

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Yakon (*Smallanthus sonchifolius*)

Yakon (*Smallanthus sonchifolius*) merupakan salah satu tanaman obat yang tumbuh subur di Indonesia yang berasal dari dataran tinggi Andes di Amerika Selatan yaitu salah satu tanaman liar dari famili *Asteraceae* (Iqlima *et al.*, 2017). Tanaman Yakon yaitu tanaman tahunan, tumbuh di lingkungan subtropis dan beriklim hangat di ketinggian berkisar antara 600 sampai 3500 m dan tipe tanah yang bervariasi (Silva *et al.*, 2024) di sebagian wilayah Indonesia, tanaman ini dikenal dengan sebutan daun insulin karena dianggap bermanfaat bagi penurunan gula darah pada penderita diabetes melitus (Utami & Lena, 2022). Tanaman Yakon mempunyai berbagai nama, diantaranya dalam bahasa asing yaitu *mexican sunflower*, *tree marigold*, sedangkan untuk nama umum daun Yakon biasa disebut dengan kembang bulan serta dikenal dengan sebutan daun insulin (Hidayat & Napitupulu, 2015).

2.1.1 Klasifikasi Yakon (*Smallanthus sonchifolius*)

Berdasarkan klasifikasi filogenetik, Yakon (*Smallanthus sonchifolius*) termasuk ke dalam:

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Famili	: <i>Asteraceae</i>
Suku	: <i>Helianthae</i>

Genus : *Smallanthus*

Spesies : *Smallanthus sonchifolius* (Lebeda *et al.*, 2011)



Gambar 1 : Daun Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) (Laredo *et al.*, 2022).

2.1.2 Morfologi

Tanaman Yacon merupakan tanaman perennial yang tingginya dapat mencapai 2 m dan memiliki bunga kecil berwarna kuning (Countreras-Puentes & Alviz-Amador, 2020). Yacon memiliki perakaran 4-20 akar berbentuk bonggol berdaging yang panjangnya dapat mencapai 25 cm dengan diameter 10 cm, Memiliki sistem akar yang terdiri dari akar utama yang tegak lurus dan akar-akar samping yang menyebar. Akar Yacon berbentuk silindris dan biasanya berkembang menjadi umbi-umbi akar yang dapat menyimpan cadangan makanan. Umbi terbentuk karena modifikasi dari jaringan parenkim pada korteks akar. Umbi Yacon adalah organ penyimpanan utama yang berkembang di bawah tanah berbentuk bulat atau oval, dengan ukuran yang bervariasi dan permukaan yang bisa kasar atau halus (Hidayat dan Napitupulu, 2015).

Batang tanaman Yacon tegak dan berbentuk silindris dengan warna hijau. Batangnya berongga dan bisa mencapai ketinggian antara 1,5 hingga 2,5 meter. Permukaan batang halus dengan sedikit bercak-bercak di sepanjang batang. Diameter di bagian tengah batang bervariasi antara 10 dan 28 mm (Lebeda *et al.*, 2011). Tanaman Yacon mempunyai ciri-ciri daunnya yang tunggal, berseling memiliki panjang 26-32 cm dan lebar 15-25 cm, berbentuk bulat telur sampai bulat telur memanjang, mempunyai tepi daun yang bergerigi. Warna daun bervariasi dari hijau muda hingga hijau tua, dan daunnya tersusun secara berselang-seling di sepanjang batang. Perbungaan muncul di ketiak daun dan ujung percabangan, bunga berbentuk tabung dengan mahkota bunga berwarna kuning, kepala sari berwarna hitam dan pada bagian atasnya berwarna kuning, membentuk kumpulan bunga kecil yang tersusun dalam bentuk payung. Tanaman ini biasanya mekar pada akhir musim panas atau awal musim gugur (Lebeda *et al.*, 2011).

Tanaman Yacon menghasilkan buah yang berbentuk kapsul kecil, dan setiap kapsul mengandung beberapa biji. Buah Yacon adalah cypsela (*achene*) yang tidak pecah berbentuk trapesium. Cypsela (*achenes*) yang belum matang berwarna ungu dan berubah menjadi cokelat tua atau hitam saat matang. Achenes berukuran panjang sekitar 3,7 mm dan lebar 2,2 mm. Perbungaan sangat bergantung pada lingkungan daerah tumbuh, di beberapa daerah, seperti Argentina barat laut, pembungaan terjadi sangat lambat dalam siklus tumbuh atau tidak terjadi sama sekali. Sebaliknya, pembungaan sangat intens di sebagian besar klon di Bolivia utara, daerah tumbuh di sekitar Cusco, Peru selatan dan utara, dan Cajamarca.

Di daerah Cajamarca, pembungaan dimulai 6–7 bulan dan mencapai puncaknya 8–9 bulan setelah penanaman. Perbungaan muncul di ketiak daun dan ujung percabangan, bunga berbentuk tabung dengan mahkota bunga berwarna kuning, kepala sari berwarna hitam dan pada bagian atasnya berwarna kuning, membentuk kumpulan bunga kecil yang tersusun dalam bentuk payung. Tanaman ini biasanya mekar pada akhir musim panas atau awal musim gugur (Lebeda *et al.*, 2011).

2.1.3 Kandungan Kimia

Pada penelitian sebelumnya menyatakan daun Yacon mengandung senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid, alkaloid, dan steroid. Ekstrak batang pada tanaman Yacon mengandung flavonoid, alkaloid, fenolik dan kuinon. Ekstrak kulit batang tanaman Yacon mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid, alkaloid, saponin dan fenolik (Febrianti *et al.*, 2021). Sesquiterpen lakton merupakan suatu senyawa yang telah terbukti memiliki aktivitas antibakteri dan antifungi (Ojansivu *et al.*, 2011). Sesquiterpen lakton teridentifikasi dari daun Yacon dan telah teruji aktivitas antimikrobanya yaitu enhidrin, uvedalin, fluktuanin, dan sonchifolin (Lin *et al.*, 2003).

Asam ent-kaurenoat dalam daun Yacon ikut berperan sebagai antimikroba. Senyawa tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur, khususnya pada mikroorganisme Gram positif. Pada mikroorganisme Gram negatif ekstrak daun Yacon tidak dapat bekerja secara signifikan. Bakteri yang telah terbukti dapat dihambat perkembangannya yaitu *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*. Asam klorogenat adalah senyawa golongan fenolik

yang juga mempunyai aktivitas antibakteri. Mekanisme senyawa fenolik sebagai zat antibakteri adalah meracuni protoplasma, merusak dan menembus dinding sel yang menyebabkan kebocoran sel, serta mengendapkan protein sel bakteri pada konsentrasi tinggi, sedangkan pada konsentrasi rendah, menghambat sintesis enzim yang essential (Elawati & Yuanita, 2021).

2.1.4 Bioaktivitas Tanaman Yakon (*Smallanthus sonchifolius*)

Pada penelitian Diana *et al* (2023), ekstrak etil asetat daun Yakon (*Smallanthus sonchifolius*) memiliki aktivitas dalam menghambat enzim α -glukosidase dengan nilai IC_{50} sebesar 45,67ppm, sementara subfraksi terbaik F6.5 memiliki IC_{50} sebesar 42,23 ppm. Aktivitas ini lebih baik dibandingkan kontrol positif berupa akar bosa (IC_{50} sebesar 21,36 ppm) yang menunjukkan efektivitas penghambatan glukosa darah. Proses fraksinasi menggunakan kromatografi kolom menunjukkan bahwa sub-fraksi F6.5 memiliki aktivitas penghambatan tertinggi terhadap enzim α -glukosidase dengan persen inhibisi sebesar 79,43% pada kolom kedua. Metode yang digunakan adalah modifikasi pengujian aktivitas enzim α -substrat. Hasil menunjukkan bahwa semakin rendah nilai IC_{50} , semakin tinggi kemampuan penghambatannya. (Diana *et al.*, 2023)

Penelitian yang dilakukan oleh Ramonah *et al* (2020) ekstrak etanol daun Yakon menunjukkan zona hambat yang meningkat seiring peningkatan konsentrasi dengan diameter hambat terbesar pada konsentrasi 15% ($2,528 \pm 0,02$ mm), melebihi kontrol positif ciprofloxacin (1,758 mm). Ekstrak etanol daun Yakon

memiliki potensi sebagai sumber senyawa fenolik dan flavonoid dengan aktivitas antibakteri yang signifikan terhadap *Staphylococcus aureus* (Ramonah *et al.*, 2020).

Berdasarkan penelitian sebelumnya isolat bakteri endofit B2d dari batang tanaman Yacon (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Rob.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *S. thypimurium* dengan kategori hambatan kuat. Zona hambat tertinggi yang dihasilkan isolat B2d terhadap bakteri *S. aureus* dan *S. thypimurium* berturut-turut sebesar 15,5 mm pada waktu fermentasi ke-40 jam dan sebesar 10,25 mm pada waktu fermentasi ke-48 jam (Iqlima *et al.*, 2017).

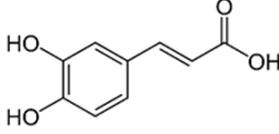
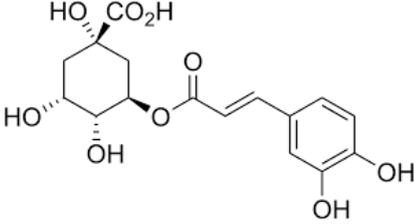
Pemanfaatan tanaman Yacon sebagai pangan fungsional, Masyarakat lokal Andes, Amerika Selatan, menjadikan Yacon sebagai tanaman pertanian yang penting. Umbi tanaman ini dapat dimakan digunakan oleh masyarakat Andes tidak hanya sebagai sayur atau makanan tradisional tetapi juga digunakan untuk pengobatan. Bagian daun Yacon mengandung protein dan lipid yang lebih banyak dibandingkan dengan bagian umbi dan batang, sedangkan kandungan serat dan sakarida lebih banyak ditemukan pada umbi kering (Countreras-Puentes & Alviz Amador, 2020).

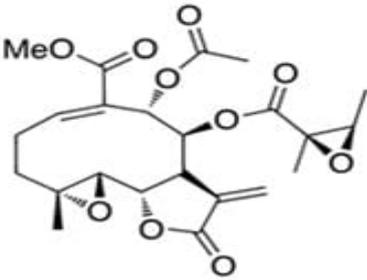
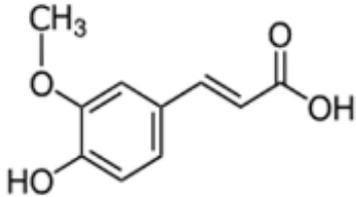
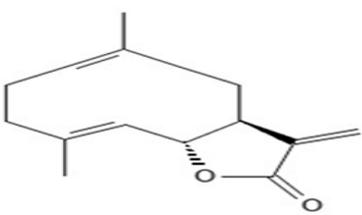
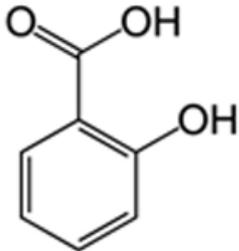
Masyarakat biasa mengkonsumsi bagian daun tanaman bentuk teh atau air rebusan daun untuk mendapatkan khasiat menurunkan kadar glukosa darah pada penderita diabetes dan menunjukkan bahwa teh yang dibuat dari daun Yacon meningkatkan konsentrasi insulin plasma pada tikus diabetik (Aditya *et al.*, 2016).

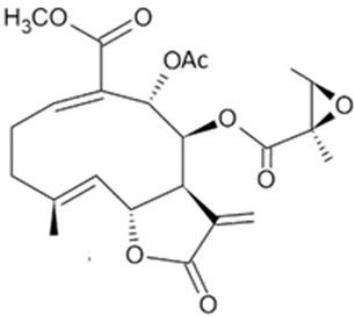
Daun Yakon dapat dimanfaatkan sebagai pakan ternak dan pupuk tanaman, serta dapat dijadikan sebagai pestisida untuk mengendalikan hama dan penyakit tumbuhan (Hidayat & Napitupulu, 2015). Berbagai macam vitamin yang terkandung dalam tanaman Yakon antara lain vitamin B (tiamin, riboflavin, niacin) dan vitamin C (asam askorbat) (de Almeida Paula *et al.*, 2015).

Tabel 1 . Senyawa Bioaktif di Akar dan Daun Yakon

Sumber : (Silva *et al.*, 2024)

Senyawa Bioaktif	Struktur	Efek Biologis
Asam kafeat		Efek metabolik: antidiabetik; efek lain: antidepresan, antikanker, dan antivirus
Asam klorogenat		Efek metabolitik: antiinflamsi, antioksidan dan antidiabetik.
Enhidrin		Efek metabolik: antidiabetik dan antioksidan; efek lainnya: antimikroba

		
Asam ferulat		Efek metabolik: antidiabetik; efek lain: antimikroba dan antikarsinogenik
Melampolide		Efek metabolik: antioksidan dan mengurangi angiogenesis efek lainnya: antimikroba, penghambatan sintesis DNA, dan peningkatan apoptosis sel
Asam fenolik		Efek metabolik: anti- inflamasi, antidiabetik, dan antioksidan; efek lainnya: antimikroba dan antikanker
Uvedafolin		Efek metabolik: antidiabetik dan anti-inflamasi; efek

		lainnya: anti-bakteri (melawan Anthracis dan MRSA) dan antikanker
--	---	---

2.2 Jamur Endofit

2.2.1 Definisi Jamur Endofit

Secara harfiah, kata endofit berarti "di dalam tanaman" (endon Gr. = Di dalam, phyton = tanaman). Istilah endofit ini pertama kali diperkenalkan oleh de Bary pada tahun 1866. Endofit didifinisikan secara luas mengarah pada organisme yang ditemukan dalam jaringan tanaman hidup tanpa mengganggu tanaman atau menimbulkan penyakit dan telah diamati selama lebih dari 400 juta tahun (Abo Nouh, 2019). Keberadaan jamur endofit pada setiap tanaman sangat beragam. Jamur endofit hidup secara berkolonisasi di setiap organ tanaman, terutama pada bagian akar dan batang. Batang memiliki dinding sel parenkim yang berfungsi sebagai tempat hidup miselium jamur endofit. Jamur endofit menginfeksi tanaman sehat pada jaringan tertentu tanpa menyebabkan tanda-tanda infeksi. Jamur endofit kemudian menghasilkan enzim-enzim, metabolit sekunder, mikotoksin, dan antibiotik yang dapat bermanfaat bagi fisiologi dan ekologi tanaman inang terhadap penyakit yang disebabkan oleh patogen tanaman serta jamur endofit memperoleh nutrisi untuk melengkapi siklus hidup tanaman inang (Rahayu *et al.*, 2019).

2.2.2 Potensi Jamur Endofit

Pemanfaatan jamur endofit termasuk salah satu tindakan untuk mencegah kelangkaan tanaman obat. Jamur endofit pada saat ini telah dikembangkan sebagai sumber obat antibakteri dengan memanfaatkan senyawa bioaktifnya untuk mengatasi kasus resistensi pada berbagai antibakteri terhadap antibiotik. Jamur endofit menghasilkan berbagai metabolit dari berbagai kelas kimia, termasuk alkaloid, flavonoid, steroid, terpenoid, dan senyawa fenolik (Wen *et al.*, 2022).

Tanaman mengandung berbagai jamur endofit yang dapat menghasilkan metabolit sekunder. Jamur endofit hidup pada tanaman secara simbiosis mutualisme, dimana jamur endofit memperoleh nutrisi dari hasil proses metabolisme inang dan dapat melindungi tanaman dari serangan hama dan patogen, sedangkan tanaman inang menerima nutrisi dan zat aktif yang digunakan untuk keberlangsungan hidup (Sari, 2020). Jamur endofit dapat berfungsi sebagai sumber metabolit bioaktif, seperti alkaloid, asam fenolat, saponin, kuinon, steroid, terpenoid, dan tanin, yang berfungsi utama untuk melindungi tanaman inang dari gangguan biotik dan abiotik (Lacava *et al.*, 2022). Daun Yakon menghasilkan metabolit sekunder dengan aktivitas biologis, seperti antikanker, antivirus, antijamur, antioksidan, dan antibakteri, yang bermanfaat bagi tanaman dan berpotensi dalam bidang kesehatan. Ekstrak dari jamur endofit pada daun Yakon menunjukkan potensi sebagai agen antibakteri, penggunaan sebagai sumber senyawa baru dalam pengobatan infeksi bakteri (Prahesti *et al.*, 2018).

Tabel 2. Isolat Jamur Endofit yang memiliki aktivitas antibakteri

Isolat Jamur	Tanaman Inang	Bakteri Uji	Diameter Zona Bening (mm)	Referensi
<i>Aspergillus terreus</i>	Kunyit (<i>C. longa</i>)	<i>S. aureus</i>	20	(Vo <i>et al.</i> , 2020)
<i>Fusarium sp.</i>	Kunyit (<i>C. longa</i>)	<i>S. aureus</i> <i>E. coli</i>	4.3 5	(Mahapatra <i>et al.</i> , 2020)
<i>Ceratobasidium ramicola</i>	Mangga (<i>C. mangga</i>)	<i>S. aureus</i>	13	(Muazzam & Darah, 2020)
<i>Arthrinium sp.</i>	Jahe merah (<i>Z. cassumunar</i>)	<i>S. aureus</i> <i>E. coli</i>	9.5 ± 1.9 12.8 ± 1.8	(Pansanit & Pripdeevech, 2018)
<i>Hypomontagnella monticulosa</i>	<i>Z. griffithii</i>	<i>S. aureus</i> <i>E. coli</i>	24 ± 3.96 26.83 ± 1.56	(Lutfia <i>et al.</i> , 2021)
<i>Aspergillus terreus</i>	<i>Z. nimmonii</i>	<i>S. aureus</i> <i>E. coli</i>	13.9±0.2 14.8±0.4	(Das <i>et al.</i> , 2020)

2.2.3 Identifikasi Jamur Endofit

Identifikasi jamur endofit dapat dilakukan secara mikroskopis, makroskopis dan secara molekuler. Identifikasi jamur endofit secara makroskopik dilakukan berdasarkan warna, tekstur permukaan atas dan bawah, tepi koloni, dan lingkaran-lingkaran konsentris. Sedangkan, pengamatan secara mikroskopis dapat dilakukan

dengan cara mengambil isolat jamur endofit secara aseptis menggunakan jarum ose dan diletakkan di atas permukaan object glass, lalu ditetesi oil imersi kemudian diamati di bawah mikroskop. Ciri- ciri mikroskopis yang diamati meliputi struktur hifa dan struktur reproduksi (Pakaya, 2022).

Identifikasi molekuler yaitu dengan melakukan isolasi DNA. Isolasi DNA adalah proses mengeluarkan dan mendapatkan DNA dari sel. Prinsip isolasi DNA memperoleh dengan cara merusak komponen sel tanpa merusak DNA. Keberhasilan proses isolasi DNA seringkali sangat menentukan hasil selanjutnya. Dalam proses isolasi DNA, kualitas DNA yang dihasilkan akan sangat bergantung dari kondisi tanaman yang digunakan (Maryam *et al.*, 2022)

2.3 Antibiotik

2.3.1 Definisi Antibiotik

Antibiotik merupakan obat yang digunakan untuk mengatasi infeksi bakteri. Antibiotik bisa bersifat bakterisid (membunuh bakteri) atau bakteriostatik (menghambat berkembang biaknya bakteri). Antibiotik dikelompokkan berdasarkan mekanisme kerja, struktur kimia, dan spektrum aktivitas antibakterinya. Spektrum antibiotik dibedakan atas aktivitas terhadap bakteri Gram-positif, Gram-negatif, aerob, dan anaerob. Antibiotik disebut berspektrum luas bila aktivitasnya mencakup dua kelompok bakteri atau lebih (Permenkes RI, 2021). Di Indonesia, penggunaan antibiotik tidak hanya untuk pengobatan infeksi akut dan kronis, tetapi juga sebagai profilaksis. Antibiotik bekerja dengan beberapa mekanisme, antara lain: (1) merusak membran sel dengan mengganggu permeabilitas membran selektif, yang mengakibatkan kehilangan ion dan

terganggunya gradien ion seluler, sehingga menyebabkan kerusakan dan kematian sel organisme, (2) menghambat sintesis senyawa metabolik biologis, (3) menghambat sintesis asam nukleat, (4) menghambat sintesis protein, dan (5) merusak dinding sel bakteri melalui penghambatan sintesis dinding sel, degradasi struktur dan fungsi dinding sel, serta pembentukan cincin β -laktam (Malik *et al.*, 2019).

2.3.2 Resistensi Antibiotik

Resistensi didefinisikan tidak terhambatnya pertumbuhan bakteri seiring pemberian antibiotik dalam dosis tertentu atau dengan kadar hambat minimalnya. Kondisi resistensi ini terjadi ketika bakteri menjadi kebal sehingga obat atau zat yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri kehilangan efektivitasnya. Ada beberapa faktor yang menjadi latar belakang munculnya resistensi terhadap antibiotik atau agen antibakteri, antara lain derajat ekspresi resistensi strain bakteri dan kemampuannya untuk bertahan melalui mekanisme resistensi. Resistensi antibiotik terjadi akibat penggunaan antibiotik yang berlebihan, tanpa resep dokter dan tidak tepat dalam pengobatan. Bakteri dikategorikan resisten apabila pertumbuhannya tidak dapat terhambat oleh antibiotik pada dosis maksimum. Hal ini disebabkan oleh mutasi atau adanya transfer gen resistensi yang menyebabkan bakteri menjadi resisten terhadap antibiotik (Syah Putra *et al.*, 2020).

2.4 Bakteri

Bakteri merupakan organisme hidup yang berukuran sangat kecil dan hanya dapat diamati dengan menggunakan mikroskop bersel tunggal dengan ukuran

panjang 0,5-10 μ dan memiliki lebar 0,5-2,5 μ Bakteri termasuk ke dalam golongan prokariot. Agen penyakit menular pada manusia termasuk lima kelompok utama organisme yaitu bakteri, jamur, protozoa, helminthes, dan virus. Bakteri termasuk dalam kingdom prokariota. Mikroorganisme cenderung diasosiasikan sebagai penyakit-penyakit penyebab infeksi. Bakteri dapat dibagi menjadi dua golongan utama berdasarkan susunan dinding selnya, yaitu bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Susunan dinding sel ini mempengaruhi kemampuan bakteri dalam menahan zat warna pertama pada pewarnaan Gram. Bakteri Gram positif berwarna ungu karena dapat menahan zat warna kristal violet, sedangkan bakteri Gram negatif berwarna merah karena menahan zat warna kedua, yaitu safranin (Rollando, 2019).

2.4.1 *Escherichia coli*

Bakteri *E. coli* ditemukan pada tahun 1885 oleh Theodor Escherich dan diberi nama sesuai dengan nama penemunya. *E. coli* merupakan bakteri berbentuk batang dengan panjang sekitar 2 micrometer dan diameter 0.5 micrometer. Volume sel *E. coli* berkisar 0.6-0.7 μm^3 . Bakteri ini dapat hidup pada rentang suhu 20-40°C dengan suhu optimumnya pada 37°C dan tergolong bakteri Gram negatif. *E. coli* merupakan Bakteri yang hidup di dalam usus manusia dan memiliki peran untuk menjaga kesehatan sistem pencernaan. Bakteri tersebut umumnya tidak berbahaya. Namun, terdapat beberapa jenis *E. coli* yang dapat mengeluarkan racun dan menjadi penyebab diare atau penyakit tertentu lainnya. Jenis bakteri *E. coli* yang berbahaya tersebut biasanya masuk ke dalam tubuh manusia melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi (Rollando, 2019).

Klasifikasi *Escherichia coli* menurut (Hammadi & Al-Mousawi, 2021)

Kingdom : *Eubacteria*
Filum : *Proteobacteria*
Class : *Gammaproteobacteria*
Ordo : *Enterobacteriales*
Famili : *Enterobacteriaceae*
Genus : *Escherichia*
Spesies : *Escherichia coli*

2.4.2 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus adalah bakteri Gram positif dan berbentuk kokus yang menghasilkan warna ungu pada pewarnaan Gram. Warna ungu disebabkan karena bakteri mempertahankan warna pertama, yaitu kristal violet. Perbedaan sifat Gram dipengaruhi oleh kandungan pada dinding sel, yaitu bakteri Gram positif kandungan peptidoglikan lebih tebal jika dibanding dengan Gram negatif. *Staphylococcus aureus* tidak bergerak, tidak membentuk spora dan bersifat katalase positif. Bakteri ini tahan panas, kadar garam yang tinggi dan tahan kekeringan. Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh pada suhu 15-40°C dan tumbuh optimum pada suhu 35°C. *S.aureus* salah satu bakteri penyebab infeksi tersering di dunia. *S. aureus* berukuran 0,5-1 µm, tidak berspora dan non-motil (Hayati *et al.*, 2019).

Klasifikasi *S aureus* adalah sebagai berikut:

Kingdom : *Monera*
Filum : *Firmicutes*
Class : *Firmibacteria*
Ordo : *Eubacteriales*
Famili : *Micrococcaceae*
Genus : *Staphylococcus*
Spesies : *Staphylococcus aureus* (Rollando, 2019)

2.5 Ekstraksi

2.5.1 Definisi Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu metode pemisahan suatu zat yang didasarkan pada perbedaan kelarutan terhadap dua cairan tidak saling larut yang berbeda, biasanya yaitu air dan yang lainnya berupa pelarut organik. Metode pemisahan ekstraksi menggunakan prinsip kelarutan *like dissolve like* dimana suatu pelarut polar akan melarutkan senyawa polar dan pelarut non polar akan melarutkan senyawa non polar (Simorangkir *et al.*, 2019)

2.5.2 Tujuan Ekstraksi

Tujuan ekstraksi yaitu untuk menarik atau memisahkan senyawa dari simplisia atau campurannya. Pemilihan metode dilakukan dengan memperhatikan senyawa, pelarut yang digunakan serta alat yang tersedia. Metode ekstraksi yang umum digunakan adalah maserasi dan refluks (Nugroho, 2017).

2.5.3 Metode Ekstraksi

a. Maserasi

Maserasi merupakan metode ekstraksi yang paling umum digunakan. Meskipun demikian, metode ini masih secara luas digunakan karena beberapa kelebihan seperti biaya yang murah, peralatan yang sederhana, serta tanpa perlaksanaan panas sehingga menjadi pilihan tepat untuk ekstraksi senyawa-senyawa yang tidak tahan panas (termolabile). Prosedur maserasi adalah dengan merendam bahan baku yang telah disiapkan (dikeringkan dan digiling) ke dalam pelarut yang sesuai pada suatu bejana dan ditempatkan pada suhu ruang dan ditunggu untuk beberapa waktu. Pengadukan secara kontinyu atau berkala juga dapat dilakukan untuk mempercepat proses ekstraksi (Nugroho, 2017).

Jika titik jenuh, atau keseimbangan, telah tercapai antara konsentrasi senyawa metabolit pada larutan ekstrak dan konsentrasi senyawa metabolit pada bahan, proses ekstraksi dapat dihentikan. Setelah proses selesai, larutan ekstrak dapat disaring dengan kertas saring untuk membedakannya dari bahan aslinya. Untuk meningkatkan rendemen, maka prosedur di atas dapat diulangi hingga dua atau tiga kali dengan menggunakan sisa/ampas bahan hasil ekstraksi tahap pertama. Hal ini dimungkinkan karena pada ekstraksi tahap pertama, tepatnya pada saat titik equilibrium dimana kesetimbangan konsentrasi tercapai, masih ada sisa senyawa metabolit yang tertinggal pada bahan dan masih berpeluang untuk diambil kembali dalam rangka meningkatkan rendemen totalnya (Nugroho, 2017).

b. Reflux

Ekstraksi dengan metode reflux saat ini banyak digunakan karena dinilai murah, sederhana, dan menghasilkan rendemen tinggi dibandingkan metode maserasi atau perkolasi. Pada metode ini, pelarut diputar kembali secara kontinyu melalui pengkondensasian berulang menggunakan kondensor. Bahan yang akan diekstrak direndam dalam pelarut dalam bejana yang dipanaskan, dan pelarut yang menguap akan dikondensasikan kembali ke dalam bejana. Proses ini memungkinkan ekstraksi berlangsung secara efisien dengan meminimalkan penggunaan pelarut dan meningkatkan rendemen ekstrak karena suhu tinggi mempercepat kerusakan sel dan pelarutan senyawa. Namun, kelemahan metode ini adalah risiko degradasi senyawa yang tidak stabil pada suhu tinggi dan biaya energi yang lebih besar untuk pemanasan dan pendinginan (Nugroho, 2017).

c. Soxhlet

Prinsip ekstraksi dengan metode soxhlet melibatkan bahan yang telah dihaluskan dan dibungkus dalam kertas saring, kemudian dimasukkan ke dalam alat soxhlet yang berisi pelarut di dalam labu. Saat dipanaskan, pelarut akan menguap, terkondensasi, dan menyiram bahan, sehingga senyawa metabolit dalam bahan akan larut. Larutan ekstrak yang terbentuk akan terpompa kembali ke dalam labu, dimana pelarut akan menguap dan dikondensasi lagi. Proses ini berlangsung terus-menerus, mempercepat ekstraksi dan mengurangi jumlah pelarut yang digunakan. Kelebihan

metode ini adalah efisiensi dan kecepatan ekstraksi, namun kelemahannya adalah risiko kerusakan senyawa yang sensitif terhadap panas akibat pemanasan tinggi (Nugroho, 2017).

2.6 Metode Pengujian Aktivitas Antibakteri

2.6.1 Metode Difusi

Dalam metode ini, penentuan aktivitas dilihat dari kemampuan perpindahan zat antimikroba dalam lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa ada atau tidaknya zona bening yang akan terbentuk di sekeliling zat antimikroba pada waktu inkubasi. Metode difusi dapat dikelompokkan menjadi 3 yaitu:

a. Metode *Kirby-Bauer test* (difusi cakram)

Cara ini sering digunakan untuk menentukan sensitivitas bakteri terhadap berbagai macam antimikroba yaitu menggunakan suatu cakram yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antimikroba. Cakram tersebut kemudian diletakkan pada media agar yang telah diinokulasi mikroba uji. Selanjutnya dilakukan inkubasi selama 18-24 jam di suhu 35°C. Pertumbuhan dari mikroba dilihat dari zona bening yang muncul disekitar kertas cakram. Kelebihan dari metode ini adalah jumlah zat yang digunakan dapat diatur pemakaiannya, mudah dan cepat untuk dilakukan (Nurhayati *et al.*, 2020).

b. Parit (*ditch*)

Suatu media agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji dibuat parit. Parit diisi dengan zat antimikroba, kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu optimum yang sesuai untuk mikroba uji. Hasil dilihat dari zona hambat yang terbentuk di sekitar parit. Metode ini khusus untuk sediaan uji dalam bentuk salep atau krim (Rollando, 2019).

c. Sumuran (*diffusion assay*)

Pada media agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji dibuat suatu sumuran kemudian diisi dengan zat antimikroba. Lalu setiap lubang diisi dengan zat uji dan diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan mikroba uji, dilakukan pengamatan dengan melihat ada atau tidaknya zona bening sekitar sumuran. Hambatan yang terbentuk disekeliling lubang merupakan tanda untuk menilai pertumbuhan bakteri. Pengukuran luas zona hambat pada metode ini sangatlah mudah dibandingkan metode lain, tapi dalam pembuatannya lumayan susah karena media mudah retak (Nurhayati *et al.*, 2020).

2.6.2 Metode Dilusi

Metode ini dilakukan dengan menggabungkan zat antimikroba dan media, yang selanjutnya diinokulasikan dengan mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan mengamati pertumbuhan mikroba dalam media. Aktivitas zat antimikroba ditentukan dengan melihat Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) yang merupakan konsentrasi paling kecil dari zat antimikroba uji yang masih memberikan efek

penghambatan terhadap pertumbuhan mikroba uji. Metode ini terbagi atas dua cara antara lain:

a. Pengenceran Serial dalam Tabung Uji

Uji dilakukan menggunakan deretan tabung reaksi yang diisi dengan inokulum bakteri dan larutan antibakteri dengan konsentrasi berbeda. Zat uji diencerkan sesuai serial dalam media cair, lalu diinokulasikan dengan bakteri dan diinkubasi pada waktu dan suhu yang sesuai dengan mikroba uji. Aktivitas zat ditentukan dengan melihat kekeruhan yang terjadi pada tabung sebagai Konsentrasi Hambatan Minimal (KHM).

b. Penapisan Lempeng Agar

Cara ini dikerjakan dengan pengenceran inokulum dalam media agar dan dituangkan ke cawan Petri. Setelah agar membeku, tanamkan bakteri, dan diinkubasi pada waktu dan suhu tertentu. Konsentrasi terendah dari larutan zat antibakteri yang masih memberikan hambatan terhadap pertumbuhan mikroba ditetapkan sebagai Konsentrasi Hambatan Minimal (KHM) (Etikasari *et al.*, 2023).

2.7 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan metode pemisahan komponen kimia berdasarkan adsorpsi dan partisi, yang ditentukan oleh fase diam (adsorben) dan fase gerak (eluen). Kromatografi Lapis Tipis (KLT) digunakan untuk menentukan banyaknya komponen dalam campuran, identifikasi senyawa, memantau berjalannya suatu reaksi, namun secara utama KLT digunakan untuk

menentukan kemurnian serta identitas dari suatu senyawa isolat. Nilai R_f didefinisikan sebagai jarak yang ditempuh oleh senyawa dibagi dengan jarak yang ditempuh oleh garis depan fase pengembang (Haris *et al.*, 2023).

Prinsip dari metode KLT ini adalah suatu analit bergerak naik atau melintasi fase diam (paling umum digunakan gel silica), dibawah pengaruh fase gerak (biasanya campuran pelarut organik), yang bergerak melalui fase diam oleh kerja kapiler. Komponen kimia akan naik mengikuti fase gerak akibat daya adsorpsi dari fase diam (adsorben). Kemampuan menyerap dari fase diam terhadap masing-masing komponen kimia berbeda-beda tergantung tingkat kepolarannya, sehingga dengan adanya perbedaan daya serap ini, akan terjadi pemisahan dari masing-masing komponen. Kromatografi lapis tipis ini mudah dilakukan, prosedur sederhana dan deteksi senyawa dapat dilakukan melalui reaksi kimia menggunakan reagen penampak yang sesuai (Haris *et al.*, 2023).

