

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Tanaman Petai Cina**

##### **1. Sistematika tanaman**

Sistematika tanaman petai cina menurut Tjitosoepomo (2000) sebagai berikut.

Divisio	:	Spermatophyta
Classis	:	Dicotyledoneae
Ordo	:	Rosales
Familia	:	Mimosaceae
Genus	:	Leucaena
Spesies	:	<i>Leucaena leucocephala</i> (Lam.) De Wit.
Sinonim	:	<i>Leucaena glauca</i> (L.) Benth., <i>L. blanca</i> Goyena, <i>L. glabrata</i> Rose, <i>L. greggii</i> Watson, <i>L. latisiliqua</i> (L.) W.T. Gillis, <i>L. salvadorensis</i> Standl.

##### **2. Nama lain**

Petai cina memiliki nama lain diantaranya mlanding, lamtoro, klandingan, ipil-ipil, petai belalang (Malaysia), *lead tree*, *white popinac*, dan *faux mimosa* (Perancis).

##### **3. Morfologi tanaman**

Perdu atau pohon, tinggi 2-10 mm. Ranting bulat silindris, pada ujungnya berambut rapat. Daun menyirip rangkap (Steenis 2013). Daun petai cina akan melipat jika terkena panas, dingin atau kekurangan air (Duke 1983, diacu dalam Zayed *et al.* 2018). Tangkai kebanyakan dengan kelenjar di bawah pasangan sirip yang terbawah. Sirip 3-10 pasang. Anak daun sirip 5-20 pasang, bentuk garis lanset, runcing atau dengan bagian ujung yang runcing, dengan pangkal yang tidak sama sisi, berumbai, sisi bawah hijau biru, 6-21 kali 2-5 mm. Poros utama berambut rapat.

Bunga berbilangan lima. Bongkol bertangkai panjang. Tabung kelopak berbentuk lonceng, dengan gigi-gigi pendek, tinggi  $\pm$  3 mm. Daun mahkota lepas, bentuk solet, panjang  $\pm$  5 mm. Benang sari 10, panjang  $\pm$  1 cm. Polongan di atas tanda bekas mahkota bertangkai pendek, bentuk pita, pipih dan tipis, 10-18 kali  $\pm$  2 cm, di antara biji-biji dengan sekat. Biji 15-30, melintang polongan, bulat telur terbalik, cokelat tua (Steenis 2013).

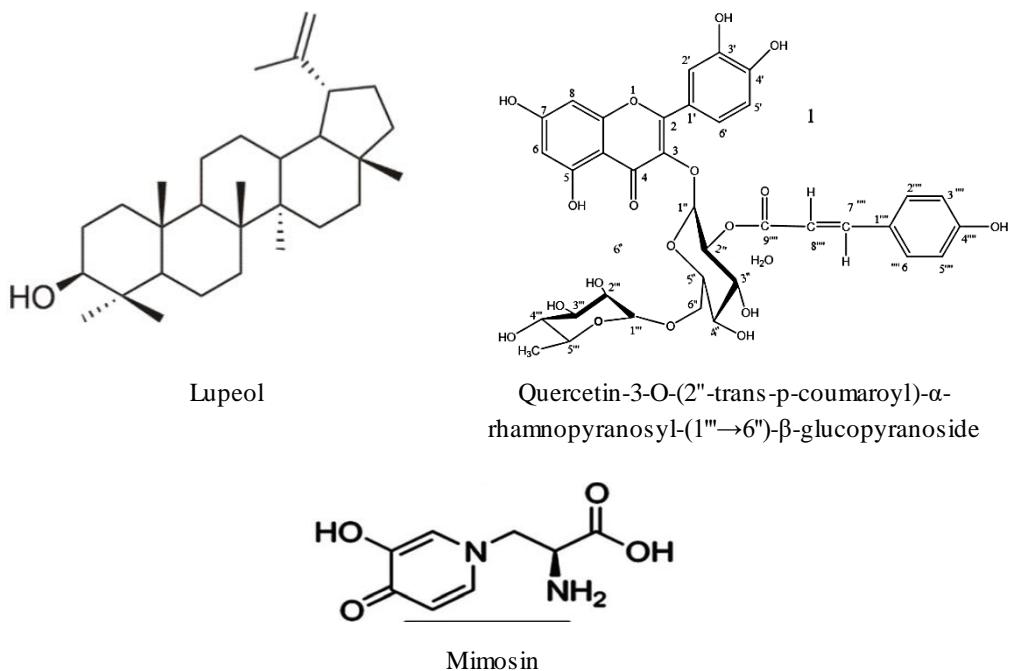
#### 4. Khasiat tanaman

Daun petai cina dapat bermanfaat sebagai antimikroba, antikanker, diuretik, antiinflamasi, antioksidan, antitumor, antihistamin, pestisida, antiandrogenik dan hipokolesterol (Zayed & Samling 2016). Secara etnobotani, daun petai cina digunakan sebagai obat untuk penyembuhan penyakit diabetes mellitus (Hasanuddin & Kusyanti 2016). Perasan daun petai cina dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi MIC sebesar 3,125% (Susanti & Saputra 2016). Ekstrak daun petai cina juga telah dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram negatif yaitu *Escherichia coli* dengan nilai MIC sebesar 625  $\mu$ g/ml serta aktivitas antiinflamasi dengan cara menghambat asetilkolinesterase (Chaurasia & Sharma 2015; Dzoyem & Elof 2015). Nilai MIC ekstrak etanol daun petai cina terhadap *Staphylococcus epidermidis* adalah 62,5  $\mu$ g/ml (Suryana *et al.* 2017). Ekstrak n-heksan daun petai cina memiliki aktivitas terhadap *Mycobacterium tuberculosis* dengan nilai MIC sebesar 25  $\mu$ g/ml (Satyadev *et al.* 2015). Ekstrak daun petai cina juga dapat menghambat pertumbuhan larva寄生虫 di saluran pencernaan hewan, di antaranya *Teladorsagia circumcincta* dan *Trichostrongylus colubriformis* dengan nilai MIC sebesar 0,10 mg/ml (Jamous *et al.* 2017). Menurut Ibrahim (2017) senyawa aktif ekstrak polong petai cina memiliki aktivitas sitotoksik. Biji petai cina dapat dianggap sebagai sumber antioksidan alami (Surayanti *et al.* 2016).

#### 5. Kandungan tanaman

Menurut Shantabi *et al.* (2014) tanaman petai cina mengandung alkaloid, tanin, saponin, steroid, flavonoid dan glikosida jantung. Flavonoid yang terkandung pada daun petai cina diidentifikasi sebagai quercetin-3-O-(2"-trans-p-

coumaroyl)- $\alpha$ -rhamnopyranosyl-(1" $\rightarrow$ 6")- $\beta$ -glucopyranoside yang memiliki aktivitas terhadap beberapa bakteri yaitu *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Mohammed *et al.* 2015). Daun petai cina juga mengandung mimosine yang dapat menghambat replikasi DNA pada jamur. Metabolit sekunder yang terkandung pada daun petai cina antara lain diterpen, triterpen, asam palmitat, ester asam lemak, terpen alkohol dan asam linolenat (Duke 1983, diacu dalam Zayed *et al.* 2018). Daun petai cina diperkirakan mengandung senyawa lupeol yang aktif terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (Sartinah *et al.* 2010).



Gambar 1. Struktur kandungan senyawa daun petai cina.

## 6. Tinjauan umum fitokimia

**6.1. Flavonoid.** Flavonoid adalah senyawa fenolik yang larut dalam air. Secara struktural berasal dari substansi induk flavon yang dapat diekstraksi dengan etanol 70%. Flavonoid mengandung sistem aromatik terkonjugasi. Umumnya flavonoid dalam tanaman berbentuk sebagai gula yang terdiri dari glikon dan aglikon (Harborne 1984). Flavonoid sebagai antibakteri dengan menyebabkan kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri dan menghambat motilitas antibakteri (Sari *et al.* 2017).

**6.2. Alkaloid.** Alkaloid merupakan zat-zat dasar yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, biasanya dalam kombinasi sebagai bagian dari sistem siklik. Alkaloid sering beracun bagi manusia dan banyak memiliki aktivitas fisiologis. Alkaloid biasanya berwarna, berasa pahit, sebagian besar adalah kristal tetapi beberapa di antaranya cair pada suhu kamar, seperti nikotin. Prekursor paling umum dari alkaloid adalah asam amino. Secara kimia, alkaloid adalah kelompok heterogen (Harborne 1984). Alkaloid dapat menghambat DNA esterase dan RNA polimerase serta menghambat respirasi sel dan berperan dalam interkalasi DNA (Ajizah 2004).

**6.3. Tanin.** Tanin merupakan senyawa fenolik yang memiliki kemampuan untuk bereaksi dengan protein membentuk kopolimer yang tidak larut dalam air. Secara kimia, ada dua jenis tanin. Tanin terkondensasi ditemukan hampir secara universal pada tumbuhan pakis dan *gymnospermae* serta tersebar luas pada *angiospermae*, terutama pada tumbuhan berkayu. Tanin terhidrolisis terbatas pada tanaman dikotil (Harbone 1984). Mekanisme tanin sebagai antibakteri dengan menyerang polipeptida dinding sel sehingga menyebabkan kerusakan pada dinding sel bakteri (Sari *et al.* 2017).

**6.4. Triterpenoid.** Triterpenoid adalah senyawa dengan rangka karbon berdasarkan pada enam unit isoprena dan yang diturunkan dari biosintesis asiklik. Triterpen memiliki struktur siklik yang kompleks, tidak berwarna, kristal dan mudah meleleh. Triterpen terbagi menjadi 4 kelompok senyawa yaitu triterpen, steroid, saponin dan glikosida jantung. Tes yang sering digunakan dengan pereaksi Lieberman-Burchard yang menghasilkan warna biru-hijau untuk triterpen dan steroid (Harborne 1984). Terpenoid diduga memiliki aktivitas antibakteri dalam beberapa penelitian dengan mekanisme menghambat pertumbuhan dan mengganggu proses terbentuknya membran dan dinding sel yang menyebabkan pembentukan dinding sel tidak sempurna sehingga sel mikroba bisa lisis (Ajizah 2004). Mekanisme kerja steroid sebagai antibakteri berhubungan dengan membran lipid dan sensitivitas terhadap komponen steroid yang menyebabkan kebocoran pada liposom sehingga integritas membran menurun serta morfologi membran sel berubah dan menyebabkan sel rapuh

kemudian lisis. Sedangkan saponin memiliki molekul yang dapat menarik air atau hidrofilik dan molekul yang dapat melarutkan lemak atau lipofilik sehingga dapat menurunkan tegangan permukaan sel yang akhirnya menyebabkan hancurnya bakteri (Sari *et al.* 2017).

## **B. Bakteri**

### **1. Bakteri**

Bakteri merupakan organisme uniseluler yang relatif sederhana. Karena materi genetik tidak diselimuti oleh selaput membran inti, sel bakteri disebut dengan sel prokariot. Secara umum, sel bakteri terdiri atas beberapa bentuk, yaitu bentuk basil/batang, bulat, atau spiral. Dinding sel bakteri mengandung kompleks karbohidrat dan protein yang disebut peptidoglikan. Bakteri umumnya bereproduksi dengan cara membelah diri menjadi dua sel yang berukuran sama. Ini disebut pembelahan biner. Bakteri umumnya menggunakan bahan kimia organik yang dapat diperoleh secara alami dari organisme hidup atau organisme yang sudah mati sebagai nutrisi. Beberapa bakteri dapat membuat makanan sendiri dengan proses biosintesis, sedangkan beberapa bakteri yang lain memperoleh nutrisi dari substansi organik (Radji 2011).

### **2. Sistematika bakteri**

Sistematika bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menurut Brooks *et al.* (2010) sebagai berikut.

Phylum	: Proteobacteria
Classis	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Pseudomonadales
Familia	: Pseudomonaceae
Genus	: Pseudomonas
Spesies	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853

### 3. Morfologi bakteri

*Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri Gram-negatif berbentuk batang dan motil, berukuran sekitar  $0,6 \times 2 \mu\text{m}$ . Bakteri ini tampak dalam bentuk tunggal, berpasangan dan kadang-kadang rantai pendek (Brooks *et al.* 2010).

*Pseudomonas aeruginosa* membentuk koloni bulat yang halus dengan warna kehijauan yang berfluoresensi. Satu-satunya bakteri yang menghasilkan pigmen piosianin yang berwarna biru kehijauan dan dapat larut dalam kloroform, dan pigmen fluoresen, pioverdin yang memberikan warna kehijauan pada agar, yang larut dalam air (Brooks *et al.* 2013; Radji 2011). Beberapa galur menghasilkan pigmen piorubin berwarna merah gelap atau pigmen hitam, piomelanin (Brooks *et al.* 2013). Bakteri ini juga dapat membentuk biofilm untuk melindungi diri dari antibiotik dan sistem kekebalan inang (Alhazmi 2015).

### 4. Patogenesis

*Pseudomonas aeruginosa* menjadi patogenik hanya jika mencapai daerah yang tidak memiliki pertahanan normal, misalnya membran mukosa dan kulit yang terluka oleh cedera jaringan langsung, penggunaan kateter urin atau intravena, atau jika terdapat neutropenia, seperti pada kemoterapi kanker. Bakteri ini melekat dan membentuk koloni pada membran mukosa atau kulit menginvasi secara lokal, dan menyebabkan penyakit sistemik (Brooks *et al.* 2013). *Pseudomonas aeruginosa*, di Amerika adalah salah satu patogen paling umum di rumah sakit terkait penggunaan ventilator pada pasien. Ventilator dapat berfungsi sebagai pembawa untuk *Pseudomonas aeruginosa* tumbuh dan membentuk biofilm pada permukaan plastik (Gellatly & Hancock 2013).

*Pseudomonas aeruginosa* adalah bakteri metabolismik yang dapat menyebabkan berbagai macam infeksi opportunistik berat pada pasien dengan status kesehatan yang buruk, tingginya kasus *multidrug-resistant*, dan penggunaan antibiotik spektrum luas sebelumnya (Gellatly & Hancock 2013). Bakteri ini menyebabkan respon inflamasi yang kuat selama proses infeksi. Pengobatan antibiotik infeksi *Pseudomonas aeruginosa* kronis dapat menekan gejala sementara, namun, tidak dapat membasmi patogen. Penyakit paru-paru yang disebabkan oleh *Pseudomonas aeruginosa* adalah penyebab utama kematian pada

individu dengan imunitas rendah serta pada anak-anak. Meskipun stimulasi sistem imun sangat penting untuk meningkatkan pertahanan sel inang, akumulasi neutrofil yang berlebihan dapat menyebabkan penyakit yang mengancam jiwa, seperti cedera paru akut, serta sindrom gangguan pernapasan akut (Alhazmi 2015).

### C. Antibiotik

Antibiotik adalah suatu senyawa yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang pada konsentrasi rendah dapat memusnahkan atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain (Radji 2011). Penggunaannya secara umum sering kali memperluas istilah antibiotik hingga meliputi senyawa antimikroba sintetik, seperti sulfonamida dan kuinolon. Senyawa-senyawa antibiotik sangat berbeda dalam sifat fisika, kimia dan farmakologinya, dalam spektrum antibakteri, serta mekanisme kerjanya (Goodman & Gilman 2001).

Mekanisme kerja obat antibakteri digolongkan menjadi lima kategori utama sebagai berikut:

**1. Penghambat sintesis dinding sel.** Bakteri memiliki lapisan luar yang kaku, yaitu dinding sel. Dinding sel mempertahankan bentuk dan ukuran mikroorganisme, yang memiliki tekanan osmotik internal yang tinggi. Kerusakan pada dinding sel atau inhibisi pembentukan dinding sel dapat menyebabkan lisis sel. Agen yang bekerja dengan mekanisme ini adalah penisilin, sefalosporin, vankomisin, meropenem dan sikloserin (Brooks *et al.* 2010).

**2. Penghambat fungsi membran sel.** Sitoplasma pada semua sel hidup dibungkus oleh membran sitoplasma yang berperan sebagai sawar berpermeabilitas selektif, melakukan fungsi transportasi aktif dan mengatur komposisi internal sel. Jika integritas fungsional membran terganggu, makromolekul dan ion-ion akan keluar dari sel, dan kemudian terjadi kerusakan atau kematian sel. Agen yang bekerja dengan mekanisme ini adalah polimiksin, amfoterisin B, kolistin, dan imidazol (Brooks *et al.* 2010).

**3. Penghambat sintesis protein.** Agen yang bekerja dengan mekanisme ini akan berikatan dengan ribosom bakteri sehingga sintesis protein terhambat, seperti

aminoglikosida, eritromisin, linkomisin, tetrasiklin dan kloramfenikol (Brooks *et al.* 2010).

**4. Penghambat sintesis asam nukleat.** Rifampin menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mengikat kuat polimerase RNA bakteri sehingga menghambat sintesis RNA pada bakteri. Kuinolon dan fluorokuinolon menghambat sintesis DNA mikroba dengan cara menyekat DNA girase (Brooks *et al.* 2010).

**5. Penghambat sintesis metabolit esensial.** Adanya kompetitor berupa antimetabolit, yaitu substansi yang secara kompetitif menghambat metabolit mikroorganisme, karena memiliki struktur yang mirip dengan substrat normal bagi enzim metabolisme. Contohnya antimetabolit sulfonamid dan para amino benzoic acid (Pratiwi 2008).

#### **D. Ciprofloksasin**

Ciprofloksasin merupakan salah satu pilihan antibiotik untuk infeksi pernapasan yang disebabkan oleh *Pseudomonas aeruginosa* dengan dosis sebesar 750 mg secara peroral (Cunha 2015). Ciprofloksasin lebih aktif daripada norfloksasin terhadap *Pseudomonas aeruginosa* (Goodman & Gilman 2001). Menurut Brooks *et al.* (2013) terapi antibiotik untuk infeksi *Pseudomonas aeruginosa* meliputi aztreonam, carbapenem, fluorokuinolon dan ciprofloxacin.

##### **1. Mekanisme kerja ciprofloksasin**

Ciprofloksasin adalah salah satu antibiotik golongan fluorokuinolon yang merupakan obat bakterisidal yang kuat terhadap bermacam-macam mikroorganisme. Target antibiotik ini adalah DNA girase bakteri dan topoisomerase IV. Pada banyak bakteri gram positif, topoisomerase IV merupakan aktivitas utama yang dihambat oleh kuinolon. Sedangkan pada bakteri gram negatif, target utamanya adalah DNA girase. Ciprofloksasin menghambat terjadinya *supercoiling* DNA yang diperantara oleh DNA girase pada konsentrasi yang berhubungan dengan kerja antibakteri efektifnya. Mutasi gen dapat menyebabkan resistensi terhadap obat ini (Goodman & Gilman 2001).

## **2. Efek samping ciprofloksasin**

Mual muntah, ganguan abdominal, diare dan kolitis jarang terjadi, sakit kepala dan pusing yang ringan, halusinasi, delirium dan seizure sangat jarang terjadi, ruam, reaksi fotosensitivitas, leukopenia dan eosinofilia (Goodman & Gilman 2001).

## **3. Resistensi ciprofloksasin**

Resistensi terhadap kuinolon dapat timbul selama terapi melalui mutasi pada gen kromosom bakteri yang mengodekan DNA girase atau topoisomerase IV atau melalui transpor aktif obat keluar dari bakteri. Tidak teridentifikasi adanya aktivasi bakteri yang memodifikasi atau menginaktivasi kuinolon. Resistensi meningkat setelah diperkenalkannya senyawa-senyawa fluorokuinolon, terutama pada *Pseudomonas* dan stafilocokus. Peningkatan resistensi terhadap fluorokuinolon juga teramati pada *Clostridium jejuni*, *Salmonella*, *Neisseria gonorrhoeae* dan *Streptococcus pneumonia* (Goodman & Gilman 2001).

## **E. Simplisia**

### **1. Pengertian simplisia**

Simplisia ialah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan (Depkes RI 1989). Simplisia nabati dapat berupa tanaman utuh, bagian dari tanaman (akar, batang, daun, dan sebagainya), atau eksudat tanaman, yaitu isi sel yang secara spontan dikeluarkan dari tanaman atau dengan cara tertentu dikeluarkan dari sel atau zat-zat lain dengan cara tertentu dipisahkan dari tanaman. Simplisia hewani, yaitu simplisia yang dapat berupa hewan, tetapi bukan berarti zat kimia murni. Simplisia pelikan atau mineral yaitu simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral belum diolah atau telah diolah secara sederhana, akan tetapi belum/bukan berupa zat kimia murni (Agoes 2009).

### **2. Pencucian dan pengeringan simplisia**

Pencucian bertujuan untuk memisahkan kotoran atau bahan asing lainnya dari bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan air bersih dan mengalir.

Simplisia yang mengandung zat mudah larut dalam air mengalir, dicuci dalam waktu sesingkat mungkin (Agoes 2009).

Pengeringan simplisia bertujuan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lama. Pengeringan simplisia digunakan untuk mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik sehingga mencegah penurunan mutu dan kerusakan simplisia. Selama proses pengeringan, beberapa hal perlu diperhatikan yaitu suhu pengeringan, kelembaban udara, aliran udara sewaktu proses pengeringan. Suhu pengeringan bergantung pada simplisia dan cara pengeringan. Pengeringan dapat dilakukan antara suhu 30°C-90°C (terbaik 60°C). Jika simplisia mengandung bahan aktif tidak tahan panas atau mudah menguap, pengeringan dilakukan pada suhu serendah mungkin, misalnya 30°C-45°C atau dengan cara pengeringan vakum (Agoes 2009).

## **F. Penyarian**

Pada waktu pembuatan serbuk simplisia, beberapa sel ada yang dindingnya pecah dan ada sel yang dindingnya masih utuh. Sel yang dindingnya telah pecah, proses pembebasan sari tidak ada yang menghalangi. Proses penyarian pada sel yang dindingnya masih utuh, zat aktif yang terlarut pada cairan penyari untuk keluar dari sel, harus melewati dinding sel. Peristiwa osmosa dan difusi berperan pada proses penyarian tersebut. Tanpa memperhatikan keadaan sel tersebut, maka larutan harus melewati lapisan batas antara butir serbuk dengan cairan penyari. Kecepatan melintasi lapisan batas dipengaruhi oleh faktor yang mempengaruhi pemindahan massa yaitu derajat perbedaan konsentrasi, tebal lapisan batas, serta koefisien difusi (Depkes RI 1986).

### **1. Ekstraksi**

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut. Jadi, ekstrak adalah sediaan yang diperoleh dengan cara ekstraksi tanaman obat dengan ukuran partikel tertentu dan menggunakan medium pengekstraksi yang tertentu pula. Ekstraksi dapat dilakukan menurut berbagai

cara. Ekstrak yang diperoleh sesudah pemisahan cairan dari residu tanaman obat dinamakan *micella*. *Micella* ini dapat diubah menjadi bentuk obat siap pakai, seperti ekstrak cair dan tinctura atau sebagai produk/bahan antara yang selanjutnya dapat diproses menjadi ekstrak kering (Agoes 2009).

## 2. Maserasi

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak ke luar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi kesetimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Depkes RI 1986). Pemilihan metode maserasi dipilih agar dapat menghindari terjadinya kerusakan kandungan kimia yang bersifat termolabil (Puspadiwati *et al.* 2013).

## 3. Fraksinasi

Fraksinasi adalah proses untuk memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan utama yang lain berdasarkan perbedaan kepolaran. Senyawa-senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar, begitu pula senyawa-senyawa yang bersifat semipolar akan masuk ke pelarut semipolar dan senyawa yang bersifat nonpolar akan masuk ke pelarut nonpolar (Harbone 1984).

## 4. Cairan penyari

Kriteria pemilihan larutan penyari yaitu murah dan mudah diperoleh. Stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar selektif yaitu menarik zat berkhasiat yang diinginkan serta tidak mempengaruhi zat berkhasiat. Cairan penyari yang digunakan dapat berupa air, etanol, air etanol atau pelarut lain. Bila cairan penyari digunakan air maka untuk mencegah timbulnya kapang, dapat ditambahkan bahan pengawet yang diberikan pada awal penyarian (Depkes 1986).

Pelarut etanol dipilih karena etanol merupakan pelarut universal yang dapat melarutkan hampir semua senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam

simplisia. Etanol memiliki nilai toksisitas yang lebih rendah jika dibandingkan pelarut organik lainnya dan tahan lama serta mudah diperoleh kembali (mudah menguap) dibandingkan pelarut non organik (Puspadiwi *et al.* 2013). Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, antrakuinon, flavonoid, tanin, steroid, klorofil, damar, saponin, lemak dan malam hanya sedikit yang larut (Depkes 1986).

Pelarut n-heksan merupakan pelarut nonpolar berupa cairan jernih, tidak berwarna, dapat bercampur dengan etanol, mudah menguap, mudah terbakar dan mempunyai bau seperti eter lemah atau bau seperti proteleum, tidak dapat larut dalam air, dapat larut dalam alkohol, benzen, kloroform dan eter. Pelarut n-heksan dapat melarutkan senyawa-senyawa nonpolar, seperti minyak atsiri, lemak, steroid dan triterpenoid serta karotenoid (Harborne 1984).

Etil asetat merupakan pelarut semipolar, mudah menguap dan terbakar, maka penyimpanan dalam wadah tertutup rapat dan terhindar dari panas. Etil asetat merupakan cairan jernih, tidak berwarna, bau khas seperti buah, larut dalam 15 bagian air, dapat bercampur dalam eter, etanol dan kloroform. Pelarut ini dapat melarutkan flavonoid, alkaloid dan polifenol (Harborne 1984).

Air adalah pelarut universal, digunakan untuk ekstrak tanaman dengan produk aktivitas antimikroba. Air merupakan pelarut polar, digunakan sebagai pelarut karena murah, mudah diperoleh, stabil, tidak menguap, tidak mudah terbakar, tidak beracun dan alamiah. Air melarutkan garam, alkaloid, minyak menguap, glikosida, tanin, gula, gom, pati, protein, lilin, enzim, zat warna dan asam organik (Depkes 1986).

## G. Media

Media merupakan nutrien yang dibutuhkan mikroorganisme untuk pertumbuhan secara *in vitro*. Nutrien merupakan senyawa organik dan atau organik yang dibutuhkan untuk pertumbuhan. Media digunakan secara kualitatif dan kuantitatif. Secara kualitatif untuk isolasi dan identifikasi mikroorganisme, sedangkan secara kuantitatif untuk perbanyak dan perhitungan jumlah mikroorganisme (Harti 2015).

Penggolongan media berdasarkan konsistensi ada 3 macam yaitu media padat, semi padat dan cair. Media padat mengandung agar-agar 1,2-1,5% biasanya dalam bentuk plate agar atau *slant agar*. Media semi padat mengandung agar-agar 0,6-0,75% contoh media SIM untuk pengamatan motilitas. Media cair tanpa mengandung bahan pematat (Harti 2015).

## H. Sterilisasi

Sterilisasi dalam mikrobiologi merupakan proses penghilangan semua jenis organisme hidup, dalam hal ini adalah mikroorganisme (protozoa, jamur, bakteri, *mycoplasma*, virus) yang terdapat pada/di dalam suatu benda (Pratiwi 2008). Sterilisasi bahan mikrobiologi dan barang-barang yang terkontaminasi lainnya diperlukan untuk meminimalkan bahaya kesehatan. Proses sterilisasi melibatkan aplikasi agen biocidal atau proses penghilangan mikroba fisik untuk produk atau persiapan objek dengan membunuh atau menghapus semua mikroorganisme (Hugo & Russell 2004). Metode sterilisasi ada dua yaitu metode fisika meliputi pemanasan, filtrasi, pendinginan, desikasi, tekanan osmotik dan radiasi, sedangkan metode kimia meliputi sejumlah subtansi yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada obyek biotik atau abiotik (Harti 2015).

Panas dalam bentuk uap jenuh bertekanan adalah sarana yang paling praktis dan dapat diandalkan untuk sterilisasi. Uap bertekanan menghasilkan suhu jauh di atas titik didih memiliki keunggulan yaitu pemanasan berlangsung dengan cepat dan mempunyai daya tembus yang diperoleh dari kelembapan yang tinggi sehingga dapat mempercepat proses koagulasi protein mikroorganisme. Autoklaf dapat digunakan untuk sterilisasi dengan prinsip ini. Autoklaf umumnya dioperasikan pada tekanan 1,5 atm dan suhu 121°C. Waktu sterilisasi tergantung dari sifat bahan, wadah dan volume bahan, bahan kimia yang tidak bercampur dengan air tidak dapat disterilkan dengan metode ini karena tidak dapat ditembus oleh uap sehingga mikroorganisme dapat bertahan hidup (Radji 2010).

Sterilisasi kering dianjurkan jika bahan atau alat yang digunakan tidak dapat disterilisasi dengan uap bertekanan. Prosedur ini dilakukan untuk peralatan

laboratorium dan dibutuhkan suhu 160-180°C selama 2 jam. Pemusnahan dengan pembakaran juga dapat dilakukan pada alat-alat laboratorium seperti jarum ose dengan cara dipijarkan di atas pembakar api bunsen (Radji 2010).

### **I. Uji Aktivitas Antibakteri**

Pengujian aktivitas antibakteri ada dua metode yaitu metode difusi dan metode dilusi. Metode difusi (*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 pada permukaan media (Pratiwi 2008). Berdasarkan ukuran diameter zona hambat ada empat kelompok yaitu bila zona hambat >20 mm berarti sangat kuat, zona hambat berukuran 10-20 mm termasuk kuat, untuk kategori sedang berukuran 5-10 mm dan yang lemah zona hambat <5 mm (Kumesan *et al.* 2013).

Metode dilusi cair (*broth dilution test*) adalah metode untuk mengukur KHM (konsentrasi hambat minimum) dan KBM (konsentrasi bunuh minimum). Dilakukan dengan cara 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 diinkubasi untuk menetapkan KBM (Pratiwi 2008).

### **J. Landasan Teori**

Tumbuhan adalah salah satu sumber daya alam yang sangat penting dalam upaya pengobatan dan mempertahankan kesehatan masyarakat. Petai cina (*Leucaena leucocephala* (Lam) De Wit.) merupakan salah satu tumbuhan yang dapat digunakan sebagai obat tradisional. Secara etnobotani, masyarakat Indonesia telah menggunakan salah satu bagian dari petai cina yaitu daun, sebagai obat luka dan bengkak. Selain itu daun petai cina juga dipercaya dapat

menyembuhkan penyakit diabetes dengan cara diminum, dioles dan dibasuh (Hasanuddin & Kusyanti 2016). Berdasarkan skrining fitokimia, daun petai cina dapat bermanfaat sebagai antimikroba, antikanker, diuretik, antiinflamasi, antioksidan, antitumor, antihistamin, pestisida, antiandrogenik dan hipokolesterol (Zayed & Samling 2016).

Pneumonia merupakan penyakit infeksi saluran napas bawah yang dapat disebabkan oleh bakteri aerobik Gram negatif. *Pseudomonas aeruginosa* merupakan agen penyebab utama pneumonia yang didapat di rumah sakit (Wells *et al.* 2015). Penyakit paru-paru yang disebabkan oleh *Pseudomonas aeruginosa* adalah penyebab utama kematian pada individu dengan imunitas rendah serta pada anak-anak. Bakteri ini cenderung membentuk biofilm untuk melindungi diri dari antibiotik dan sistem kekebalan sel inang. *Pseudomonas aeruginosa* secara intrinsik resisten terhadap sejumlah besar antibiotik (Alhazmi 2015).

Penelitian terdahulu membuktikan jika ekstrak daun petai cina memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Mycobacterium tuberculosis* dengan nilai MIC masing-masing sebesar 62,5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  dan 25  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (Satyadev *et al.* 2015; Suryana *et al.* 2017). Ekstrak diperoleh dengan cara mengekstraksi tanaman menggunakan pelarut yang sesuai. Maserasi dipilih karena merupakan salah satu cara penyarian yang sederhana yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Maserasi dilakukan dengan pelarut etanol karena etanol merupakan pelarut universal yang dapat melarutkan hampir semua senyawa metabolit sekunder (Depkes RI 1986).

Shantabi *et al.* (2014) menyatakan jika tanaman petai cina mengandung alkaloid, tanin, saponin, steroid, flavonoid dan glikosida jantung. Metabolit sekunder yang terkandung pada daun petai cina antara lain diterpen, triterpen, asam palmitat, ester asam lemak, terpen alkohol dan asam linolenat (Duke 1983, diacu dalam Zayed *et al.* 2018). Senyawa kimia tersebut memiliki aktivitas antibakteri. Flavonoid dapat menyebabkan kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri dan menghambat motilitas antibakteri (Sari *et al.* 2017). Flavonoid bersifat semipolar yang akan larut pada pelarut semipolar. Daun petai cina diperkirakan mengandung senyawa lupeol yang aktif terhadap bakteri (Sartinah *et al.* 2010).

Lupeol merupakan golongan triterpen dengan struktur pentasiklik (Gallo & Sarachine 2009). Terpenoid dapat menghambat pertumbuhan dan mengganggu proses terbentuknya membran dan dinding sel yang menyebabkan pembentukan dinding sel tidak sempurna sehingga sel mikroba lisis (Ajizah 2004). Triterpen bersifat nonpolar yang akan larut pada pelarut nonpolar juga.

Fraksinasi dilakukan untuk memisahkan kandungan senyawa golongan utama berdasarkan polaritasnya. Larutan penyari untuk fraksinasi dipilih berdasarkan kriteria murah, mudah didapat dan sesuai dengan sifat senyawa antibakteri pada ekstrak daun petai cina. Cairan penyari yang digunakan untuk fraksinasi adalah n-heksan, etil asetat dan air. Pelarut n-heksan sebagai pelarut nonpolar yang dapat melarutkan senyawa-senyawa nonpolar seperti minyak atsiri, lemak, steroid dan triterpenoid. Pelarut semipolar yang digunakan adalah etil asetat. Etil asetat dapat melarutkan flavonoid, alkaloid dan polifenol (Harborne 1984). Air merupakan pelarut polar yang dapat melarutkan garam alkaloid, glikosida, tanin, gula dan pati (Depkes RI 1986).

Aktivitas antibakteri daun petai cina dibuktikan dengan metode difusi dan dilusi. Metode difusi untuk menentukan aktivitas agen antimikroba dan mendapatkan fraksi teraktif. Aktivitas antibakteri dibuktikan dengan terbentuknya zona hambat. Metode dilusi cair (*broth dilution test*) adalah metode untuk mengukur KHM (konsentrasi hambat minimum) dan KBM (konsentrasi bunuh minimum) dari fraksi teraktif (Pratiwi 2008).

Potensi antibakteri senyawa flavonoid dan alkaloid pada daun petai cina yang larut pada pelarut etil asetat sehingga diharapkan fraksi etil asetat memiliki aktivitas antibakteri paling efektif. Kandungan lupeol pada daun petai cina yang merupakan senyawa golongan triterpenoid yang juga berpotensi sebagai antibakteri dan sifat kelarutannya pada pelarut n-heksan, tidak menutup kemungkinan fraksi n-heksan juga memiliki aktivitas antibakteri paling efektif.

## **K. Hipotesis**

Berdasarkan permasalahan yang ada maka hipotesis dalam penelitian ini adalah:

Pertama, di antara ekstrak etanol dan fraksi (n-heksan, etil-asetat dan air dari daun petai cina (*Leucaena leucocephala* (Lam) De Wit.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Kedua, dari ketiga fraksi daun petai cina (*Leucaena leucocephala* (Lam) De Wit.) tersebut terdapat fraksi yang paling aktif dalam menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 yaitu fraksi etil asetat.

Ketiga, dapat menentukan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari fraksi teraktif daun petai cina (*Leucaena leucocephala* (Lam) De Wit.) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.