongan lipid yang diturunkan dari senyawa jenuh yang dinamakan siklopentanaperhidrofenantrena, yang memiliki inti dengan 4 cincin, beberapa turunan steroid yang penting adalah alkohol steroid/sterol. Triterpenoid banyak berupa alkohol atau asam karboksilat tanpa warna, berbentuk kristal, senyawa ini dianggap sebagai senyawa antara dalam biosintesis steroid (Radam & Purnamasari 2016).

Mekanisme steroid sebagai antibakteri berhubungan dengan membran lipid dan sensitivitas terhadap komponen steroid yang menyebabkan kebocoran pada liposom, steroid juga dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang bersifat permeabel terhadap senyawa - senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membran menurun serta morfologi membran sel berubah yang menyebabkan sel rapuh dan lisis (Sapara *et al.* 2016). Mekanisme triterpenoid dapat bereaksi dengan 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 yang akan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhannya akan terhambat atau mati (Amalia 2014).

5. Kegunaan tanaman

Salah satu tanaman di Indonesia yang sering digunakan sebagai bahan pengobatan alami yaitu daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.) yang telah diteliti dan diketahui memiliki kandungan yang diduga dapat bersifat sebagai antibakteri (Erviananingsih & Razak 2017)

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dikatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibedakan simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan (mineral). Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan ialah isi sel yang secara spontan keluar dari tumbuhan atau isi sel yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya, atau senyawa nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tumbuhannya dan belum berupa senyawa kimia murni (DepKes RI 2000).

2. Pengumpulan simplisia

Kualitas simplisia dipengaruhi oleh faktor bahan baku dan proses pembuatannya. Berdasarkan bahan bakunya, simplisia bisa diperoleh dari tanaman liar dan atau dari tanaman yang dibudidayakan, tahapan proses pembuatan simplisia yang pertama yaitu dengan pengumpulan bahan, pengumpulan bahan baku sangat menentukan kualitas bahan baku. Faktor yang paling berperan dalam tahapan ini adalah masa panen. Masa panen yang tepat adalah ketika bagian tanaman yang akan digunakan mengandung senyawa aktif dalam jumlah yang banyak (Gunawan & Mulyani 2004).

3. Pencucian dan pengeringan simplisia

Pencucian simplisia dilakukan untuk membersihkan kotoran yang melekat, terutama bahan-bahan yang berasal dari dalam tanah dan juga bahan - bahan yang tercemar pestisida. Pencucian bisa dilakukan dengan air yang berasal dari mata air, sumur, dan air ledeng (Gunawan & Mulyani 2004).

Proses pengeringan simplisia bertujuan untuk menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri, menghilangkan aktivitas enzim yang menguraikan kandungan zat aktif, memudahkan dalam hal pengelolaan proses selanjutnya (Gunawan & Mulyani 2004). Pengeringan bertujuan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak sehingga dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama. Penurunan kadar

air dapat menghentikan reaksi enzimatik sehingga dapat dicegah terjadinya penurunan mutu atau perusakan simplisia. Suhu pengeringan bergantung pada simplisia dan cara pengeringan. Pengeringan dapat dilakukan pada suhu 30 - 90 °C (terbaik 60 °C). Jika simplisia mengandung bahan aktif tidak tahan panas atau mudah menguap, pengeringan dilakukan pada suhu serendah mungkin, misalnya 30 - 40 °C atau dengan cara pengeringan vakum (Agoes 2009).

Proses pengeringan ada 2 macam cara yaitu dengan cara alamiah dan dengan menggunakan alat. Adapun cara yang alamiah yaitu dengan menggunakan sinar matahari langsung maupun tidak langsung. Pengeringan dapat menggunakan alat oven dengan suhu maksimum 60 °C (Gunawan & Mulyani 2004).

C. Ekstraksi

1. Pengertian ekstraksi

Ekstraksi adalah pemisahan secara kimia atau fisika suatu bahan padat atau bahan cair dari suatu padatan, yaitu tanaman obat. Biasanya proses ini menggunakan pelarut untuk mengekstraksi bahan tanaman. Ekstraksi umumnya disebut sebagai ekstraksi padat-cair, yang berlangsung dalam 2 proses yaitu proses pelepasan bahan yang diekstraksi melalui proses dari sel (tanaman) yang telah dirusak, dan pelepasan bahan yang diekstraksi melalui proses difusi (Agoes 2009).

2. Pengertian ekstrak

Ekstrak adalah sediaan yang diperoleh dengan cara ekstraksi tanaman obat dengan ukuran partikel tertentu dan menggunakan medium pengekstraksi tertentu (Agoes 2009).

3. Maserasi

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana, maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam pelarut yang sesuai sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan diluar dan didalam sel. Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung zat yang mengembang dalam cairan penyari, tidak mengandung benzoin, sitrat dan lain-lain (DepKes RI 1986).

Pada umumnya maserasi dilakukan dengan cara 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok dimasukkan kedalam bejana, kemudian dituangi dengan 75 bagian cairan penyari, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya, sambil berulang ulang diaduk. Setelah 5 hari diserikai, ampas diperas. Ampas ditambah cairan penyari secukupnya diaduk dan diserikai, sehingga diperoleh seluruh sari sebanyak 100 bagian. Bejana ditutup, dibiarkan ditempat sejuk, terlindung cahaya matahari, selama 2 hari. Kemudian endapan dipisahkan (DepKes RI 1986).

4. Fraksinasi

Fraksinasi merupakan suatu cara untuk memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan utama yang lainnya berdasarkan perbedaan kepolaran suatu senyawa. Jumlah dan jenis senyawa yang telah dipisahkan akan menjadi fraksi yang berbeda, pelarut dimulai dengan non polar, kemudian disari dengan pelarut semi polar dan selanjutnya dengan pelarut polar (Harborne 2006).

5. Pelarut

Pemilihan pelarut harus mempertimbangkan banyak faktor. Pelarut yang baik adalah murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap, dan tidak mudah terbakar, selektif yaitu hanya menarik zat berkhasiat yang dikehendaki, tidak mempengaruhi zat yang berkhasiat (Depkes RI 1986).

5.1. Etanol. Etanol merupakan pelarut yang tidak menyebabkan pembengkakan membran sel dan memperbaiki stabilitas bahan pelarut. Keuntungan lainnya etanol 70% dapat menghasilkan suatu bahan aktif yang optimal dan bahan pengotornya hanya berskala kecil larut dalam cairan pengekstraksinya (Voight 1994).

Etanol dipertimbangkan sebagai cairan penyari karena lebih efektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% ke atas, tidak beracun, netral, absorbsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, panas yang diperlakukan untuk pemekatan lebih sedikit. Etanol dapat melarutkan alkaloid, minyak menguap, glikosida, kurkumin, kumarin, antrakuinon, flavonoid, steroid, damar dan klorofil. Lemak, tanin dan saponin hanya sedikit larut,

sehingga zat pengganggu yang larut hanya terbatas. Kerugian etanol adalah harganya yang mahal (Sa'adah & Nurhasnawati 2015).

5.2. Air. Air merupakan pelarut *universal*, digunakan untuk mengekstrak produk tanaman yang memiliki aktivitas antimikroba, meskipun ekstrak tumbuhan dari pelarut organik telah ditemukan memberikan aktivitas antimikroba yang lebih konsisten dibandingkan dengan ekstrak air. Flavonoid larut air (kebanyakan antosianin) tidak memiliki signifikansi antimikroba dan fenolat yang larut dalam air hanya penting sebagai senyawa antioksidan (Tiwari *et al.* 2011). Air dipertimbangkan sebagai cairan penyari karena murah, mudah diperoleh, stabil, tidak beracun, tidak mudah menguap dan mudah terbakar. Kerugian air adalah sari dapat ditumbuhi kapang (Sa'adah & Nurhasnawati 2015). Senyawa yang dapat larut dalam pelarut air adalah garam alkaloid, minyak menguap, glikosida, gula, pati, protein, lilin, lemak pektin, saponin, dan tanin (DepKes RI 1986).

5.3. *n*-heksana. *n*-heksana merupakan Pelarut yang memiliki indeks polaritas 0 melarutkan senyawa yang bersifat lipofilik seperti alkana, lilin, pigmen warna, sterol, beberapa terpenoid, dan alkaloid (Yusnawan 2013).

5.4. Etil asetat. Etil asetat merupakan pelarut dengan toksisitas rendah yang bersifat semi polar sehingga diharapkan dapat menarik senyawa yang bersifat polar maupun nonpolar seperti golongan alkaloid, flavonoid, tanin, polifenol, dan triterpenoid (Putri *et al.* 2013).

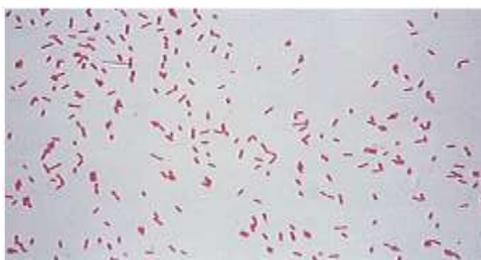
D. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi merupakan suatu proses pemisahan yang mana analit – analit dalam sampel terdistribusi antara 2 fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam dapat berupa padat atau dalam bentuk molekul kecil, atau pada dinding kolom terdapat lapisan bentuk cairan. Fase gerak dapat berupa gas atau cairan, jika menggunakan gas dalam fase gerak maka disebut kromatografi gas dan jika menggunakan fase gerak cair disebut kromatografi cair atau kromatografi lapis tipis (Rohman 2009).

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan kromatografi serapan tetapi dapat juga merupakan kromatografi partisi karena bahan penyerap telah dilapisi

air dari udara, KLT menggunakan peralatan yang sedikit, murah, mudah, analisis cepat dan daya pemisahan yang baik (Sudjadi 1988). KLT memberikan fleksibilitas yang lebih besar dalam memilih fase gerak, KLT dapat digunakan dengan mudah dan dapat dihentikan saja, semua komponen dapat dideteksi dalam sampel. Fase diam yang sering digunakan dalam KLT yaitu silika dan serbuk selulosa, mekanisme perpindahan solut dari fase diam ke fase gerak atau sebaliknya adalah partisi dan adsorpsi. Fase gerak yang digunakan harus mempunyai kemurnian yang sangat tinggi, daya elusi fase gerak harus diatur sedemikian rupa sehingga harga R_f solut terletak antara 0,2 – 0,8 untuk memaksimalkan pemisahan, untuk pemisahan menggunakan fase diam silika gel, polaritas fase gerak menentukan nilai R_f dan untuk meningkatkan nilai R_f dapat menambahkan pelarut yang bersifat sedikit polar seperti dietil eter ke dalam pelarut non polar seperti metil benzen (Rohman 2009).

E. *Pseudomonas aeruginosa*



Gambar 2. *Pseudomonas aeruginosa* pada pewarnaan Gram (Kuswiyanto 2018).

1. Sistematika *Pseudomonas aeruginosa*

Sistematika bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sebagai berikut:

Phylum	: Proteobacteria
Classis	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Pseudomonadales
Famillia	: Pseudomonadaceae
Genus	: Pseudomonas
Species	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Kuswiyanto 2018).

2. Morfologi bakteri

Pseudomonas aeruginosa tersebar luas di alam dan biasanya ditemukan pada lingkungan yang lembab di rumah sakit. Bakteri tersebut membentuk koloni yang bersifat saprofit, pada manusia sehat, tetapi menyebabkan penyakit pada manusia dengan pertahanan tubuh yang tidak adekuat (Brooks *et al.* 2014). *Pseudomonas* merupakan bakteri Gram – negatif berbentuk batang lurus atau lengkung, berukuran sekitar 0,6 x 2 µm. Bakteri ini dapat ditemukan satu – satu, berpasangan, dan kadang – kadang mempunyai selubung, serta mempunyai flagel monotrika (flagel tunggal pada kutub) sehingga selalu bergerak (Kuswiyanto 2018).

2.1 Organisme tipikal. *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri berbentuk batang dan motil, berukuran sekitar 0,6 x 2 µm. Bakteri ini bersifat gram negatif dan tampak dalam bentuk tunggal, berpasangan, dan kadang-kadang rantai pendek (Brooks *et al.* 2014).

2.2 Kultur. *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri obligat aerob yang mudah tumbuh pada berbagai medium kultur. Beberapa galur menghemolisis darah. *Pseudomonas aeruginosa* membentuk koloni yang bundar dan licin dengan warna kehijauan yang berfluoresensi. Bakteri ini sering menghasilkan pigmen kebiruan yang tidak berfluoresensi, piosianin yang

berdifusi ke dalam agar. Spesies *Pseudomonas aeruginosa* lainnya tidak menghasilkan piosianin (Brooks *et al.* 2014).

2.3 Karakteristik pertumbuhan. *Pseudomonas aeruginosa* tumbuh dengan baik pada suhu 37 – 42 °C, bersifat oksidase - positif. Identifikasi *Pseudomonas aeruginosa* biasanya didasarkan pada morfologi koloni, kepositifan oksidase ditandai adanya pigmen khas dan pertumbuhan pada suhu 42 °C. Pembedaan *Pseudomonas aeruginosa* dari *Pseudomonas* lainnya yang berdasarkan aktivitas biokimia memerlukan pengujian dengan berbagai substrat (Brooks *et al.* 2014).

3 Fisiologi bakteri

Pseudomonas aeruginosa adalah bakteri aerob obligat yang tumbuh dengan mudah pada banyak jenis media biakan karena memiliki kebutuhan nutrisi yang

sederhana, *Pseudomonas aeruginosa* tumbuh dengan baik pada suhu 37– 42 °C, pertumbuhan pada suhu 42 °C membantu membedakannya dari spesies pseudomonas yang lain dalam kelompok fluoresen. *Pseudomonas aeruginosa* tergolong oksidase positif tetapi banyak strain mengoksidasi glukosa. *Pseudomonas aeruginosa* menghasilkan satu atau lebih pigmen yang dihasilkan dari asam amino aromatik seperti firosin dan fenilalanin (pirosianin berwarna biru pigmennya, pioverdin berwarna kuning, Plorubin, berwarna merah dan piomelanin berwarna coklat) (Kuswiyanto 2018).

4 Patogenesis

kemampuan *Pseudomonas aeruginosa* menyerang jaringan pada produksi enzim dan toksin yang merusak barrier tubuh dan sel inang, *Pseudomonas aeruginosa* bersifat patogen hanya jika memasuki daerah dengan sistem pertahanan yang tidak normal, misalnya saat membran mukosa dan kulit robek karena kerusakan jaringan langsung (Kuswiyanto 2018). *Pseudomonas aeruginosa* menjadi patogenik hanya jika mencapai daerah yang tidak memiliki pertahanan normal, bakteri melekat dan membentuk koloni pada membran mukosa atau kulit, menginvasi secara lokal, dan menyebabkan penyakit sistemik. Proses tersebut dibantu oleh pili, enzim, dan toksin yang telah disebutkan sebelumnya. *Pseudomonas aeruginosa* dan Pseudomonas lain resisten terhadap banyak obat antimikroba sehingga bakteri ini menjadi dominan dan penting ketika bakteri flora normal yang lebih sensitif tertekan (Brooks *et al.* 2014).

5 Pengobatan

Upaya pencegahan meliputi eliminasi sumber potensial bakteri dan perawatan segera terhadap luka, pembuangan secara hati – hati jaringan mati pada luka bakar, diikuti penggunaan krim antibakteri. Menjaga jumlah neutrofil tetap diatas 500/ μ L, merupakan salah satu usaha untuk membatasi infeksi pada pasien dengan penurunan sistem imun. Strain *Pseudomonas aeruginosa* umumnya peka terhadap penisilin anti *Pseudomonas* (karbenisilin, tikarsilin, piperasilin, ezlosilin dan azlosilin), sefalosporin (sefoperazon, sefotaksim dan seftazidim), dan aminoglikosida (gentamisin, tobramisin dan amikasin), juga senyawa karboksikuinolon terfluor (siprofloksasin) (Kuswiyanto 2018).

F. Antibakteri

1. Pengertian antibakteri

Antibakteri merupakan suatu senyawa organik alami atau sintetik yang dapat menghambat atau merusak bakteri tertentu (selektif), umumnya pada konsentrasi terendah. Beberapa istilah yang digunakan untuk menjelaskan proses pembasmian bakteri yaitu germasid, bakterisid, bakteristatik, antiseptik, desinfektan (Brooks *et al.* 2014).

Germasid adalah bahan yang dipakai untuk membasmi mikroorganisme dengan mematikan sel – sel vegetatif, tetapi tidak selalu mematikan bentuk sporanya. Bakteristatik adalah suatu bahan yang mempunyai kemampuan untuk menghambat atau membunuh mikroorganisme dengan mencegah pertumbuhan atau menghambat aktivitas metabolisme, digunakan pada jaringan hidup. Desinfektan adalah bahan yang dipakai untuk mematikan sel vegetatif pada mikroorganisme patogen tapi belum tentu beserta sporanya, digunakan pada benda mati (Pelczer & Chan 1988).

2. Mekanisme kerja antibakteri

2.1 Penghambatan sintesis dinding sel. Dinding sel bakteri terdiri dari peptidoglikan yaitu suatu polimer kompleks mukopeptida (glikopeptida), struktur dinding sel dapat dirusak dengan menghambat proses sintesis dinding sel, karena adanya tekanan osmotik dalam sel bakteri lebih tinggi daripada diluar sehingga terjadi kerusakan dinding sel yang menyebabkan lisis. Contoh: penisillin sefalosporin, basitrasin vankomisin dan sikloserin (Ganiswarna *et al.* 1995).

2.2 Mengganggu keutuhan membran sel bakteri. Antimikroba dapat merusak membran sel setelah bereaksi dengan fosfat pada fosfolipid membran sel bakteri, selaput sel berguna sebagai penghalang yang selektif, meloloskan beberapa zat yang terlarut dan menahan zat – zat yang terlarut lainnya. Kerusakan beberapa membran sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dalam sel mikroba yaitu protein, asam nukleat, nukleotida dan lainnya. Contoh : polimiksin (Ganiswarna *et al.* 1995).

2.3 Penghambatan sintesis protein. Bakteri perlu mensintesis berbagai protein untuk kelangsungan hidupnya. Sintesis protein berlangsung di ribosom

dengan bantuan mRNA dan tRNA. Pada bakteri ribosom terdiri atas 2 sub unit yaitu 30S dan 50S, untuk berfungsi pada sintesis protein 2 sub unit bersatu pada pangkal rantai mRNA menjadi ribosom 70S. Antibakteri bekerja dalam menyebabkan kode mRNA yang salah dibaca tRNA pada sintesis protein abnormal dan fungsional bagi sel mikroba. Contoh: streptomisin, eritromisin, linkomisin, tetrasiklin (Ganiswarna *et al.* 1995).

2.4 Penghambatan sintesis asam nukleat. Contoh pada rifampisin yang berkaitan dengan enzim polimerase RNA sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA sel mikroba begitu juga dengan golongan kuinolon yang menghambat enzim DNA girase pada bakteri yang berfungsi sebagai membentuk kromosom yang sangat panjang menjadi bentuk spiral hingga bisa memuat sel kuman bakteri kecil sekalipun. (Ganiswarna *et al.* 1995).

2.5 Penghambatan metabolisme sel bakteri. Bakteri membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya, bakteri patogen harus mensintesis sendiri asam folat dari Asam Para Amino Benzoat (PABA) untuk kebutuhan hidupnya. Antibakteri bila bersaing dengan PABA untuk diikutsertakan dalam pembuatan asam folat, maka terbentuk analog asam folat nonfungsional, sehingga kebutuhan akan asam folat tidak terpenuhi, hal ini bisa menyebabkan bakteri mati. Contoh: sulfonamid dan PABA (Ganiswarna *et al.* 1995).

3. Uji aktivitas antibakteri

Pada uji ini diukur respon pertumbuhan populasi mikroorganisme terhadap agen antimikroba. Tujuan assay antimikroba untuk menentukan potensi dan kontrol kualitas selama proses produksi senyawa antimikroba. Kegunaan uji antimikroba adalah diperolehnya suatu sistem pengobatan yang efektif dan efisien. Metode uji antimikroba ada berbagai macam, antara lain:

3.1 Metode Difusi

3.1.1 Metode *disc diffusion* (tes Kirby & Bauer) 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).

3.1.2 E-test. Metode ini digunakan untuk mengestimasi MIC (*minimum inhibitory concentration*) atau KHM (kadar hambat minimum), yaitu konsentrasi minimal suatu agen antimikroba untuk dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Pada metode ini digunakan strip plastik yang mengandung agen antimikroba dari kadar terendah hingga tertinggi dan diletakkan pada permukaan media Agar yang telah ditanami mikroorganisme. Pengamatan dilakukan pada area yang jernih yang menunjukkan kadar agen antimikroba yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada media Agar (Pratiwi 2008).

3.1.3 Ditch-plate technique. Pada metode ini sampel uji berupa agen antimikroba yang diletakkan pada parit yang dibuat dengan cara memotong media Agar dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur dan mikroba uji (maksimum 6 macam) digoreskan ke arah parit yang berisi agen antimikroba (Pratiwi 2008).

3.1.4 Cup-plate technique. Metode ini serupa dengan metode *disc diffusion*, dimana dibuat sumur pada media Agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antimikroba yang akan diuji (Pratiwi 2008).

3.1.5 Gradient-plate technique. Pada metode ini konsentrasi agen antimikroba pada media Agar secara teoritis bervariasi dari 0 hingga maksimal. Media agar dicairkan dan larutan uji ditambahkan. Campuran kemudian dituang ke dalam cawan Petri dan diletakkan dalam posisi miring. Nutrisi kedua selanjutnya dituang di atasnya. Plate diinkubasi selama 24 jam untuk memungkinkan agen antimikroba berdifusi dan permukaan media mengering. Mikroba uji (maksimal 6 macam) digoreskan pada arah mulai dari konsentrasi tinggi ke rendah. Hasil diperhitungkan sebagai panjang total pertumbuhan mikroorganisme maksimum yang mungkin dibandingkan dengan panjang pertumbuhan hasil goresan (Pratiwi 2008).

3.2 Metode Dilusi. Metode dilusi dibedakan menjadi dua yaitu dilusi cair (*broth dilution*) dan dilusi padat (*solid dilution*).

3.2.1 Metode dilusi cair/ *broth dilution test (serial dilution)*. Metode ini mengukur MIC (*minimum inhibitory concentration* atau kadar hambat minimum, KHM) dan MBC (*minimum bactericidal concentration* atau kadar bunuh minimum, KBM). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba 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 inkubasi ditetapkan sebagai KBM (Pratiwi 2008)

3.2.2 Metode dilusi padat/*solid dilution test*. Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat (*solid*). Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Pratiwi 2008).

G. Media

1. Pengertian media

Media adalah bahan untuk menumbuhkan mikroorganisme dan tumbuh di dalam atau di atas media. Media yang digunakan harus steril dan pH harus sesuai dengan kebutuhan mikroba. Media harus dalam keadaan steril, artinya sebelum ditanami mikroba yang dimaksud, tidak ditumbuhi oleh mikroba lain yang tidak diharapkan. Media ada beberapa macam menurut bentuk, sifat, dan susunannya yang ditentukan oleh senyawa penyusun media, prosentase campuran, dan tujuan penggunaan. Media juga digunakan untuk isolasi, identifikasi maupun diferensiasi (Suriawiria 2005).

2. Jenis-jenis media pertumbuhan bakteri

2.1. Media sintetik. Media ini digunakan untuk menumbuhkan bakteri kemo heterotrof. Pada uji kadar vitamin secara mikrobiologis, media yang digunakan mengandung faktor pertumbuhan yang dibutuhkan oleh bakteri kecuali vitamin yang diuji. Pertumbuhan bakteri sebanding dengan kadar asam laktat yang

dihasilkan bakteri akan sebanding dengan jumlah vitamin dalam bahan uji (Radji 2011).

2.2. Media kompleks. Media ini mengandung nutrisi tinggi, yang terdiri atas ekstrak ragi, ekstrak daging, tumbuhan, ataupun protein dari sumber lain. Vitamin, mineral, dan bahan organik diperoleh dari ekstrak daging atau ragi yang merupakan sumber nutrisi untuk pertumbuhan bakteri. Media kompleks yang berbentuk cairan disebut *nutrient broth*, sedangkan yang ditambahkan media agar disebut *nutrient agar* (Radji 2011).

2.3. Media biakan khusus. Media ini digunakan untuk menentukan tipe pertumbuhan mikroba dan kemampuannya untuk mengadakan perubahan kimia tertentu. Bakteri aerob membutuhkan O₂ dengan konsentrasi lebih tinggi ataupun lebih rendah dari pada konsentrasi CO₂ di udara (Radji 2011).

2.4. Media selektif dan diferensial. Media selektif dan diferensial digunakan untuk mendeteksi ada tidaknya bakteri spesifik yang berhubungan dengan penyakit. Media selektif digunakan untuk menekan pertumbuhan bakteri yang tidak diinginkan, contoh *Bismuth Sulfite Agar* digunakan untuk mengisolasi bakteri *Salmonella Typi* pada tinja, media *Salmonella Shigella Agar* untuk mengisolasi bakteri *Staphylococcus aureus*. Media diferensial memudahkan perbedaan koloni bakteri yang diinginkan dari koloni lain yang tumbuh pada lempeng media yang sama (Radji 2011).

2.5. Media anaerob. Bakteri anaerob ditanam pada media spesial yang menggunakan natrium trioglikolat. Media ini sebelum digunakan dipanaskan perlahan-lahan untuk oksigen yang terserap dihilangkan. Bejana anaerob digunakan untuk menginkubasi bakteri anaerob yang diinokulasikan dalam media agar di dalam cawan petri (Radji 2011).

2.6. Media pengayaan. Media yang digunakan untuk pengayaan biakan bakteri biasanya dalam bentuk media cair, media ini hampir sama dengan media selektif, tetapi dirancang untuk memperbanyak tipe bakteri yang diinginkan sehingga dapat dideteksi, media pengayaan juga digunakan untuk mendukung pertumbuhan bakteri tertentu di dalam biakan campuran (Radji 2011).

H. Sterilisasi

Sterilisasi merupakan suatu proses yang dapat menghancurkan semua bentuk kehidupan, suatu benda yang steril dari sudut mikrobiologi artinya bebas dari mikroorganisme hidup. Suatu benda atau substansi hanya dapat steril atau tidak steril, tidak akan pernah mungkin setengah steril atau hampir steril (Pelczar & Chan 1988).

Metode sterilisasi dibagi menjadi 3 yaitu sterilisasi secara fisik, kimia dan mekanik. Sterilisasi secara fisik dipakai bila sterilisasi dengan bahan kimia tidak akan berubah akibat temperatur tinggi, cara membunuh mikroba ini dengan memakai panas untuk mendenaturasi protein, enzim dan membran sel, sterilisasi fisik pemanasan basah menggunakan alat autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit, sterilisasi pemanasan kering menggunakan oven pada suhu 160 – 180 °C selama 1 – 2 jam. Sterilisasi secara kimia menggunakan bahan – bahan kimia yang bersifat antiseptik untuk mensterilkan bahan dan sterilisasi mekanik digunakan untuk bahan yang yang akibat pemanasan tinggi mengalami perubahan atau penguraian, alat yang digunakan adalah saringan (filter Chamberland, filter Seitz dan filter Berckfeld) (Waluyo 2004).

I. Gentamisin

Aminoglikosida merupakan sekelompok obat yang memiliki kesamaan sifat kimiawi, antimikroba, farmakologis, dan toksik. Golongan aminoglikosida dapat menghambat sintesis protein bakteri dan menghambat fungsi dari subunit 30S ribosom bakteri, golongan aminoglikosida yaitu streptomisin, neomisin, kansimisin, amikasin, gentamisin, fobramisin, sisomisin, netilmisin, dan lain - lain. Gentamisin bersifat bakterisidal bagi banyak bakteri Gram positif dan Gram negatif, termasuk banyak galur *Proteus*, *Serratia*, dan *Pseudomonas*. Gentamisin tidak efektif terhadap *Streptococcus* dan *Bacteroides*. Gentamisin telah digunakan pada infeksi berat oleh bakteri Gram negatif yang resisten terhadap obat – obat lain, memiliki sifat toksik pada kondisi terganggunya fungsi ginjal, gentamisin 0,1% telah digunakan secara topikal dalam bentuk krim atau larutan untuk luka bakar terinfeksi atau lesi kulit (Brooks *et al.* 2014).

J. Landasan Teori

Pseudomonas aeruginosa adalah bakteri Gram negatif, aerob, bergerak menggunakan flagel dan merupakan bakteri oportunistik (Yuliati 2017). Bakteri ini merupakan flora normal di dalam tubuh manusia, termasuk dalam famili *Pseudomonadaceae* dan mempunyai ukuran 0,5- 1 μm x 3-4 μm , mudah beradaptasi dan dapat tumbuh dalam lingkungan yang kekurangan sumber energi (Radji 2011).

Infeksi *Pseudomonas aeruginosa* menimbulkan penyakit diberbagai jaringan antara lain pada saluran pernapasan, mata, saluran kemih dan kulit (Yuliati 2017). *Pseudomonas aeruginosa* sering dihubungkan dengan penyakit nosokomial pada manusia, yaitu infeksi yang didapat di rumah sakit. Bakteri ini sering diisolasi dari penderita luka dan luka bakar yang berat (Radji 2011). Angka kejadian infeksi nosokomial di dunia disebabkan karena bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sekitar 10 - 15% dan sekitar 10 - 20% pada unit perawatan intensif (ICU), biasanya terjadi pada pasien sepsis, sistik fibrosis, luka bakar, dan infeksi luka (Rustini *et al.* 2016).

Pengobatan terhadap infeksi *Pseudomonas aeruginosa* dapat menggunakan antibiotik golongan aminoglikosida. Mekanisme kerja aminoglikosida dapat menghambat sintesis protein bakteri dan menghambat fungsi dari subunit 30S ribosom bakteri, golongan aminoglikosida yaitu streptomisin, neomisin, kansimisin, amikasin, gentamisin, fobramisin, sisomisin, netilmisin, dan lain - lain. Gentamisin bersifat bakterisidal bagi banyak bakteri Gram positif dan Gram negatif, termasuk banyak galur *Proteus*, *Serratia*, dan *Pseudomonas*. Gentamisin tidak efektif terhadap *Streptococcus* dan *Bacteroides*. Gentamisin telah digunakan pada infeksi berat oleh bakteri Gram negatif yang resisten terhadap obat – obat lain, memiliki sifat toksik pada kondisi terganggunya fungsi ginjal, gentamisin 0,1% telah digunakan secara topikal dalam bentuk krim atau larutan untuk luka bakar terinfeksi atau lesi kulit (Brooks *et al.* 2014).

Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) melaporkan lebih dari 80% populasi di dunia (hampir 5 miliar orang), masih menggunakan obat herbal dalam pengobatan penyakit. Sekitar seperempat obat diseluruh dunia berasal dari

tanaman, baik dari ekstrak maupun sintesis senyawa tanaman. Penelitian menunjukkan bahwa kecenderungan tinggi penggunaan obat herbal untuk membasmi infeksi adalah karena efek samping yang lebih rendah daripada obat kimia (Ghasemian *et al.* 2018).

Tanaman yang digunakan untuk upaya dalam pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* adalah daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.). Penelitian menunjukkan bahwa daun dari tanaman kucai positif memiliki kandungan alkaloid, saponin, tanin, triterpenoid/steroid, dan flavonoid (Sinaga *et al* 2018). Daun kucai diduga memiliki aktivitas sebagai antibakteri, sifat antibakteri ekstrak etanol dari daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.) berdasarkan penelitian sebelumnya telah diuji terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, yang bersifat Gram negatif, dan terbukti dapat menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro*. Pada ekstrak etanol daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.) pada konsentrasi 0,05 g/mL memiliki daya hambat sebesar (10 mm), pada konsentrasi 0,1 g/mL memiliki daya hambat sebesar (15 mm), sedangkan pada konsentrasi 0,2 g/mL dan konsentrasi 0,4 g/mL resisten (Krishnan & Nair 2016). Penelitian lain yang dilakukan Purba (2017) membuktikan bahwa Ekstrak etanol dan fraksi daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.) memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Ekstrak etanol memberikan nilai KHM 25 mg/ml pada bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Fraksi *n*-heksana tidak memberikan daya hambat pada *Escherichia coli* tetapi memberikan nilai KHM 300 mg/ml pada bakteri *Staphylococcus aureus*. Fraksi etil asetat memberikan nilai KHM 5 mg/ml pada bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Fraksi sisa memberikan nilai KHM 200 mg/ml pada bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Ekstraksi adalah pemisahan secara kimia atau fisika suatu/sejumlah bahan padat atau bahan cair dari suatu padatan, yaitu tanaman obat. Biasanya proses ini menggunakan pelarut untuk mengekstraksi bahan tanaman. Ekstraksi umumnya disebut sebagai ekstraksi padat-cair, yang berlangsung dalam 2 proses yaitu proses pelepasan bahan yang diekstraksi melalui proses dari sel (tanaman) yang

telah dirusak, dan pelepasan bahan yang diekstraksi melalui proses difusi (Agoes 2009).

Fraksinasi merupakan suatu cara untuk memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan utama yang lainnya berdasarkan perbedaan kepolaran suatu senyawa. Jumlah dan jenis senyawa yang telah dipisahkan akan menjadi fraksi yang berbeda, pelarut dimulai dengan non polar, kemudian disari dengan pelarut semi polar dan selanjutnya dengan pelarut polar (Harborne 2006). Etanol merupakan pelarut serba guna untuk ekstraksi pendahuluan, penggunaan pelarut dalam penelitian ini yaitu menggunakan etanol 70%, pelarut ini tidak menyebabkan pembengkakan membran sel, memperbaiki stabilitas bahan pelarut. Keuntungan lainnya etanol 70% biasanya dapat menghasilkan suatu bagian aktif yang optimal, bahan pengotornya hanya berskala kecil larut dalam cairan pengestraksinya (Voight 1994). Air merupakan pelarut *universal*, digunakan untuk mengekstrak produk tanaman yang memiliki aktivitas antimikroba, meskipun ekstrak tumbuhan dari pelarut organik telah ditemukan memberikan aktivitas antimikroba yang lebih konsisten dibandingkan dengan ekstrak air. Flavonoid larut air (kebanyakan antosianin) tidak memiliki signifikansi antimikroba dan fenolat yang larut dalam air hanya penting sebagai senyawa antioksidan (Tiwari *et al.* 2011). *n*-Heksana merupakan pelarut yang memiliki indeks polaritas 0 melarutkan senyawa yang bersifat lipofilik seperti alkana, lilin, pigmen warna, sterol, beberapa terpenoid, dan alkaloid (Yusnawan 2013). Etil asetat merupakan pelarut dengan toksisitas rendah yang bersifat semi polar sehingga diharapkan dapat menarik senyawa yang bersifat polar maupun nonpolar (Putri *et al.* 2013).

Pengujian aktivitas bakteri ini menggunakan metode difusi dan dilusi. Metode difusi bertujuan untuk melihat potensi antimikroba yang paling efektif berdasarkan luasnya zona hambat pertumbuhan bakteri akibat berdifusinya senyawa uji dari titik pemberian ke daerah difusi. Metode dilusi bertujuan mencari Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Prinsip metode dilusi adalah senyawa uji diencerkan hingga diperoleh berbagai macam konsentrasi. Tabung yang mengandung senyawa uji dan suspensi bakteri

pada kadar kecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan bakteri uji ditetapkan sebagai KHM. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan dengan cara tabung media yang jernih diinokulasi secara goresan pada media selektif diinkubasi pada suhu kamar 37 °C selama 18 - 24 jam. Hasil dari konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditunjukkan oleh konsentrasi terendah pada *Muller Hinton Agar* (MHA) yang tidak menunjukkan pertumbuhan koloni bakteri.

K. Hipotesis

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

Pertama, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol 70% daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Kedua, fraksi etil asetat dari ekstrak etanol 70% daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.) mempunyai aktivitas antibakteri paling aktif terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Ketiga, dapat diketahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) fraksi teraktif daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.