

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Beluntas

1. Sistematika tanaman beluntas

Kedudukan tanaman beluntas dalam taksonomi menurut *itis.gov* adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Tracheophyta
Classis	: Magnoliopsida
Ordo	: Asterales
Familia	: Asteraceae
Genus	: <i>Pluchea</i> Cass
Spesies	: <i>Pluchea indica</i> (L) Less.



Gambar 1. Daun Beluntas (*Pluhe indica* (L) Less)

2. Nama Daerah

Nama lain tanaman beluntas yaitu luntas (Jawa Tengah), beluntas (Sunda), baluntas (Madura), lamutas (Makasar), lenabou (Timor), marsh heabane dan luan yi (Cina) (Hariana 20013).

3. Deskripsi tanaman

Merupakan semak atau setengah semak, tumbuh tegak dengan tinggi mencapai 2 m dan terkadang lebih, percabangan banyak, berusuk halus, dan berbulu lembut. Daun tunggal, berbentuk bundar telur sungsang, bertangkai pendek, letaknya berseling, ujung bundar melancip, bergerigi, dan berwarna hijau terang.

Daun berbau harum saat diremas. Bunga berbentuk bonggol, bergagang atau duduk keluar diujung cabang dan ketiak daun, dan berwarna ungu. Buah longkang mirip gasing, berwarna coklat dengan sudut putih, dan lokos. Semak bercabang-cabang, ramping, tegak, dengan dahan berwarna coklat tua dan bagian ujungnya hijau (Agromedia 2008).

4. Khasiat Daun Beluntas

Daun beluntas berkhasiat menurunkan panas, menyembuhkan radang dan antiluka, mengobati scabies, TBC kelenjar leher (*cervical tuberculous lymphadenitis*), menambah nafsu makan (stomatik), membantu pencernaan, menghilangkan bau badan, sakit pinggang (*lumbago*), obat sakit perut, penghasil air susu, dan sebagai obat batuk. Daunnya juga berpotensi sebagai peluruh kencing atau diuretik dan keringat. Senyawa kimia yang terkandung pada daun beluntas yaitu alkaloid, minyak atsiri (Agromedia 2008).

B. Minyak Atsiri

1. Pengertian Minyak Atsiri

Minyak atsiri adalah zat berbau yang terkandung dalam tanaman. Minyak ini juga disebut minyak menguap, minyak eteris, atau minyak esensial karena pada suhu biasa (kamar) mudah menguap diudara terbuka. Istilah esensial dipakai karena minyak atsiri mewakili bau dari tanaman asalnya (Gunawan dan Mulyani 2004). Minyak atsiri merupakan senyawa yang pada umumnya berwujud cairan yang

diperoleh dari bagian tanaman, akar, kulit, batang, daun, buah dan biji maupun dari bunga dengan beberapa cara penyulingan minyak atsiri (Sastrahamidjojo 2004). Minyak atsiri dalam keadaan segar dan murni, umumnya tidak berwarna. Minyak atsiri pada penyimpanan lama dapat teroksidasi. Untuk mencegahnya, minyak atsiri harus disimpan dalam bejana gelas yang berwarna gelap. Diisi penuh, ditutup rapat, serta disimpan ditempat yang kering dan sejuk (Armando 2009).

2. Sifat minyak atsiri

Sifat-sifat minyak atsiri antara lain tersusun oleh bermacam-macam komponen senyawa yang memiliki bau khas. Umumnya memiliki bau khas dari tanaman aslinya, mempunyai rasa getir, kadang-kadang terasa tajam dan menggigit serta memberi kesan hangat sampai panas, atau justru dingin ketika terasa dikulit, tergantung dari jenis komponen penyusunnya, dalam keadaan murni (belum tercemar oleh senyawa lain) mudah menguap pada suhu kamar, bersifat tidak bisa disabunkan dengan alkali dan tidak bisa berubah menjadi tengik. Umumnya tidak dapat bercampur dengan air, tetapi sangat mudah larut dalam pelarut organik (Gunawan dan Mulyani 2004).

Minyak atsiri berupa cairan jernih yang tidak berwarna, selama penyimpanan akan mengental dan berwarna kekuningan atau kecoklatan. Hal tersebut terjadi karena adanya pengaruh oksidasi dan resinifikasi (berubah menjadi damar atau resin), untuk mencegah atau memperlambat proses oksidasi dan resinifikasi tersebut, maka minyak atsiri harus dihindari dari pengaruh sinar matahari yang dapat merangsang terjadinya oksidasi dari oksigen udara yang akan mengoksidasi minyak atsiri. Oleh karena itu, botol penyimpanan minyak atsiri harus terisi penuh agar oksigen udara yang ada dalam ruang udara tempat penyimpanan tersebut kecil (Koensoemardiyah 2010).

Beberapa jenis minyak atsiri memiliki aroma yang mirip, tetapi tidak sama persis dan sangat bergantung pada komponen kimia penyusun minyak tersebut. Tidak semua jenis tumbuhan menghasilkan minyak atsiri, hanya tumbuhan yang memiliki sel glandula sajalah yang bisa menghasilkan minyak atsiri (Agusta 2000). Bagian utama adalah terpenoid, biasanya terpenoid terdapat pada fraksi yang

tersuling uap. Zat inilah penyebab wangi, harum atau bau khas pada tumbuhan (Harborne 1984).

3. Komponen Minyak Atsiri

Minyak atsiri yang terdapat pada daun beluntas yaitu caryophyllene dan isocaryophyllene serta senyawa derivat azulene, dan naphthalene (Arini *et al* 2006). Widyawati *et al* (2013) melaporkan bahwa komponen senyawa minyak atsiri pada daun beluntas terdiri dari 66 komponen (10S, 11S)-Himachala-3-(12)-4-diene (17,13%), dan caryophyllene (11,88%).

Senyawa yang terdapat pada daun beluntas yang dapat digunakan sebagai antibakteri yaitu minyak atsiri. Minyak atsiri berperan sebagai antibakteri dengan cara mengganggu proses terbentuknya membran atau dinding sel sehingga membran atau dinding tidak terbentuk atau terbentuk tetapi tidak sempurna. Minyak atsiri yang aktif sebagai antibakteri umumnya yang mengandung gugus hidroksi (-OH) dan karbonil. Penelitian yang terbaru widyawati *et al* (2013) komponen minyak atsiri yang banyak terkandung pada daun beluntas yaitu caryophyllene. Minyak atsiri caryophyllene merupakan senyawa turunan fenol. Turunan fenol berinteraksi dengan sel bakteri melalui proses adsorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen. Pada kadar rendah terbentuk kompleks protein fenol dengan ikatan yang lemah dan segera mengalami peruraian, diikuti penetrasi fenol ke dalam sel dan menyebabkan presipitasi serta denaturasi protein. Pada kadar tinggi fenol menyebabkan koagulasi protein dan sel membran mengalami lisis (Juliantina *et al* 2009).

C. Isolasi Minyak Atsiri

1. Metode isolasi minyak atsiri

Salah satu cara yang sering dilakukan untuk mengisolasi minyak atsiri yang terkandung dari bagian tanaman adalah dengan cara destilasi. Destilasi digunakan karena lebih mudah dan murah. Destilasi adalah proses pemisahan komponen yang berupa cairan atau padatan dari dua macam campuran zat atau lebih. Pengaruh penting selama destilasi berlangsung adalah suhu terhadap minyak atsiri. Semua senyawa penyusun minyak atsiri tidak stabil atau peka terhadap suhu tinggi,

sehingga untuk memperoleh kualitas minyak atsiri diupayakan suhu pemanasan tetap rendah. Pada suhu pemanasan tinggi maka pemanasan destilasi diusahakan dalam waktu yang sesingkat mungkin (Sastrohamidjojo 2004).

1.1 Destilasi air. Pada metode ini, bahan tanaman yang akan disuling mengalami kontak langsung dengan air mendidih. Bahan dapat mengapung diatas air atau terendam secara sempurna, tergantung pada berat jenis dan jumlah bahan yang disuling. Ciri khas metode ini yaitu adanya kontak langsung antara bahan dan air mendidih. Penyulingan ini sering disebut dengan penyulingan langsung. Kelebihannya adalah alatnya sederhana dan waktu yang dibutuhkan untuk mendapatkan minyak atsiri sebentar. Kekurangannya adalah destilasi air tidak cocok untuk bahan baku yang tidak tahan uap panas dan kualitas hasil penyulingan tidak sebaik destilasi uap-air. Penyulingan dengan cara langsung ini menyebabkan banyaknya rendemen minyak yang hilang (tidak tersuling) dan terjadi pula penurunan mutu minyak yang diperoleh (Sastrohamidjojo 2004).

1.2 Destilasi uap dan air. Simplisia yang digunakan akan direbus dengan air mendidih namun tidak kontak langsung dengan air, diberi sekat antara air dan simplisia, biasanya disebut angsang. Prinsip dari metode ini adalah air mendidih dan uap air akan membawa partikel minyak atsiri untuk dialirkan ke kondensor kemudian ke alat pemisah, secara otomatis air dan minyak akan terpisah karena ada perbedaan berat jenis, di mana berat jenis minyak lebih kecil dibandingkan berat jenis air sehingga bisa menyingkat waktu proses destilasi, alatnya sederhana namun dapat menghasilkan minyak atsiri dalam jumlah yang cukup sehingga efisien dalam penggunaan. Minyak yang dihasilkan tidak mudah menguap karena pembawanya adalah air yang tidak mudah menguap (Sastrohamidjojo 2004).

1.3 Destilasi uap langsung. Metode penyulingan ini, bahan tanaman yang akan disuling diletakkan di atas rak-rak atau saringan berlubang. Ketel penyulingan diisi dengan air sampai permukaannya tidak jauh dari bagian bawah saringan. Ciri khas model ini yaitu uap selalu dalam keadaan basah, jernih dan tidak terlalu panas. Bahan tanaman yang akan disuling hanya berhubungan dengan uap dan tidak dengan air panas. Destilasi uap ini merupakan destilasi yang paling baik karena

dapat menghasilkan minyak atsiri dengan kualitas yang tinggi karena tidak bercampur dengan air (Sastrohamidjojo 2004).

D. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi adalah salah satu metode pemisahan komponen dalam suatu sampel dimana komponen tersebut didistribusikan di antara dua fase yaitu fase gerak dan fase diam. Fase gerak adalah fase yang membawa cuplikan, sedangkan fase diam adalah fase yang menahan cuplikan secara efektif (Sastrohamidjojo 1991). Senyawa yang diuji dapat berupa senyawa tunggal maupun campuran dari produk pabrik, hasil sintesis, isolasi dari hewan percobaan maupun dari tanaman dan mikroorganisme. KLT merupakan metode yang mudah penggunaannya, murah dan selektif (Sumarno 2000).

Pemisahan komponen kimia berdasarkan prinsip adsorpsi dan partisi, yang ditentukan oleh fase diam (adsorben) dan fase gerak (eluen). Komponen kimia bergerak naik mengikuti fase gerak karena daya serap adsorben terhadap komponen-komponen kimia tidak sama, sehingga komponen kimia dapat bergerak dengan kecepatan yang berbeda berdasarkan tingkat kepolarannya, hal ini menyebabkan terjadinya pemisahan. Fase diam (adsorben) yang umum digunakan adalah silika gel, aluminium oksida, selulosa dan turunannya, poliamid dan lain-lain. Fase diam yang paling banyak digunakan yaitu silika gel karena menghasilkan perbedaan dalam efek pemisahan tergantung pada cara pembuatannya (Stahl 1985). Mekanisme kerja pemisahan KLT dengan fase diam silika gel secara partisi cairan (Mursyidi 1990). Fase gerak (eluen) merupakan medium yang terdiri dari satu atau lebih pelarut yang bergerak dalam fase diam, yaitu lapisan berpori karena adanya gaya kapiler yang menyebabkan pelarut merambat naik ke atas sehingga terjadi proses pemisahan campuran cuplikan (Stahl 1985).

Identifikasi suatu senyawa pada umumnya dilakukan dengan membandingkan senyawa standarnya. Pengamatan yang lazim berdasarkan pada kedudukan dari noda relatif terhadap batas pelarut yang dikenal sebagai harga Rf (*Retardation factor*) yang didefinisikan sebagai jarak komponen yang bergerak

dengan jarak pelarut yang bergerak. Identifikasi dilakukan dengan melihat warna noda di bawah sinar UV atau bisa dengan menyemprotkan pereaksi warna sesuai jenis senyawa yang dianalisis. Faktor-faktor yang mempengaruhi gerakan noda dalam kromatografi lapis tipis yang mempengaruhi harga Rf yaitu struktur kimia dari senyawa yang dipisahkan, sifat penyerap dan derajat aktivitasnya, tebal dan kerataan penyerapan, pelarut dan derajat kemurnian fase gerak serta derajat kejenuhan dari uap dalam pengembangan (Sastrohamidjojo 1991).

E. Kromatografi Gas-Spektrometri Massa (GC-MS)

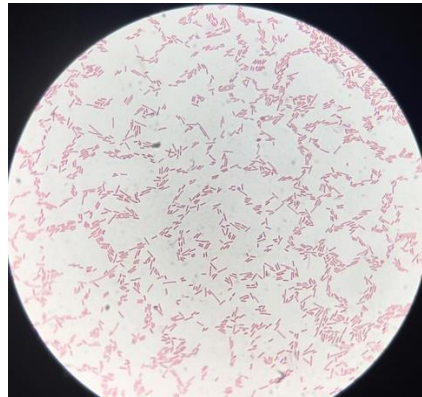
Analisis dan karakterisasi minyak menguap merupakan masalah yang cukup rumit, sehingga perlu diseleksi metode yang akan diterapkan. Minyak atsiri merupakan salah satu contoh minyak menguap dengan sifatnya yang mudah menguap pada suhu kamar. Sejak ditemukannya kromatografi gas (GC), kendala dalam analisis komponen minyak atsiri ini mulai dapat diatasi walaupun terbatas hanya pada analisis kualitatif dan penentuan kuantitatif komponen penyusun minyak atsiri saja. Pada penggunaan GC, efek penguapan dapat dihindari bahkan dihilangkan sama sekali. Perkembangan teknologi instrumentasi yang sangat pesat akhirnya dapat melahirkan suatu alat yang merupakan gabungan dua sistem dengan prinsip dasar yang berbeda satu sama lain tetapi dapat saling menguntungkan dan saling melengkapi, yaitu gabungan antara kromatografi gas dan spektrometri massa (GC-MS) (Agusta 2000).

Analisis dengan GC-MS merupakan metode yang cepat dan akurat untuk memisahkan campuran yang rumit, mampu menganalisis cuplikan dalam jumlah sangat kecil, dan menghasilkan data yang berguna mengenai struktur serta identitas senyawa organik. Kromatografi gas disini berfungsi sebagai alat pemisah berbagai komponen campuran dalam sampel, sedangkan spektrometer massa berfungsi untuk mendeteksi masing-masing molekul komponen yang telah dipisahkan pada sistem kromatografi gas (Agusta 2000).

F. *Escherichia coli*

1. Sistematika *Escherichia coli*

Divisi	: Protophyta
Sub Divisi	: Schizomycetea
Kelsa	: Schizomycetes
Bangsa	: Eubacteriales
Suku	: Enterobacteriaceae
Marga	: <i>Escherichia</i>
Jenis	: <i>Escherichia coli</i> (Jawets <i>et al.</i> 2012)



Gambar 2. Pewarnaan gram *Escherichia coli*

2. Morfologi dan fisiologi bakteri

Escherichia coli termasuk dalam familia Enterobacteriaceae. Bakteri ini merupakan bakteri Gram-negatif, berbentuk batang pendek (kokobasil), mempunyai flagel, berukuran $0,4-0,7\mu\text{m} \times 1,4 \mu\text{m}$, dan mempunyai simpai. *Escherichia coli* tumbuh dengan baik di hampir semua media pertumbuhan, dapat meragi laktosa, dan bersifat mikroaerofilik (Radji 2011).

3. Patogenesis

Escherichia coli dapat melekat pada usus besar dan dapat bertahan selama beberapa bulan bahkan beberapa tahun. Perubahan populasi bakteri *Escherichia coli* terjadi dalam periode yang lama, hal ini dapat terjadi setelah infeksi usus atau setelah penggunaan kemoterapi atau antimikroba yang dapat membunuh flora normal. Lebih dari 700 serotipe antigenik *Escherichia coli* telah dikenal berdasarkan perbedaan struktur antigen O (antigen somatic), H (antigen flagel, dan K (antigen kapsul, selubung). Beberapa galur *Escherichia coli* menjadi penyebab

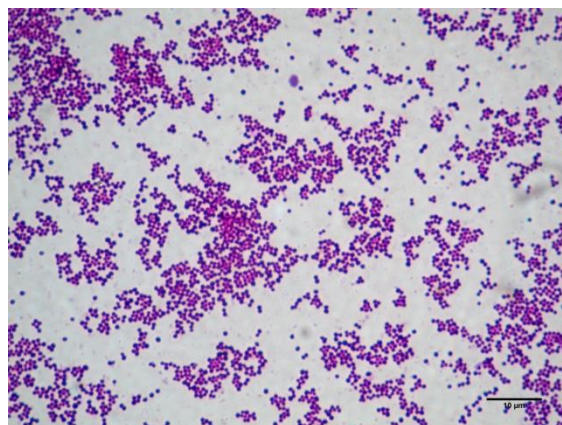
infeksi pada manusia seperti infeksi saluran kemih, infeksi meningitis pada neonates, dan infeksi intestine (gastroenteritis). Infeksi *Escherichia coli* sering kali berupa diare yang disertai darah, kejang perut, demam, dan terkadang dapat menyebabkan gangguan ginjal. Infeksi *Escherichia coli* pada beberapa penderita, anak-anak dibawah 5 tahun, dan orang tua dapat menimbulkan komplikasi yang disebut dengan sindrom uremik hemolitik. Sekitar 2-7% infeksi *Escherichia coli* menimbulkan komplikasi.

Sebagian besar penyakit yang disebabkan oleh infeksi *Escherichia coli* ditularkan melalui makanan yang tidak dimasak dan daging yang terkontaminasi. Penularan penyakit dapat terjadi melalui kontak langsung dan biasanya terjadi di tempat yang memiliki sanitasi dan lingkungan yang kurang bersih (Radji 2011).

G. Staphylococcus aureus

1. Sistematika *Staphylococcus aureus*

Divisi	: Protophyta
Sub Divisi	: Schizomycetea
Kelas	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Famili	: Micrococcaceae
Genus	: Sthapylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i> (Warsa 1994)



Gambar 3. *Staphylococcus aureus* (Shinta & Hartono 2017)

2. Morfologi dan fisiologi bakteri

Bakteri ini berbentuk sferis, bila menggerombol dalam susunan yang tidak teratur mungkin sisinya agak rata karena tertekan. Diameter bakteri antara 0,8-1,0 mikron. Pada sediaan langsung yang berasal dari nanah dapat terlihat sendiri berpasangan, menggerombol dan bahkan dapat tersusun seperti rantai pendek. Susunan gerombolan yang tidak teratur biasanya ditemukan pada sediaan yang dibuat dari perbenihan padat, sedangkan dari pbenihan kaldu biasanya ditemukan tersendiri atau tersusun sebagai rantai pendek (Warsa 1994).

3. Patogenesis

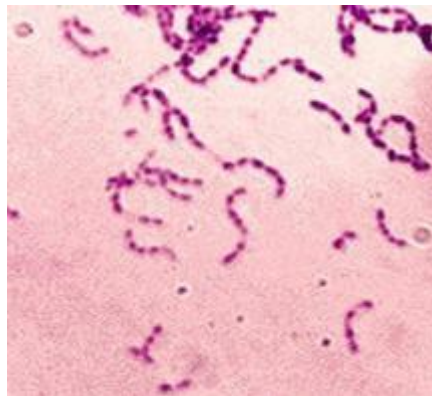
Bakteri yang patogen (*S.aureus*) bersifat invasif, penyebab hemolysis, membentuk pigmen kuning emas dan meragi manitol. Selain itu bakteri staphylococcus dapat pula menyebabkan terjadinya sistitis dan pielitis, bahkan dapat pula menyebabkan terjadinya septicemia, endocarditis, meningitis, abses serebri, sepsis puerpuralis, trombosis sinus kavernosus dan orbitalis, osteomyelitis dan pneumonia. Pada umumnya penyakit-penyakit tersebut disebabkan oleh staphylococcus koagulasa positif (Warsa 1994).

H. *Streptococcus mutans*

1. Sistematika *Streptococcus mutans*

Sistematika bakteri *Streptococcus mutans* menurut *itis.gov* adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Monera
Divisi	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Lactobacilalles
Famili	: Streptococcaceae
Genus	: Streptococcus
Spesies	: <i>Streptococcus mutans</i>



Gambar 4. *Streptococcus mutans*

2. Morfologi bakteri

Streptococcus mutans merupakan bakteri Gram positif, bersifat non-motil (tidak bergerak), bakteri anaerob fakultatif, memiliki bentuk kokus tunggal, bentuk bulat, atau bulat telur tersusun dalam rantai dengan diameter 0,6 – 1,0 μm . Bakteri ini tumbuh secara optimal pada suhu sekitar 18° – 40°C dengan pH antara 7,4 – 7,6 (Marsh 2003). Habitat utama *S. mutans* adalah pada mulut, faring, dan usus dan menjadi bakteri yang paling berperan dalam menyebabkan karies pada gigi (Nugraha 2008).

Streptococcus dibagi menjadi 3 kelompok berdasarkan hemolisis dalam agar darah yaitu: alpha hemolisis (tidak komplit, hemolisis hijau), beta hemolisis (terang, lisis komplit sel darah), dan gamma hemolisis (tidak terjadi hemolisis). Alpha hemolisis disebabkan reduksi zat besi dalam hemoglobin, menjadikan

Streptococcus warna hijau dalam agar darah. Hemolisis beta adalah sel darah merah yang meluruh secara penuh, terang, luas, daerah bersih sekitar koloni bakteri dalam agar darah. Gamma hemolisis merupakan jenis *Streptococcus* yang tidak mengalami hemolisis (Patterson 1996).

S. mutans merupakan bakteri yang bersifat katalase negatif (yang membedakan antara *Streptococcus* dengan *Staphylococcus*), oksidase negatif, dan umumnya termasuk dalam kelompok *Streptococcus* α - hemolitik. *S. mutans* dapat bersifat komensal maupun parasit bagi manusia, hewan, dan tumbuhan saprofit. *S. mutans* memerlukan nutrisi yang kompleks untuk pertumbuhannya, sehingga diperlukan adanya darah atau serum dalam media pertumbuhannya (Wardani 2012).

S. mutans merupakan bakteri patogen pada mulut yang menjadi agen utama penyebab timbulnya plak, gingivitis, dan karies gigi. Bakteri ini bersifat asidogenik, yaitu menghasilkan asam dan bersifat asidurik, mampu tinggal pada lingkungan asam. *S. mutans* mampu menghasilkan suatu polisakarida yang lengket disebut dextran. Konsentrasi asam yang tinggi dapat mengakibatkan demineralisasi email gigi dan menghancurkan fosfat (zat kapur) yang terkandung dalam email gigi, sehingga mengakibatkan terbentuknya rongga atau lubang. Oleh karena kemampuan ini, *S. mutans* bisa menyebabkan kelengketan dan mendukung bakteri lain hidup di email gigi dan meningkatkan pertumbuhan bakteri asidodurik yang lainnya (Nugraha 2008).

3. Patogenesis

Streptococcus mutans adalah salah satu mikroorganisme penyebab terjadinya karies gigi dan akan bertambah parah jika tidak segera ditangani. Pembentukan plak gigi biasanya di pengaruhi setelah memakan sesuatu yang mengandung gula terutama sukrosa, bahkan setelah beberapa menit dilakukan penyikatan gigi, glikoprotein yang lengket (kombinasi molekul protein dan karbohidrat) akan melekat dan bertahan pada gigi untuk mulai membentuk plak pada gigi. Pada waktu yang bersamaan berjuta-juta bakteri *Streptococcus mutans* juga melekat pada glikoprotein tersebut. Meskipun, banyak bakteri lain yang juga melekat pada permukaan gigi tetapi hanya bakteri *Streptococcus mutans* yang dapat

menyebabkan lubang pada gigi (karies). Pada proses selanjutnya, bakteri menggunakan fruktosa dalam suatu metabolisme glikolisis untuk memperoleh energi. Hasil akhir dari glikolisis tersebut pada kondisi aerob berupa asam laktat. Asam laktat kemudian membentuk kadar keasaman yang ekstra untuk menurunkan pH dalam jumlah tertentu dengan menghancurkan zat kapur fosfat di dalam email gigi sehingga mendorong ke arah pembentukan karies (Warganegara dan Restina 2016).

I. Antibakteri

1. Pengertian antibakteri

Antibakteri ialah zat yang dihasilkan oleh suatu mikroba, terutama fungi, yang dapat menghambat atau dapat membasmi mikroba jenis lain. Banyak antibiotik dewasa ini dibuat secara semisintetik atau sintetik penuh. Obat yang digunakan untuk membasmi mikroba harus mempunyai sifat sangat toksis untuk mikroba, tetapi relatif tidak toksik untuk hospes (Ganiswarna 1995).

2. Mekanisme antibakteri

Mekanisme antibakteri merupakan peristiwa penghambatan bakteri oleh antibakteri. Menurut Ganiswarna (1995) Mekanisme kerja antibakteri dapat dikelompokkan sebagai berikut :

Pertama, antimikroba yang mengganggu metabolisme sel mikroba. Antimikroba yang termasuk dalam kelompok ini yaitu sulfonamid, trimetropim, asam p-aminosalisilat (PAS) dan sulfon. Mikroba membutuhkan asam folat untuk berlangsung hidupnya, kuman mensintesis sendiri asam folat dari asam para amino benzoate (PABA). Apabila sulfonamide atau sulfon menang bersaing dengan PABA dalam pembentukan asam folat, maka terbentuk analog asam folat yang nonfungsional. Sehingga kehidupan mikroba terganggu.

Kedua, antimikroba yang menghambat sintesis dinding sel mikroba. Dinding sel bakteri terdiri dari polipeptidoglikan yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Tekanan osmotik alam sel kuman lebih tinggi daripada diluar sel maka kerusakan dinding sel kuman akan menyebabkan terjadinya lisis yang merupakan dasar efek bakterisidal pada kuman yang peka.

Ketiga, antimikroba yang mengganggu keutuhan membran sel mikroba.

Selaput sel berguna sebagai penghalang yang selektif, meloloskan beberapa zat yang terlarut dan menahan zat-zat yang terlarut lainnya. Kerusakan membran sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel mikroba yaitu protein, asam nukleat, nukleotida dan lain-lain.

Keempat, antimikroba yang menghambat sintesis protein. Sel mikroba perlu mensintesis berbagai protein. Sintesis protein berlangsung di ribosom dengan bantuan mRNA dan tRNA. Antibakteri bekerja dengan menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA pada waktu sintesis protein yang abnormal dan fungsional bagi sel mikroba.

Kelima, antimikroba yang menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri. Contohnya yaitu pada rifampisin yang berikatan dengan enzim polymerase RNA sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA sel mikroba begitu juga dengan golongan kuinolon yang menghambat enzim DNA girase pada kuman yang berfungsi membentuk kromosom yang sangat panjang menjadi bentuk spiral hingga bisa memuat sel kuman sekalipun

Daya antibakteri dapat ditentukan berdasarkan nilai KHM dan KBM-nya terhadap pertumbuhan suatu bakteri. Konsentrasi minimum yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri dikenal sebagai konsentrasi hambat minimum (KHM), sedangkan Konsentrasi minimum yang diperlukan untuk membunuh 99,9% bakteri dikenal sebagai konsentrasi bunuh minimum (KBM) (Forbes 2007).

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. Macam macam metode difusi ada 5 yaitu metode *disc diffusion* (tes Kirby & Bauer), E-test, *Ditch-plate technique*, *Cup-plate technique*, *Gradient-plate technique*. Berikut metode difusi:

Pertama, 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.

Kedua, metode E-test 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 jernih yang ditimbulkan yang menunjukkan kadar agen antimikroba yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada media Agar.

Ketiga, *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.

Keempat, *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.

Kelima, *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.

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

Pertama, 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.

Kedua, 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.

J. Media

Media adalah substrat yang diperlukan untuk mengembangbiakan mikroba. Media mengandung zat gizi, vitamin, elemen mikro, dan faktor pertumbuhan lainnya yang memungkinkan mikroba yang susah tumbuh dalam kondisi laboratorium. Media ada berbagai macam seperti media diferensial, media selektif, media sangat selektif, media multi uji, dan media transport. Media diferensial adalah salah satu kategori media yang digunakan untuk mempercepat identifikasi mikroba. Media selektif memiliki bahan kimia yang ditambahkan untuk menghambat pertumbuhan beberapa mikroba tertentu, sehingga beberapa mikroba dapat tumbuh pada media jenis ini. Media selektif dan diferensial dapat dicontohkan oleh *Mac Conkey Agar* (MCA) dan *eosin-metilen biru* (EMB). Keduanya mengandung bahan kimia yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram-positif dan memungkinkan pertumbuhan bakteri Gram-negatif (Pollack 2016).

Bentuk media ada tiga jenis yaitu media padat, media cair dan media semi padat atau semi cair. Pertama, media padat. Bahan media padat ditambahkan antara 12-15 gram tepung agar per 1000 ml media. Media ini pada umumnya dipergunakan untuk bakteri, ragi, jamur, dan kadang-kadang juga mikroalga. Kedua, media cair.

Media cair tidak ditambahkan zat padat, biasanya media cair dipergunakan untuk pembiakan mikroalga tetapi mikroba lain, terutama bakteri dan ragi. Ketiga, media semi padat atau semi cair. Penambahan zat padat pada media ini hanya 50% atau kurang dari seharusnya. Media ini umumnya dipergunakan untuk pertumbuhan mikroba yang banyak memerlukan kandungan air dan hidup anaerob atau fakultatif (Suriawira 2005).

K. Sterilisasi

Bahan atau peralatan yang digunakan dalam bidang mikrobiologi harus dalam keadaan steril. Sterilisasi merupakan pembebasan suatu bahan dari mikroorganisme hidup atau stadium istirahatnya. Cara sterilisasi yang umum digunakan adalah misalnya dengan pemanasan lembap, pemanasan kering, filtrasi, penyinaran atau bahan kimia (Irianto 2013). Sterilisasi panas kering membutuhkan pemaparan pada suhu 100°C sampai 180°C selama 60 menit. Secara umum terdapat dua teknik yang biasa digunakan dalam proses sterilisasi. Teknik yang digunakan tersebut didasarkan pada sifat alat dan bahan yang akan disterilisasi. Adapun kedua teknik tersebut adalah:

Pertama, sterilisasi mekanik/ filtrasi: dikerjakan dalam suhu ruangan dan menggunakan suatu saringan yang berpori sangat kecil (0.22 mikron atau 0.45 mikron) sehingga mikroba tertahan pada saringan tersebut. Sterilisasi ini ditujukan untuk bahan yang peka panas, misalnya larutan enzim dan antibiotik.

Kedua, Sterilisasi fisik: digunakan dengan cara pemanasan atau penyinaran. Terdapat empat macam sterilisasi dengan pemanasan yaitu pemijaran api, panas kering, uap panas, dan uap panas bertekan (Saputera *et al* 2018).

L. Kloramfenikol

Kloramfenikol bekerja dengan jalan menghambat sintesis protein kuman. Yang dihambat ialah enzim peptidil transferase yang berperan sebagai katalisator untuk membentuk ikatan-ikatan peptida pada proses sintesis protein kuman. Efek toksik kloramfenikol pada sel mamalia terutama terlihat pada sistem hemopoetik dan diduga berhubungan dengan mekanisme kerja obat ini. Kloramfenikol

umumnya bersifat bakteriostatik. Pada konsentrasi tinggi kloramfenikol kloramfenikol kadang-kadang bersifat bakterisid terhadap kuman-kuman tertentu. Berebrapa stran *D. pneuminiae*, *H. influenzae* dan *N. meningitides* bersifat resisten; *S. aureus* umumnya sensitif. Obat ini juga efektif terhadap kebanyakan strain *E.coli*, *K. penumoniae* dan *Pr. Mirabilis* (Ganiswarna 1995).

M. Landasan Teori

Beluntas merupakan salah satu tanaman obat tradisional yang cukup tersebar luas di Indonesia (H anggita *et al* 2015). Tanaman beluntas banyak dimanfaatkan sebagai obat gangguan pencernaan pada anak, menghilangkan bau badan, penurun panas, dan nyeri pada persendian. Banyaknya manfaat tumbuhan beluntas kemungkinan disebabkan oleh banyaknya senyawa kimia yang terkandung (Hariana 2013).

Triyanto *et al* (2014) melaporkan bahwa daun beluntas mempunyai kandungan kimia yaitu alkaloid (0,316%), flavonoid (4,18%), tanin (2,351%), minyak atsiri 4,47%, phenolik, asam khlorogenik, natrium, kalsium, magnesium dan fosfor. Minyak atsiri yang terdapat pada daun beluntas yaitu caryophyllene dan isocaryophyllene serta senyawa derivat azulene, dan naphthalene (Arini *et al* 2006). Widyawati *et al* (2013) melaporkan bahwa komponen senyawa minyak atsiri pada daun beluntas terdiri dari 66 komponen (10S, 11S)-Himachala-3-(12)-4-diene (17,13%), dan caryophyllene (11,88%).

Minyak atsiri berperan sebagai antibakteri dengan cara mengganggu proses terbentuknya membran atau dinding sel sehingga membrane atau dinding sel tidak terbentuk atau terbentuk tetapi tidak sempurna. Minyak atsiri yang aktif sebagai antibakteri umumnya yang mengandung gugus hidroksi (-OH) dan karbonil.

Penelitian yang terbaru widyawati *et al* (2013) komponen minyak atsiri yang banyak terkandung pada daun beluntas yaitu caryophyllene. Minyak atsiri caryophyllene merupakan senyawa turunan fenol. Turunan fenol berinteraksi dengan sel bakteri melalui proses adsorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen. Pada kadar rendah terbentuk kompleks protein fenol dengan ikatan yang lemah dan

segera mengalami peruraian, diikuti penetrasi fenol ke dalam sel dan menyebabkan presipitasi serta denaturasi protein. Pada kadar tinggi fenol menyebabkan koagulasi protein dan sel membran mengalami lisis (Juliantina *et al* 2009). Penelitian yang dilakukan oleh Sulaiman *et al* (2006) menunjukkan bahwa pada genus *Pluchea* dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dapat menghambat aktivitas antibakteri pada *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat sebesar 8 mm, sedangkan pada *Escherichia coli* tidak memberikan hambatan.

Isolasi minyak atsiri menggunakan metode destilasi uap-air. Simplisia yang digunakan direbus dengan air mendidih namun tidak kontak langsung dengan air, diberi sekat antara air dan simplisia, biasanya disebut angsang. Prinsip dari metode ini adalah air mendidih dan uap air akan membawa partikel minyak atsiri untuk dialirkan ke kondensor kemudian ke alat pemisah, secara otomatis air dan minyak akan terpisah karena ada perbedaan berat jenis, di mana berat jenis minyak lebih kecil dibandingkan berat jenis air sehingga bisa menyingkat waktu proses destilasi, alatnya sederhana namun dapat menghasilkan minyak atsiri dalam jumlah yang cukup sehingga efisien dalam penggunaan. Minyak yang dihasilkan tidak mudah menguap karena pembawanya adalah air yang tidak mudah menguap (Sastrohamidjojo 2004). Setelah dilakukan destilasi minyak atsiri yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan kromatografi GC-MS dan menggunakan kromatografi lapis tipis.

Antibiotik kloramfenikol digunakan sebagai kontrol pembanding. Kloramfenikol bekerja dengan jalan menghambat sintesis protein kuman. Yang dihambat ialah enzim peptidil transferase yang berperan sebagai katalisator untuk membentuk ikatan-ikatan peptida pada proses sintesis protein kuman. Efek toksik kloramfenikol pada sel mamalia terutama terlihat pada sistem hemopoetik dan diduga berhubungan dengan mekanisme kerja obat ini (Ganiswarna 1995).

Pengujian antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi. Metode difusi digunakan untuk mengetahui diameter zona hambat dari minyak atsiri terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Streptococcus mutans*.

N. Hipotesis

Berdasarkan uraian di atas, maka dapat disusun hipotesis sebagai berikut :

Pertama, minyak atsiri daun beluntas memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Streptococcus mutans*.

Kedua, minyak atsiri daun beluntas paling sensitif menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat tertentu.

Ketiga, komponen minyak atsiri yang terdapat dalam daun beluntas dapat diketahui secara kromatografi lapis tipis dan GC-MS

