

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Tentang Tanaman Sirsak (*Annona muricata* L.)

A.1. Sistematika Tanaman

Berdasarkan hasil determinasi di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) Universitas Tanjungpura, tanaman sirsak memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Super divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i> (dicots)
Subkelas	: <i>Magnoliidae</i>
Ordo	: <i>Magnoliales</i>
Famili	: <i>Annonaceae</i>
Genus	: <i>Annona</i>
Spesies	: <i>Annona muricata</i> Linn

Famili *Annonaceae* memiliki banyak jenis, selain tanaman buah juga tanaman hias, yaitu bunga Kenanga (*Canarium odoratum* Baill.), serta kerabat dekat sirsak yaitu Srikaya (*A. squamosa* L.), Nona (*A. Reticulata* L.) (Radi, 2002).

Sirsak merupakan tanaman pendatang yang berasal dari daerah tropis di benua Amerika, yaitu hutan Amazon (Amerika Selatan), Karibia, dan Amerika Tengah. Kedatangan sirsak di Indonesia diduga dibawa oleh bangsa Belanda pada abad ke-19 tepatnya pada masa penjajahan sehingga wajar jika kini banyak yang menyebut sirsak sebagai nangka belanda atau durian belanda. Tanaman sirsak yang dibawa bangsa Belanda ke Indonesia nyatanya tumbuh subur dan berkembang dengan baik karena iklim tropis Indonesia yang cocok bagi sirsak (Rahima, 2011; Mardiana dan Ratnasari, 2013). Tanaman sirsak pada awalnya merupakan tanaman liar yang kemudian dikembangkan menjadi tanaman pekarangan (Sukarmin dan Fatria, 2011).

A.2. Sinonim Tanaman

Diberbagai negara, buah sirsak dikenal dengan nama thurian thet, thurian khaek (Thailand); guayabano (Filifina); graviola (Brazil); epineux (Perancis); toge-banreisi (Taiwan); durian benggala (India); sauersack sausap (Papua Nugini); dan stachelannone (Jerman) (Mardiana dan Ratnasari, 2013). Nama sirsak di Indonesia dikenal sebagai nangka sebrang, nangka landa (Jawa), nangka walanda, sirsak (Sunda), nangka buris (Madura), srikaya jawa (Bali), deureuyan belanda (Aceh), durio ulondro (Nias), serekaja (Bugis), durian betawi (Minangkabau), langelo walanda (Gorontalo), san naka walanda (Ternate) serta jambu landa (Lampung). Nama sirsak sendiri berasal dari Bahasa Belanda, zuurzak, yang artinya kantung asam (Rahima, 2011).

A.3. Morfologi Tanaman

Sirsak merupakan tanaman tropis yang bersifat tahunan (perennial). Sirsak berupa tanaman perdu dengan tinggi sekitar 3-10 m. Tajuk sirsak memiliki bentuk unik, yaitu bercabang hampir mulai dari pangkalnya. Tanaman ini memiliki kayu yang keras, tetapi umumnya kecil, agak liat, dan mudah patah. Daun sirsak berbentuk bulat panjang dengan ujung lancip pendek, berukuran (8-16) cm x (3-7) cm. Tangkai daun panjangnya 3-7 mm. Daun tuanya berwarna hijau tua, sedangkan daun muda berwarna hijau kekuningan. Daun sirsak tebal dan agak kaku dengan urat daun menyirip atau tegak pada urat daun utama. Aroma yang ditimbulkan daunnya terkadang menimbulkan bau yang tidak sedap (Mardiana dan Ratnasari, 2013).

Akar tanaman sirsak cukup dalam karena dapat menembus tanah sampai kedalaman 2 m. Tanaman sirsak berbunga setiap tahun. Bunga sirsak berukuran besar, soliter, berwarna kuning kehijauan dan aroma yang ditimbulkan bunga sirsak berbau tidak sedap sehingga jarang ada serangga yang membantu proses penyerbukan (WHO, 2009; Mardiana dan Ratnasari, 2013). Buah sirsak berbentuk ovoid atau lonjong dengan panjang 30 cm, berwarna hijau dan lembut. Kulit buah dilapisi dengan duri-duri halus dan tangkai buah menguning. Daging buah berwarna putih, lunak, agak asam dan berbiji hitam pipih di dalamnya. Biasanya,

buah siap dipanen setelah tiga bulan dari terjadinya pembungaan (WHO, 2009; Purwatresna, 2012; Mardiana dan Ratnasari, 2013). Gambaran morfologi tanaman sirsak dapat dilihat pada gambar 2.1 berikut.



Gambar 2.1. Tamanam sirsak (*Annona muricata* L.). (A). Buah sirsak, (B). Bunga sirsak, (C). Daun sirsak (Data Primer, 2013)

A.4. Habitat Tanaman

Tanaman Sirsak dapat tumbuh di daerah tropis dan subtropis (Purwatresna, 2012). Selain itu, tanaman ini dapat tumbuh pada berbagai tipe tanah, baik yang kaya unsur hara dan berpengairan baik, maupun lahan marginal seperti tanah asam, tanah kering, dan tanah berpasir. Tetapi untuk memperoleh hasil buah yang banyak dan berukuran besar, sirsak sebaiknya ditanam di daerah yang tanahnya cukup mengandung air. Di Indonesia, sirsak tumbuh dengan baik pada daerah yang mempunyai ketinggian kurang dari 1000 meter di atas permukaan laut (Wicaksono, 2011; Mardiana dan Ratnasari, 2013).

A.5. Kandungan Kimia

Tanaman sirsak atau famili *Annonaceae* mengandung senyawa aktif berupa *acetogenins* yang diduga bersifat larvasidal, insektisida, antiparasit, dan bakterisida (Mulyawati *et al.*, 2010). Selain senyawa *acetogenins*, tanaman sirsak juga mengandung senyawa tanin, fosfor, hidrat arang, vitamin (A,B, dan C),

fitosterol, kalsium oksalat, dan alkaloid (Agromedia, 2008). *Acetogenins* merupakan zat antikanker yang dapat membunuh sel-sel kanker tanpa mengganggu sel-sel sehat dalam tubuh manusia. Fenol merupakan salah satu gugus dari *acetogenins*. Fenol sering digunakan sebagai antiseptik dan antibakteria. Mekanisme kerja senyawa ini adalah dengan penghancuran dinding sel dan presipitasi protein sel dari mikroorganisme sehingga terjadi koagulasi dan kegagalan fungsi mikroorganisme tersebut (Hermawan dan Laksono, 2013).

Daun sirsak mengandung senyawa flavanoid, tanin, dan triterpenoid (Artini *et al.*, 2012). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Sari *et al.*, (2010) menggunakan uji tabung dan identifikasi dengan kromatografi lapis tipis, infusa daun sirsak mengandung senyawa flavonoid, polifenol, dan alkaloid. Purwatesna (2012) dalam hasil penelitiannya menyatakan bahwa, ekstrak air maupun ekstrak etanol 70% daun sirsak keduanya positif mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan steroid. Hal ini sesuai dengan Asprey & Thornton (2000) dalam Purwatesna (2012) yang menyebutkan daun sirsak memiliki kandungan diantaranya adalah flavonoid, alkaloid, dan fitosterol. Hasil fitokimia pada ekstrak etanol juga sesuai dengan Indraswari (2008) dalam Purwatesna (2012) yang menyatakan bahwa metabolit sekunder yang mampu larut dalam etanol diantaranya steroid, alkaloid basa, dan flavonoid. Purwatesna (2012) juga melaporkan hasil dalam penelitiannya bahwa rendemen ekstrak etanol daun sirsak lebih tinggi jika dibandingkan rendemen ekstrak air, hal ini menunjukkan bahwa senyawa metabolit sekunder pada daun sirsak lebih banyak yang bersifat semipolar dibandingkan senyawa polar.

Alkaloid merupakan senyawa basa, efek bakterisida senyawa basa disebabkan oleh denaturasi protein (Sari *et al.*, 2010). Alkaloid memiliki aktivitas antibakteri yang kuat. Mekanisme yang diduga adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Rachmaeati *et al.*, 2009). Mekanisme lainnya yaitu melalui peran sebagai interkalator DNA dan inhibisi sintesis DNA melalui penghambatan topoisomerase (Karou *et al.*, 2006).

Flavonoid dan polifenol merupakan senyawa fenol, turunan fenol bekerja sebagai antiseptik dan disinfektan dengan cara denaturasi dan koagulasi protein sel bakteri (Sari *et al.*, 2010). Dinding sel bakteri yang terkena flavonoid akan kehilangan permeabilitas sel. Flavonoid juga menginduksi kebocoran membran yang membuat membran lebih permeabel sehingga terjadi lisis dan gangguan keseimbangan elektrokimia yang penting bagi kehidupan sel. Mekanisme lainnya yaitu dengan menghambat sintesis asam nukleat (Cushnie dan Andrew, 2005; Karlina, 2013).

Saponin akan mengganggu tegangan permukaan dinding sel, meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri sehingga dapat mengubah struktur dan fungsi membran, menyebabkan denaturasi protein membran sehingga membran sel akan rusak dan lisis (Darsana *et al.*, 2012; Karlina, 2013).

Tanin juga memiliki aktivitas antibakteri, dan secara garis besar mekanisme yang diperkirakan adalah toksisitas tanin dapat merusak membran sel bakteri, senyawa astringent tanin dapat menginduksi pembentukan kompleks senyawa ikatan terhadap enzim atau substrat mikroba dan pembentukan suatu kompleks ikatan tanin terhadap ion logam yang dapat menambah daya toksisitas tanin itu sendiri (Juliantina R *et al.*, 2009). Tanin diduga dapat mengkerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Akibat dari terganggunya permeabilitas sel tersebut, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati (Ajizah *et al.*, 2004). Tanin juga mempunyai daya antibakteri dengan cara mempresipitasi protein, karena diduga tanin mempunyai efek yang sama dengan senyawa fenolik. Efek antibakteri tanin antara lain melalui reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim, dan destruksi atau inaktivasi fungsi materi genetik (Juliantina R *et al.*, 2009).

A.6. Khasiat dan Penggunaan Tanaman Sirsak Secara Empiris

Banyaknya manfaat sirsak membuat orang mulai beralih mengkonsumsi sirsak sebagai alternatif pencegahan dan pengobatan konvensional (Adjie, 2011). Daun sirsak banyak dimanfaatkan sebagai obat herbal seperti untuk penyakit kulit, rematik, batuk, flu, antidiabetes dan antikanker (Purwatresna, 2012). Daun sirsak

dapat mengatasi sel kanker dari kelenjar dan mengendalikan kanker yang berasal dari sel jaringan ikat (Wicaksono, 2011). Khasiat lain dari daun sirsak adalah sebagai antispasmodik dan memberi efek menenangkan serta dapat membantu penyembuhan luka pada kulit (Purwatresna, 2012)

Secara turun temurun sirsak telah digunakan oleh sebagian masyarakat Indonesia untuk mengobati penyakit. Daun sirsak secara tradisional biasa digunakan untuk mencegah dan mengobati arthritis, asma, bronkitis, batuk, diabetes, diuretik, disentri, demam, malaria, reumatik, dan tumor. Masyarakat aceh memanfaatkan daun sirsak sebagai obat batuk. Etnis Sunda memanfaatkan daun sirsak untuk menghilangkan mual, bisul, dan rematik. Penduduk lokal di Kalimantan, memanfaatkan daun sirsak untuk mengobati demam. Etnis Kutai memilih daun sirsak untuk mengobati diare. Sedangkan masyarakat Dayak percaya bahwa mengkonsumsi buah sirsak akan menghilangkan rasa mual. Penggunaan secara empiris di masyarakat adalah dengan cara dimakan secara langsung atau diminum air rebusannya, baik daun yang masih segar maupun yang sudah dikeringkan terlebih dahulu yang digunakan sebagai pengobatan. Masyarakat umumnya memanfaatkan sebanyak 11 lembar daun sirsak kering (Wicaksono, 2011).

B. Tinjauan Tentang Bakteri

B.1. Bakteri Uji (*Salmonella typhi*)

Salmonella merupakan bakteri batang Gram negatif. Karena habitat aslinya yang berada di dalam usus manusia maupun binatang, bakteri ini dikelompokkan ke dalam *Enterobacteriaceae* (Brooks *et al.*, 2008). Ewing mengklasifikasikan *Salmonella* dalam 3 spesies yaitu: (1). *Salmonella choleraesuis*, (2). *Salmonella typhi*, (3). *Salmonella enteritidis*, dan kuman dengan tipe antigenik yang lain dimasukkan ke dalam serotip dari *Salmonella paratyphi enteritidis* bukan sebagai spesies baru lainnya. Misalnya *Salmonella paratyphi* A sekarang diklasifikasikan sebagai *Salmonella enteritidis* biosero-tip paratyphi A (Radji, 2011).

Gambaran bakteri *Salmonella typhi* pada pewarnaan Gram dapat dilihat pada gambar 2.2 berikut.



Gambar 2.2. Bakteri *Salmonella typhi* (bakteri Gram negatif) penyebab demam tifoid pada pewarnaan Gram (Todar, 2008)

Taksonomi dari bakteri *Salmonella typhi* adalah sebagai berikut (Tindal *et al.*, 2005) :

Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Filum	: <i>Proteobacteria</i>
Kelas	: <i>Gamma Proteobacteria</i>
Ordo	: <i>Enterobacteriales</i>
Famili	: <i>Enterobacteriaceae</i>
Genus	: <i>Salmonella</i>
Spesies	: <i>Salmonella typhi</i>

B.2. Ciri Khas Mikroorganisme

Salmonella typhi merupakan bakteri Gram negatif yang memiliki ciri-ciri berbentuk batang, tidak berspora, mempunyai flagel tipe peritrik, fimbrae, dan memiliki kapsul. Bakteri *Salmonella typhi* bersifat anaerob fakultatif dan berukuran 1-3,5 μm x 0,5-0,8 μm , dengan besar koloni rata-rata 2-4 mm. Bakteri *Salmonella typhi* tumbuh pada suasana aerob dan anaerob fakultatif, pada suhu antara 15 – 41° C dengan suhu optimum 37,5° C dan pH pertumbuhan 6 – 8. Bakteri ini akan mati pada suhu 56° C dan keadaan kering (Darmawati, 2009;

Rostinawati, 2009; Radji, 2011). Dinding selnya terdiri atas murein, lipoprotein, fosfolipid, protein, dan lipopolisakarida (LPS) dan tersusun sebagai lapisan-lapisan (Dzen, 2003).

Pada pewarnaan Gram, bakteri *Salmonella typhi* tampak berwarna merah dengan bentuk batang yang jelas (Darmawati, 2009). Bakteri ini memfermentasikan glukosa, maltosa, manosa, dan tidak menghasilkan gas pada fermentasi glukosa, serta menghasilkan H₂S namun tidak memfermentasikan laktosa atau sukrosa serta memberikan hasil negatif pada reaksi indol, DNase, fenilalanin deaminase, urease, dan Voges Proskauer. Bakteri ini dapat bertahan dalam air yang membeku untuk waktu yang lama dan resisten terhadap bahan kimia tertentu seperti hijau brilian, natrium tetrasetat dan natrium deoksikolat yang menghambat pertumbuhan bakteri enterik (Brooks *et al.*, 2008; Radji, 2011). Bakteri *Salmonella* tidak akan bertahan di lingkungan bebas diluar saluran pencernaan, namun bakteri ini dapat bertahan dalam beberapa minggu di air dan beberapa tahun di tanah jika keadaan suhu, kelembaban dan pH mendukung (Todar, 2008).

Salmonella mempunyai tiga jenis antigen utama. Antigen somatik atau antigen O adalah bagian dinding sel bakteri yang tahan terhadap pemanasan 100° C, alkohol, dan asam. Struktur antigen somatik mengandung lipopolisakarida, beberapa di antaranya mengandung jenis gula yang spesifik. Antibodi yang terbentuk terhadap antigen O adalah IgM. Antigen flagel atau antigen H mengandung beberapa unsur imunologik. Pada *Salmonella*, antigen H ditemukan dalam 2 fase, yaitu fase 1 spesifik dan fase 2 tidak spesifik. Antigen H dapat dirusak oleh asam, alkohol, dan pemanasan di atas 60° C. Antibodi terhadap antigen H adalah IgG. Antigen Vi atau antigen kapsul merupakan polimer polisakarida bersifat asam yang terdapat di bagian paling luar badan bakteri. Antigen Vi dapat dirusak oleh asam, fenol, dan pemanasan 60° C selama 1 jam (Radji, 2011).

B.3. Biakan Bakteri

Metode bakteriologik untuk isolasi *Salmonella* yaitu biakan pada medium diferensial, biakan pada medium selektif, biakan pada medium yang diperkaya (Brooks *et al.*, 2008). Medium EMB, Mac.Conkey atau deoksilat merupakan medium diferensial yang memungkinkan deteksi cepat organisme yang tidak memfermentasikan laktosa (tidak hanya *Salmonella* dan *Shigella* tetapi juga *Proteus*, *Serratia*, *Pseudomonas* dan lain-lain). Selain itu, pertumbuhan bakteri Gram positif dapat dihambat dalam media tersebut (Brooks *et al.*, 2008; Radji, 2011).

Media selektif yang sering digunakan untuk isolasi *Salmonella* adalah agar *Salmonella-Shigella* (SS), medium enterik hektoen, agar XLD (*xylose lisine deoxycholate*). Pada agar *Salmonella-Shigella* (SS) bakteri ini akan tumbuh dengan koloni yang halus berwarna putih jernih. Kebanyakan strain bakteri ini akan tumbuh pada agar nutrisi sebagai koloni yang halus dengan diameter 2-4 mm dan kebanyakan tidak memerlukan faktor pertumbuhan (Todar, 2008). Biakan pada medium yang diperkaya, contohnya spesimen (biasanya feses) dapat diletakkan di dalam selenit F atau kaldu terrationat, keduanya menghambat replikasi bakteri normal usus dan memungkinkan multiplikasi *Salmonella*. Setelah inkubasi selama 1-2 hari, spesimen tersebut diletakkan pada medium diferensial dan medium selektif (Brooks *et al.*, 2008).

B.4. Penyakit yang Disebabkan

Salmonellosis adalah infeksi yang disebabkan oleh *Salmonella* yang masuk ke dalam tubuh melalui makanan atau minuman yang terkontaminasi. Orang yang terinfeksi akan mengalami gejala demam, diare, kram perut, pusing, sakit kepala, dan rasa mual setelah 12 sampai 72 jam terinfeksi. Gejala ini dapat berlangsung selama 7 hari (Radji, 2011). Organisme ini hampir selalu masuk melalui rute oral, biasanya bersama makanan atau minuman yang terkontaminasi. Dosis infeksi rata-rata untuk menimbulkan infeksi klinis atau subklinis pada manusia adalah 10^5 - 10^8 *Salmonella* (Brooks *et al.*, 2008).

Virulensi *Salmonella* disebabkan oleh : (1). Kemampuan menginvasi sel-sel epitel inang. Dalam usus halus, bakteri *Salmonella* yang berpenetrasi di epitel masuk ke dalam jaringan sub-epitel sampai lamina propria. Setelah penetrasi, bakteri difagosit oleh makrofag, berkembang biak, dan dibawa oleh makrofag ke bagian tubuh yang lain. (2). Mempunyai antigen permukaan (antigen Vi) yang terdiri atas simpai lipopolisakarida (LPS) yang berfungsi sebagai endotoksin dan merupakan faktor virulensi. Endotoksin dapat merangsang pelepasan zat pirogen dari sel-sel makrofag dan sel polimorfonuklear (PMN) sehingga mengakibatkan demam. Selain itu, endotoksin dapat merangsang aktivasi sistem komplemen, pelepasan kinin, dan mempengaruhi limfosit. Sirkulasi endotoksin dalam peredaran darah dapat menyebabkan renjat septik akibat infeksi. (3). Kemampuan melakukan replikasi interseluler. (4). Menghasilkan beberapa toksin spesifik. Enterotoksin dan sitotoksin meningkatkan daya invasi dan merupakan faktor virulensi *Salmonella*. Enterotoksin merupakan toksin yang mempengaruhi usus halus sehingga menyebabkan sekresi cairan secara berlebihan ke dalam rongga usus, menyebabkan diare dan muntah-muntah. (5). Kemampuan berkolonisasi pada ileum dan kolon. (6). Kemampuan menginvasi lapisan epitel intestin dan berkembang di dalam sel-sel limfoid (Radji, 2011).

Manifestasi klinik salmonellosis terdiri atas beberapa sindrom, antara lain gastroenteritis, demam enterik, septisemia, dan penderita yang tidak menampakkan gejala sakit (Radji, 2011). Demam enterik disebabkan oleh beberapa *Salmonella* (*Salmonella typhi*, *Salmonella schottmuelleri*, dan *Salmonella paratyphi A*), yang terpenting adalah *Salmonella typhi* (demam tifoid). Mekanisme demam enterik didahului oleh pelekatan atau penempelan *Salmonella*, yang biasanya melalui makanan yang terkontaminasi, pada protein reseptor yang ada dipermukaan sel epitel usus. *Salmonella* yang tertelan mencapai usus halus, masuk ke dalam aliran limfatik dan kemudian masuk ke aliran darah. Organisme ini dibawa oleh aliran darah ke berbagai organ, termasuk usus. *Salmonella* bermultiplikasi di jaringan limfoid usus dan diekskresikan di dalam feses (Widodo, 2009; Radji, 2011).

C. Tinjauan Tentang Antibakteri

C.1. Definisi Antibakteri

Antimikroba adalah obat pembasmi mikroba, khususnya mikroba yang merugikan manusia (Gunawan *et al.*, 2009). Salah satu antimikroba yaitu antibakteri yang merupakan substansi yang dihasilkan oleh berbagai spesies mikroorganisme seperti bakteri, fungi, dan *actinomycetes* yang mensupresi pertumbuhan mikroorganisme (Brunton *et al.*, 2005).

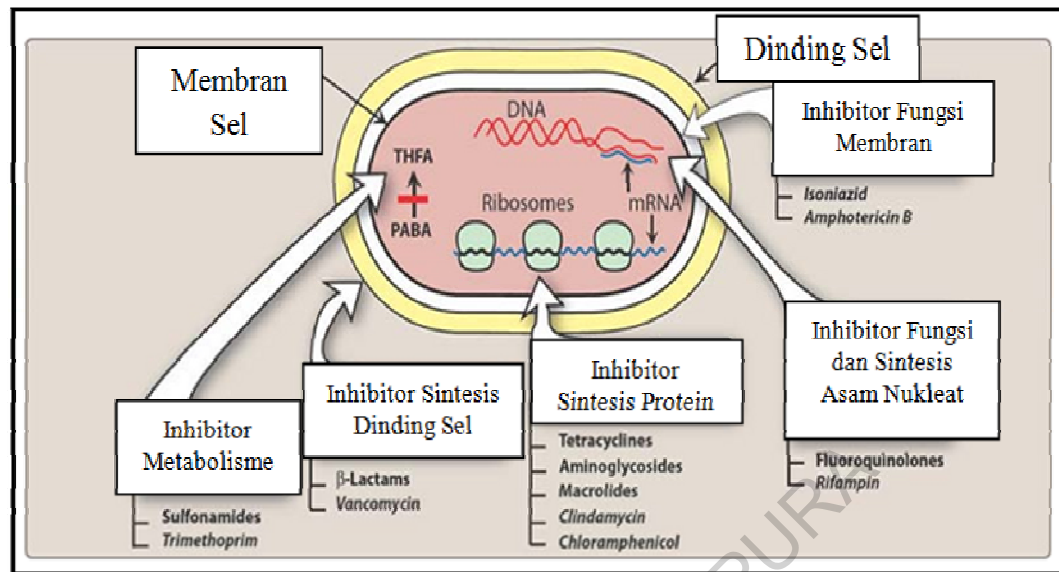
C.2. Aktivitas dan Spektrum Antibakteri

Obat yang digunakan untuk membasmi bakteri penyebab infeksi pada manusia ditentukan harus memiliki sifat toksisitas selektif setinggi mungkin. Artinya obat tersebut haruslah bersifat sangat toksik untuk bakteri, tetapi relatif tidak toksik untuk hospes. Berdasarkan sifat toksisitas selektif, ada antibakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan mikroba, dikenal sebagai aktivitas bakteriostatik; dan ada yang bersifat membunuh bakteri, dikenal sebagai aktivitas bakterisid (Gunawan *et al.*, 2009).

Berdasarkan spektrum kerjanya, antibakteri dibedakan menjadi berspektrum sempit dan berspektrum luas. Antibiotik berspektrum sempit hanya mampu menghambat segolongan jenis bakteri saja, contohnya hanya mampu menghambat atau membunuh bakteri Gram negatif saja atau Gram positif saja. Sedangkan antibiotik berspektrum luas dapat menghambat atau membunuh bakteri dari golongan Gram positif maupun Gram negatif (Pratiwi, 2008).

C.3. Mekanisme Kerja Antibakteri

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibakteri dibagi dalam lima kelompok yaitu mengganggu metabolisme sel bakteri, menghambat sintesis dinding sel bakteri, mengganggu permeabilitas membran sel bakteri, menghambat sintesis protein sel bakteri, dan menghambat sintesis atau merusak asam nukleat sel bakteri (Gunawan *et al.*, 2009). Gambar berikut merupakan berbagai mekanisme kerja dari antibakteri terhadap bakteri (Gambar 2.3).



Gambar 2.3. Mekanisme kerja senyawa antibakteri (Mycek *et al.*, 2001)

C.3.a. Penghambatan Sintesis Dinding Sel Bakteri

Bakteri mempunyai lapisan luar yang kaku, yaitu dinding sel. Dinding sel mempertahankan bentuk dan ukuran mikroorganisme, yang mempunyai tekanan osmotik internal tinggi (Brooks *et al.*, 2008). Dinding sel mengandung polimer kompleks mukopeptida (peptidoglikan) yang khas secara kimiawi, yang terdiri dari polisakarida dan polipeptida dengan banyak hubungan silang. Polisakarida tersebut biasanya mengandung gula amino N-asetilglukosamin dan asam asetilmuramat. Asam asetilmuramat ditemukan hanya pada bakteri. Rantai peptida pendek menempel pada gula amino. Rigiditas akhir dinding sel dibentuk oleh ikatan silang rantai peptida (misal, melalui ikatan pentaglisin) sebagai akibat reaksi transpeptidasi yang dikerjakan oleh beberapa enzim (Brooks *et al.*, 2008).

Lapisan dinding sel bakteri Gram negatif merupakan lapisan tunggal, sedangkan pada Gram positif lapisan ini sangat banyak dapat mencapai 40 lapisan peptidoglikan (Rang *et al.*, 2011). Oleh karena tekanan osmotik dalam sel bakteri lebih tinggi daripada di luar sel maka kerusakan dinding sel bakteri akan menyebabkan terjadinya lisis, yang merupakan dasar efek bakterisidal pada bakteri yang peka (Gunawan *et al.*, 2009).

Semua penisilin, sefalosporin, monobaktam dan karbapenem (antibiotik beta-laktam) merupakan penghambat selektif sintesis dinding sel bakteri melalui pengikatan pada reseptor PBPs (*Penicillin binding proteins*). Setelah melekat pada reseptor PBPs, maka reaksi transpeptidase akan dihambat dan sintesis peptidoglikan juga terhambat. Langkah selanjutnya mungkin melibatkan penghilangan atau inaktivasi suatu inhibitor enzim autolitik (hidrolase) dan mengaktifkan enzim litik pada dinding sel sehingga terjadi lisis sel (Rang *et al.*, 2011; Katzung, 2011). Obat yang termasuk dalam kelompok ini ialah penisilin, sefalosporin, basitrasin, vankomisin, dan sikloserin (Gunawan *et al.*, 2009).

C.3.b. Penghambatan Sintesis Protein Sel Bakteri

Bakteri perlu mensintesis berbagai protein untuk proses kehidupannya. Sintesis protein berlangsung di ribosom, dengan bantuan mRNA dan tRNA. Ribosom bakteri terdiri atas dua sub unit, yang berdasarkan konstanta sedimentasi dinyatakan sebagai ribosom 30S dan 50S. Untuk berfungsi pada sintesis protein, kedua komponen ini akan bersatu pada pangkal rantai mRNA menjadi ribosom 70S (Gunawan *et al.*, 2009; Rang *et al.*, 2011). Bakteri mempunyai ribosom 70S, sedangkan sel mamalia mempunyai ribosom 80S. Subunit setiap tipe ribosom, komposisi kimianya, dan spesifisitas fungsionalnya cukup berbeda untuk menjelaskan mengapa obat antimikroba dapat menghambat sintesis protein pada ribosom bakteri tanpa berefek besar pada ribosom mamalia (Brooks *et al.*, 2008).

Streptomisin berikatan dengan komponen ribosom 30S dan menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA pada waktu sintesis protein. Akibatnya akan terbentuk protein yang abnormal dan nonfungsional bagi sel mikroba. Antibiotik aminoglikosida lainnya yaitu gentamisin, kanamisin dan neomisin memiliki mekanisme kerja yang sama dengan streptomisin. Eritromisin berikatan dengan ribosom 50S dan menghambat translokasi kompleks tRNA-peptida dari lokasi asam amino ke lokasi peptida. Akibatnya, rantai polipeptida tidak dapat diperpanjang karena lokasi asam amino tidak dapat menerima kompleks tRNA asam amino yang baru. Linkomisin juga berikatan dengan ribosom 50S dan menghambat sintesis protein. Tetrasiklin berikatan dengan ribosom 30S dan

menghalangi masuknya kompleks tRNA asam amino pada lokasi asam amino. Kloramfenikol berikatan dengan ribosom 50S dan menghambat pengikatan asam amino baru pada rantai polipeptida oleh enzim peptidil transferase (Brooks *et al.*, 2008; Gunawan *et al.*, 2009; Rang *et al.*, 2011).

C.3.c. Penghambatan Fungsi Membran Sel Bakteri

Sitoplasma semua sel yang hidup diikat oleh membran sitoplasma, yang bekerja sebagai barier permeabilitas selektif, berfungsi sebagai transpor aktif, sehingga mengontrol komposisi internal sel. Jika integritas fungsional membran sitoplasma terganggu, makromolekul dan ion dapat keluar dari sel sehingga dapat menyebabkan kerusakan atau kematian sel. Membran sitoplasma bakteri dan jamur mempunyai struktur yang berbeda dari sel-sel hewan dan dapat lebih mudah dirusak oleh agen tertentu (Brooks *et al.*, 2008).

Contoh obat untuk kelompok ini adalah polimiksin yang merusak membran sel setelah bereaksi dengan fosfat pada fosfolipid membran sel bakteri terutama bakteri gram negatif. Polimiksin kurang aktif terhadap bakteri gram positif dikarenakan jumlah fosfor bakteri ini rendah. Antibiotik ini mengubah tegangan permukaan sehingga terjadi kerusakan permeabilitas selektif dari membran sel yang menyebabkan keluarnya berbagai komponen sel seperti protein, asam nukleat, nukleotida dan lain-lain (Gunawan *et al.*, 2009).

C.3.d. Penghambatan Metabolisme Sel Bakteri

Mekanisme kerja yang diperoleh dari penghambatan metabolisme sel bakteri ini bersifat bakteriostatik (Rang *et al.*, 2011). Antimikroba yang termasuk dalam golongan ini ialah sulfonamid, trimetoprim, asam p-aminosalisilat (PAS) dan sulfon (Rang *et al.*, 2011). Bakteri membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya. Berbeda dengan mamalia yang mendapatkan asam folat dari luar, bakteri patogen harus mensintesis sendiri asam folat dari asam amino benzoat (PABA) untuk kebutuhan hidupnya. Apabila sulfonamid atau sulfon menang bersaing dengan PABA untuk diikutsertakan dalam pembentukan asam folat, maka terbentuk analog asam folat yang nonfungsional dan kehidupan bakteri akan terganggu (Rang *et al.*, 2011).

Sulfametoksazol yang merupakan sulfonamid yang memiliki struktur analog PABA secara kompetitif menghambat sintesis asam dihidrofolat dari PABA. Selanjutnya trimetoprim yang secara struktural analog dengan asam dihidrofolat secara kompetitif menghambat sintesis asam tetrahidrofolat (Pratiwi, 2008). Trimetoprim bekerja dengan menghambat enzim dihidrofolat reduktase. Enzim ini digunakan untuk mengubah dihidrofolat menjadi bentuk aktifnya yaitu asam tetrahidrofolat (Rang *et al.*, 2011).

C.3.e. Penghambatan Sintesis Asam Nukleat

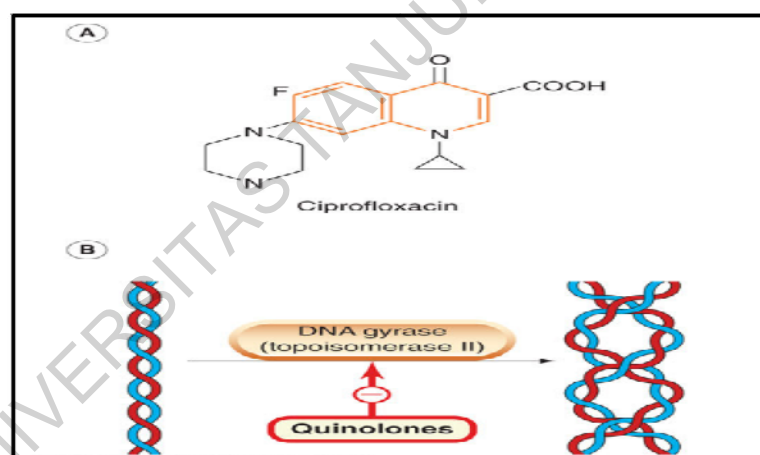
Penghambatan pada sintesis asam nukleat berupa penghambatan terhadap transkripsi dan replikasi mikroorganisme. Antimikroba yang termasuk antibiotik penghambat sintesis asam nukleat ini adalah antibiotik golongan kuinolon dan rifampin (Pratiwi, 2008). Rifampisin bekerja dengan cara berikatan dengan enzim polimerase-RNA (pada sub unit) sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut (Gunawan *et al.*, 2009). Antibiotik kuinolon, misalnya asam nalidiksat (sintetik, dibuat pada tahun 1960) yang bersifat bakterisidal, bekerja dengan cara menghambat enzim DNA girase pada replikasi DNA, sehingga akan menghambat proses replikasi DNA dan transkripsi mRNA (Pratiwi, 2008). Golongan kuinolon menghambat enzim DNA girase pada bakteri yang fungsinya menata kromosom yang sangat panjang menjadi bentuk spiral hingga bisa dimuat dalam sel yang kecil (Gunawan *et al.*, 2009).

Anggota-anggota lama kelompok senyawa antimikroba sintetik ini, terutama *asam nalidiksat*, telah tersedia untuk pengobatan infeksi saluran kemih selama bertahun-tahun. Signifikansi obat-obat ini relatif kecil karena penggunaan terapinya terbatas serta cepatnya perkembangan resistensi bakteri. Berdasarkan hal tersebut, diperkenalkan senyawa yang lebih baru yaitu 4-kuinolon terfluorinasi, seperti *siprofloksasin* (CIPRO) dan *ofloksasin* (FLOKSIN), menunjukkan perkembangan terapeutik yang penting, karena senyawa-senyawa ini memiliki aktivitas antimikroba yang luas dan efektif pada pemberian secara oral untuk pengobatan berbagai jenis penyakit infeksi. Efek samping yang menyertai penggunaan fluorokuinolon ini relatif kecil, dan resistensi mikroba

tidak cepat berkembang (Chambers, 2008). Resistensi terhadap antibiotik golongan kuinolon dapat terjadi melalui 3 mekanisme yaitu mutasi gen *gyr A* yang menyebabkan subunit A dari DNA girase bakteri berubah sehingga tidak dapat diduduki molekul obat lagi, perubahan pada permukaan sel bakteri yang mempersulit penetrasi obat ke dalam sel, dan peningkatan mekanisme pemompaan obat keluar sel (*efflux*) (Gunawan *et al.*, 2009).

C.4. Tinjauan Siprofloksasin Sebagai Kontrol Positif

Siprofloksasin merupakan antibiotik golongan 4-kuinolon terfluorinasi. Golongan 4-kuinolon ini semuanya memiliki gugus asam karboksilat pada posisi 3 struktur cincin dasar (Bruton *et al.*, 2005). Gambar gugus kuinolon dan mekanisme kerja dari fluorokuinolon dapat dilihat pada gambar 2.4 berikut.



Gambar 2.4. (A). Gugus kuinolon (warna oranye), (B). Mekanisme kerja dari fluoroquinolones (Rang *et al.*, 2011)

Target antibiotik kuinolon adalah DNA girase bakteri dan topoisomerase IV. Untuk sejumlah bakteri Gram positif, topoisomerase IV adalah target primer. Untuk sejumlah bakteri Gram negatif, DNA girase adalah target primer kuinolon. Kuinolon menghambat gulungan (*supercoiling*) DNA yang diperantai oleh girase pada konsentrasi yang berhubungan dengan kerja antibakteri efektifnya. Topoisomerase IV memisahkan molekul DNA tertaut silang yang dihasilkan dari replikasi DNA, dan juga merupakan target kuinolon (Chambers, 2008).

Topoisomerase adalah enzim yang mengubah konfigurasi atau topologi DNA dengan cara suatu mekanisme menakik (*nicking*), menembus, dan menutup kembali (*re-sealing*) tanpa mengubah struktur primernya. Pengikatan kuinolon pada enzim dan DNA untuk membentuk suatu kompleks menghambat langkah penggabungan kembali dan dapat menyebabkan kematian sel dengan menimbulkan keretakan DNA (Mycek *et al.*, 2001).

Siprofloksasin termasuk dalam golongan fluorokuinolon. Daya antibakteri fluorokuinolon jauh lebih kuat dibandingkan golongan kuinolon yang lama. Golongan fluorokuinolon dapat digunakan untuk penanggulangan infeksi berat, khususnya yang disebabkan oleh bakteri Gram negatif. Daya antibakterinya terhadap bakteri Gram positif relatif lemah. Siprofloksasin mempunyai daya antibakteri yang sangat kuat terhadap *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Haemophilus influenza*, *Providencia*, *Serratia*, *Salmonella*, *Neisseria meningitidis*, *Yersinia enterocolitica* dan *Neisseria gonorrhoeae*. Siprofloksasin memiliki aktivitas antibakteri yang luas dan efektif pada pemberian secara oral untuk pengobatan berbagai jenis penyakit infeksi (Gunawan *et al.*, 2009).

Mekanisme kerja siprofloksasin adalah menghambat kerja enzim DNA girase (topoisomerase II) pada bakteri dan bersifat bakterisidal. DNA girase (topoisomerase II) bekerja dalam menimbulkan *negative supercoiling* saat proses replikasi dan transkripsi pada bakteri berlangsung (Gunawan *et al.*, 2009). Penggunaan sistemisnya lebih luas dan meliputi ISK berkomplikasi, infeksi saluran nafas bila disebabkan oleh *Pseudomonas aeruginosa*, infeksi saluran cerna, jaringan lunak, kulit dan gonore (Tjay dan Rahardja, 2007).

Pengobatan dengan siprofloksasin dan ofloksasin dapat menyembuhkan sebagian besar pasien demam enterik yang disebabkan oleh *Salmonella typhi* seperti halnya terhadap infeksi nontifoid bakteremia pada pasien AIDS, dan membersihkan senyawa kronik di feses (Chambers, 2008). Fluorokuinolon efektif untuk diare yang disebabkan oleh *Shigella*, *Salmonella*, *Escherichia coli*, dan *Campylobacter*. Siprofloksasin dan ofloksasin mempunyai efektivitas yang baik terhadap demam tifoid (Gunawan *et al.*, 2009).

Siprofloksasin tersedia dalam bentuk tablet 250 mg, 500 mg dan 750 mg. Siprofloksasin juga terdapat dalam sediaan infus 200 mg dan 400 mg. Dosis yang lazim digunakan di klinik yaitu 2 kali 250-500 mg untuk sediaan oral dan 2 kali 200-400 mg intra vena (iv) untuk sediaan parenteral (Gunawan *et al.*, 2009). Adapun efek samping penggunaan siprofloksasin yaitu gangguan saluran cerna, gangguan susunan saraf pusat, hepatotoksisitas, kardiotoxikitas, disglukemia dan fototoksisitas (Gunawan *et al.*, 2009).

D. Ekstraksi Obat Bahan Alam

D.1. Simplisia

Simplisia adalah bahan alami yang digunakan untuk obat dan belum mengalami perubahan proses apapun, dan kecuali dinyatakan lain umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan. Berdasarkan hal itu maka simplisia dibagi menjadi tiga golongan yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan atau mineral (Gunawan dan Mulyani, 2010). Diantara ketiga golongan itu, simplisia nabati merupakan jumlah terbanyak yang digunakan untuk bahan obat (Astuti, 2011). Simplisia sebagai produk hasil pertanian atau pengumpulan tumbuhan liar tentu saja kandungan kimianya tidak dapat dijamin selalu konstan karena disadari adanya variabel bibit, tempat tumbuh, iklim, kondisi panen, serta proses pasca panen dan preparasi akhir (Depkes RI, 2000). Kualitas simplisia dipengaruhi oleh faktor bahan baku dan proses pembuatannya. Berdasarkan bahan bakunya, simplisia bisa diperoleh dari tanaman liar dan atau dari tanaman yang dibudidayakan. Proses penyiapan dan pembuatan simplisia meliputi beberapa tahapan, dimulai dari pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, pengubahan bentuk, pengeringan, sortasi kering, pengepakan dan penyimpanan (Gunawan dan Mulyani, 2010).

D.2. Ekstraksi dan Maserasi

Ekstraksi adalah penarikan zat pokok yang diinginkan dari simplisia dengan menggunakan pelarut tertentu dimana zat yang diinginkan larut. Sistem pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus dipilih berdasarkan kemampuannya dalam

melarutkan jumlah yang maksimum dari zat aktif dan seminimum mungkin bagi unsur yang tidak diinginkan. Umumnya zat aktif dalam tanaman obat yang sifat kimianya sama, mempunyai sifat kelarutan yang sama pula dan dapat diekstraksi secara simultan dengan pelarut tunggal atau campuran (Ansel, 2005).

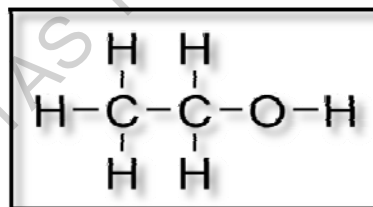
Salah satu metode ekstraksi yang sering digunakan adalah maserasi. Maserasi adalah proses pengekstraksian simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan. Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyarian maserat pertama dan seterusnya (Depkes RI, 2000). Maserasi biasanya dilakukan pada temperatur 25° C selama 3 hari sampai bahan-bahan yang larut dapat larut dalam pelarut yang digunakan. Dalam ekstraksi obat, pelarut atau campuran pelarut disebut menstrum dan endapan atau ampas yang tidak mengandung zat aktif lagi diistilahkan sebagai *marc* (Ansel, 2005). Maserasi merupakan proses paling tepat di mana obat yang sudah halus memungkinkan untuk direndam dalam menstrum sampai meresap dan melunakkan susunan sel, sehingga zat-zat yang mudah larut akan melarut. Dalam proses maserasi, sampel yang akan diekstraksi ditempatkan pada bejana bersama menstrum yang telah ditetapkan, bejana ditutup rapat, dan isinya dikocok berulang-ulang. Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah disediakan (Depkes RI, 1986). Hasil dari proses maserasi dinamakan ekstrak. Menurut Farmakope Indonesia edisi IV, ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI, 1995).

D.3. Pelarut Etanol

Cairan pelarut dalam proses pembuatan ekstrak adalah pelarut yang baik (optimal) untuk kandungan senyawa yang berkhasiat atau yang aktif, sehingga senyawa tersebut dapat dipisahkan dari bahan dan dari kandungan senyawa lainnya, serta ekstrak hanya mengandung sebagian besar kandungan senyawa

yang diinginkan (Depkes RI, 2000). Pemilihan cairan penyari harus mempertimbangkan banyak faktor. Cairan penyari yang baik harus memenuhi kriteria antara lain murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, selektif, tidak mempengaruhi zat berkhasiat dan diperbolehkan oleh peraturan. Untuk penyarian ini Farmakope Indonesia menetapkan bahwa sebagai cairan penyari adalah air, etanol, etanol-air, atau eter. Etanol dipertimbangkan sebagai penyari karena lebih selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% keatas, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, dan panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit (Depkes RI, 1986).

Etanol disebut juga etil alkohol dengan rumus kimia C_2H_5OH . Cairan etanol mudah menguap dan tidak berwarna. Etanol mendidih pada suhu $78^\circ C$ dan mudah terbakar (Depkes RI, 1995). Gambar berikut merupakan rumus kimia dari etanol C_2H_5OH (Gambar 2.5).



Gambar 2.5. Rumus kimia etanol C_2H_5OH (Depkes RI, 1995)

Etanol merupakan pelarut yang bersifat semipolar yang dapat melarutkan senyawa polar maupun senyawa nonpolar. Kepolaran etanol disebabkan adanya gugus $-OH$ yang bersifat polar sementara gugus etil (CH_3CH_2) merupakan gugus nonpolar. Rantai karbon yang pendek menyebabkan etanol bersifat semipolar (Poedjadi, 2005). Etanol umumnya baik untuk melarutkan senyawa aktif yang berkhasiat sebagai antimikroba seperti alkaloid, flavanoid, tanin, dan saponin (Purwatesna., 2012). Penggunaan etanol 70% dikarenakan polaritasnya sangat tinggi dibanding etanol murni. Penambahan air 30% dapat meningkatkan polaritas etanol sehingga lebih mudah berpenetrasi ke dalam membran sel untuk menyari bahan ekstraseluler dari kandungan tanaman (Tiwari *et al.*, 2011). Alasan lain

adalah adanya peraturan yang dikeluarkan oleh BPOM RI (2010) mengenai cairan penyari untuk keperluan farmakologi hanya boleh menggunakan air atau etanol. Selain itu etanol 70% memiliki sifat antimikroba dan mampu memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut (Dalimartha, 2006 dalam Purwatresna, 2012).

E. Metode Pengujian Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan untuk dapat mengetahui sejauh mana aktivitas suatu antibakteri terhadap bakteri. Metode yang umum digunakan dalam uji antibakteri ada dua yaitu metode difusi cakram Kirby-Bauer dan metode dilusi (Brooks *et al.*, 2008). Pada pengujian aktivitas antibakteri dikenal konsentrasi hambat minimum (KHM), yaitu konsentrasi antibiotik terendah yang masih dapat menghambat pertumbuhan organisme tertentu (Harmita dan Radji, 2008).

Metode difusi cakram Kirby-Bauer adalah metode yang digunakan untuk menentukan sensitivitas antimikroba (ICMR, 2009). Metode difusi cakram merupakan metode standar yang ditetapkan oleh *National Committee of Clinical Laboratory Standards* (NCCLS) tahun 1993 untuk menentukan adanya aktivitas antibakteri dari ekstrak kasar (Willey *et al.*, 2008). Metode ini digunakan untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Cakram yang berisi agen antimikroba ditempatkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut (Pratiwi, 2008). Keunggulan menggunakan metode difusi cakram Kirby-Bauer mencakup fleksibilitas yang lebih besar dalam memilih obat yang akan diperiksa, kemudahan mengenali biakan campuran, dan biaya yang relatif murah (Sacher dan McPherson, 2004).

Prinsip metode ini adalah difusi agen antibakteri ke dalam agar yang mengandung bakteri uji sehingga terbentuk zona bening yang kemudian diukur diameternya. Terbentuknya zona bening menandakan kemampuan antibakteri dari material yang digunakan terhadap bakteri yang diujikan (Willey *et al.*, 2008). Efektivitas antibakteri akan terlihat sebagai zona hambat yang tampak sebagai area bening yang mengelilingi cakram tempat zat dengan aktivitas antibakteri terdifusi, yang dikenal sebagai konsentrasi hambat minimum (KHM) (Harmita dan Radji, 2008). Diameter zona hambat diukur dari tepi cakram ke tepi zona

hambat yang jernih tadi. Setiap zona hambat yang diukur dapat dikategorikan menjadi Sensitif (S), Sensitif Intermediat (I), dan Resisten (R). Interpretasi zona hambat disesuaikan dengan antibiotik yang digunakan menggunakan ketentuan dari CLSI (*Clinical and Laboratory Standard Institute*) (ICMR, 2009).

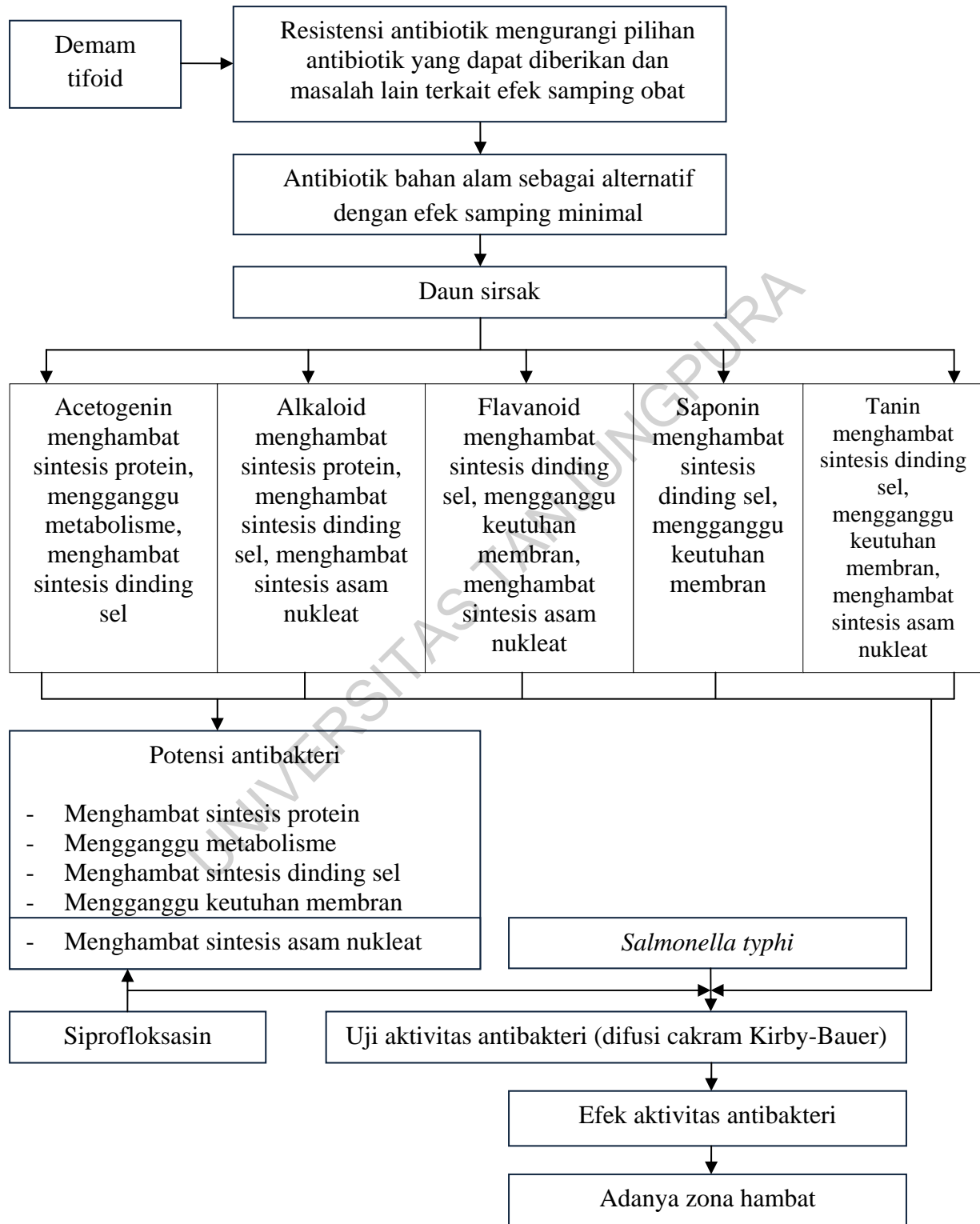
F. Metode Inokulasi Bakteri (Teknik Biakan Murni)

Untuk mempelajari bakteri di laboratorium, penting untuk mendapatkan biakan murni, yaitu kultur yang hanya mengandung satu spesies organisme. Dalam teknik biakan murni tidak hanya diperlukan bagaimana memperoleh suatu biakan murni, tapi juga bagaimana mencegah kontaminasi. Medium untuk membiakkan bakteri harus steril sebelum digunakan. Metode yang sering digunakan untuk menyiapkan biakan murni adalah metode cawan gores yang menggunakan lempeng agar. Bakteri diambil dengan ose steril kemudian digoreskan ke permukaan agar, sehingga terbentuk goresan bakteri pada permukaan agar tersebut. Sewaktu menggores, ose dibiarkan meluncur diatas permukaan lempeng agar. Ose yang telah digunakan untuk menggores suatu daerah harus dipijarkan dengan tujuan untuk mematikan bakteri yang melekat pada mata ose dan mencegah kontaminasi penggoresan berikutnya. Setelah itu cawan petri ditutup untuk melindungi permukaan supaya terhindar dari pencemaran (Black, 2008; Waluyo, 2007). Metode cawan gores ini lebih menguntungkan bila ditinjau dari segi ekonomi dan waktu. Penggoresan yang sempurna akan menghasilkan koloni yang terpisah (Waluyo, 2007).

G. Faktor yang Mempengaruhi Aktifitas Zat Antimikroba *In Vitro*

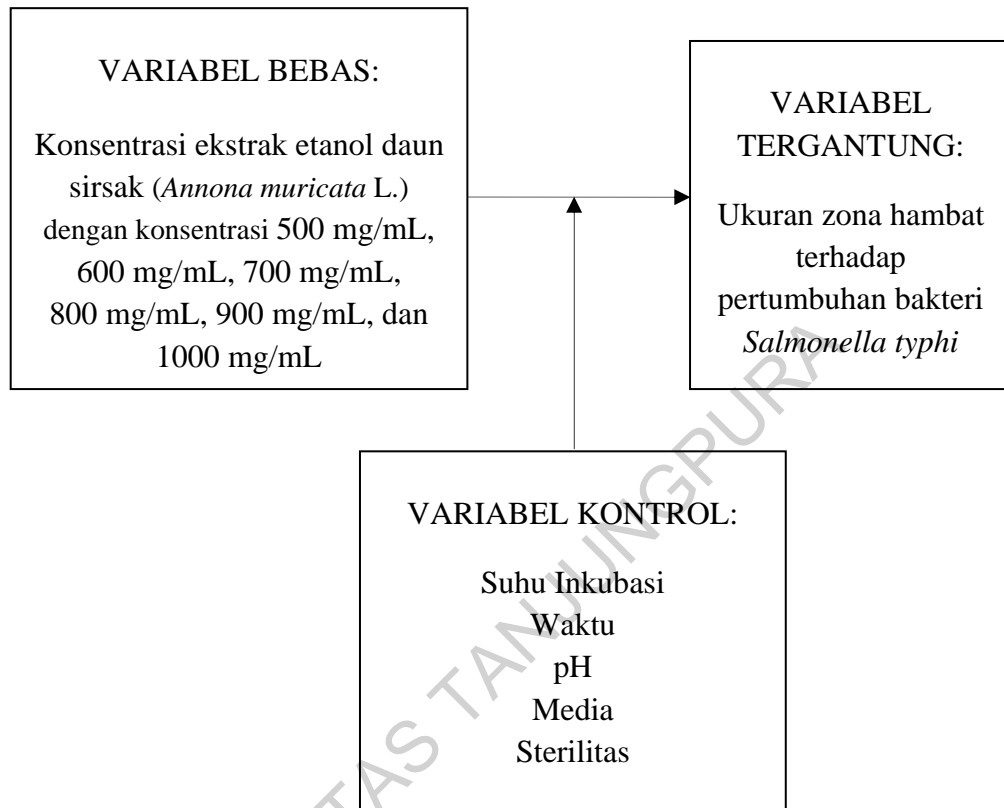
Medium pertumbuhan yang cocok harus mengandung semua zat makanan yang diperlukan oleh organisme agar dapat di biakkan. Banyak faktor dan keadaan yang mempengaruhi kerja zat antimikroba dalam menghambat atau membasmi organisme patogen. Faktor-faktor tersebut meliputi pH lingkungan, komponen medium, stabilitas obat, ukuran inokulum, lama inkubasi, dan aktivitas metabolik mikroorganisme (Brooks *et al.*, 2008).

H. Kerangka Teori



Gambar 2.6. Kerangka teori

I. Kerangka Konsep



Gambar 2.7. Kerangka konsep

J. Hipotesis

Ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) yang diekstraksi dengan pelarut etanol mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Salmonella typhi*.