

**EFEK MODULASI AMOKSISILIN OLEH EKSTRAK
ETANOL DAUN SIRIH (*Piper betle* L.) TERHADAP
PENGHAMBATAN PERTUMBUHAN
*Staphylococcus aureus***

**MODULATION EFFECT OF AMOXICILLIN BY BETEL
LEAF (*Piper betle* L.) ETHANOLIC EXTRACT ON
GROWTH INHIBITION OF *Staphylococcus aureus***

Disusun dan diajukan oleh

NUR ANISA

N011 18 1017



**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

**EFEK MODULASI AMOKSISILIN OLEH EKSTRAK ETANOL DAUN
SIRIH (*Piper betle* L.) TERHADAP PENGHAMBATAN PERTUMBUHAN
*Staphylococcus aureus***

**MODULATION EFFECT OF AMOXICILLIN BY BETEL LEAF
(*Piper betle* L.) ETHANOLIC EXTRACT ON GROWTH INHIBITION OF
*Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana

**NUR ANISA
N011 18 1017**

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

EFEK MODULASI AMOKSISILIN OLEH EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH (*Piper betle* L.) TERHADAP PENGHAMBATAN PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus*

NUR ANISA

N011 18 1017

Disetujui oleh:

Pembimbing Utama,



Prof. Dr. Sartini, M.Si., Apt.
NIP. 19611111 198703 2 001

Pembimbing Pendamping,



Nana Juniarti Natsir Djide, S.Si., M.Si., Apt.
NIP. 19900602 201504 2 002

Pada Tanggal, 10 Juni 2022

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

EFEK MODULASI AMOKSISILIN OLEH EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH (*Piper betle* L.) TERHADAP PENGHAMBATAN PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus*

MODULATION EFFECT OF AMOXICILLIN BY BETEL LEAF (*Piper betle* L.) ETHANOLIC EXTRACT ON GROWTH INHIBITION OF *Staphylococcus aureus*

Disusun dan diajukan oleh:

NUR ANISA
N011 18 1017

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin pada tanggal 10 Juni 2022 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,



Prof. Dr. Sartini, M.Si., Apt.

NIP. 19611111 198703 2 001



Nana Juniarti Natsir Djide, S.Si., M.Si., Apt.

NIP. 19900602 201504 2 002



Nurhasni Hasan, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.
NIP. 19860116 201012 2 009

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini;

Nama : Nur Anisa
Nim : N011 18 1017
Program Studi : Farmasi
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul "Efek Modulasi Amoksisilin Oleh Ekstrak Etanol Daun Sirih (*Piper betle* L.) Terhadap Penghambatan Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*" adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilalihan tulisan orang lain bahwa skripsi yang saya tulis benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 10 Juni 2022

Yang menyatakan,




Nur Anisa

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah Rabiil 'alamiin segala puji bagi Allah *subhanahu wa ta'ala* yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya, berupa nikmat kesempatan dan kesempatan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini sebagai persyaratan untuk menyelesaikan studi dan memperoleh gelar sarjana di Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini banyak kesulitan yang dihadapi dan tidak terlepas dari dukungan berbagai pihak. Penulis banyak menerima bimbingan, petunjuk dan bantuan serta dorongan dari berbagai pihak baik bersifat moral maupun material. Untuk itu penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan setinggi-tingginya kepada:

1. Bapak Prof. Subehan, M. Pharm.Sc., Ph.D., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin dan para Wakil Dekan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang dengan tulus telah memberikan ilmu dan bimbingan selama ini.
2. Ibu Prof. Dr. Sartini, M.Si., Apt. selaku pembimbing utama dan Ibu Nana Juniarti Natsir Djide, S.Si., M.Si., Apt. selaku pembimbing pendamping yang telah meluangkan banyak waktu dan tenaganya untuk memberikan bimbingan, arahan, saran, serta bantuan bagi penulis dalam melaksanakan penelitian dan banyak melatih penulis

untuk berpikir kritis dan logis dalam menyelesaikan suatu permasalahan.

3. Bapak Usmar, S.Si., M.Si., Apt. dan Bapak Ismail, S.Si., M.Si., Apt. selaku penguji yang telah meluangkan waktunya dan memberikan masukan dan saran terkait penelitian ini dan dalam proses menyelesaikan skripsi ini.
4. Ibu Dr. Aliyah, M.Si., Apt. selaku pembimbing akademik yang telah membimbing selama proses menyelesaikan studi di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
5. Seluruh Bapak/ Ibu dosen Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah memberikan ilmunya dan membimbing penulis selama masa studi S1 juga seluruh staf akademik dan segala fasilitas dan pelayanan yang telah diberikan kepada penulis selama menempuh studi sehingga menyelesaikan penelitian ini.
6. Laboran Laboratorium Mikrobiologi dan Fitokimia Fakultas Farmasi serta laboran Biofarmaka Fakultas Farmasi atas segala bantuannya dalam pelaksanaan penelitian skripsi ini.
7. Sahabat-sahabat penulis, Andi Muawiyah, Andi Nurchofifah, Muh. Al-Ikhsan, Inesda Salsabila, dan Andi Muh. Yazid untuk setiap dukungan, doa, semangat dan motivasi yang diberikan kepada penulis.
8. Rekan-rekan Korps Asisten Mikrobiologi Farmasi dan Korps Asisten Farmasetika dan yang senantiasa membantu dan memberikan dukungan kepada penulis.

9. Teman-teman angkatan “GEMF18ROZIL” atas kebersamaan yang diberikan selama penulis berada di bangku perkuliahan, melewati suka dan duka dalam perkuliahan dan selama penyelesaian skripsi.
10. Semua pihak yang telah membantu yang tidak sempat disebutkan satu persatu.

Yang terhormat Ayahanda H. Muliady dan Ibunda tercinta Hj. Kamaria yang telah membesarkan dan mendidik penulis dengan kasih sayang yang begitu tulus serta senantiasa mengirimkan do'a sehingga penulis bisa seperti sekarang ini, semoga selalu berada dalam lindungan Allah SWT. Saudari-saudari penulis Adelia Dwi Syahrani dan Khayla Zahra yang tumbuh besar bersama penulis dan selalu menjadi panutan dalam mengambil keputusan. Atas limpahan semangat dan do'anya penulis ucapkan terima kasih.

Penulis berharap agar skripsi ini dapat memberikan manfaat dalam sumbangsih ilmu pengetahuan khususnya dalam bidang Farmasi dan dapat dijadikan acuan untuk mengembangkan penelitian penelitian selanjutnya.

Makassar, 10 Juni 2022


Nur Anisa

ABSTRAK

NUR ANISA. EFEK MODULASI AMOKSISILIN OLEH EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH (*PIPER BETLE L.*) TERHADAP PENGHAMBATAN PERTUMBUHAN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*
(dibimbing oleh Sartini dan Nana Juniarti Natsir Djide)

Modulasi aktivitas antibiotika melalui penggunaan senyawa bahan alam dapat menjadi salah satu strategi dalam menangani masalah resistensi antibiotika oleh *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang menjadi masalah serius pada penggunaan antibiotika di pelayanan kesehatan. Daun sirih (*Piper betle* L.) mengandung banyak komponen kimia bersifat antibakteri dan dapat menjadi salah satu kandidat potensial. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek modulasi ekstrak daun sirih sebagai modulator yang dapat meningkatkan aktivitas antibakteri dari amoksisilin terhadap bakteri *S. aureus*. Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari amoksisilin, ekstrak daun sirih dan amoksisilin kombinasi ekstrak daun sirih ditentukan menggunakan metode *microdillution checkerboard assay* dilanjutkan dengan penentuan faktor modulasi. Hasil penelitian menunjukkan KHM ekstrak daun sirih dan amoksisilin tunggal masing-masing sebesar 1.200 µg/ml dan 1,2 µg/ml. KHM kombinasi yang diperoleh adalah 0,3 µg/ml dengan faktor modulasi sebesar 4 kali. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih mampu meningkatkan sensitivitas amoksisilin terhadap bakteri uji *S. aureus* 25923.

Kata Kunci: amoksisilin, ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.), modulasi, *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

NUR ANISA. MODULATION EFFECT OF AMOXICILLIN BY BETEL LEAF (PIPER BETLE L.) ETHANOLIC EXTRACT ON GROWTH INHIBITION OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS

(Supervised by Sartini and Nana Juniarti Natsir Djide)

Modulation of antibiotic activity through natural compounds could be a strategy in battling antibiotic resistance to *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, which has become a severe problem in healthcare services. Betel leaf (*Piper betle* L.) contains many chemical components which possess antibacterial activity and could be a potential candidate.. This study aims to determine the modulating effect of betel leaf extract as a modulator to increase the antibacterial activity of amoxicillin against *S. aureus*. Determination of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of amoxicillin, betel leaf extract, and amoxicillin combination of betel leaf extract was carried out using the microdilution checkerboard assay method, followed by the determination of the modulating factor. The results showed that the MIC of betel leaf extract and amoxicillin alone were 1.200 µg/ml and 1,2 µg/ml, respectively. The combined MIC obtained is 0,3 µg/ml with a modulation factor of 4 times. In conclusion, the betel leaf extract can increase the sensitivity of amoxicillin against *S. aureus* ATCC 25923

Keywords: amoxicillin, betel leaf extract (*Piper betle* L.), modulation, *Staphylococcus aureus*

DAFTAR ISI

	halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
DAFTAR SINGKATAN	xviii
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	3
I.3 Tujuan Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1 Antibiotika	5
II.1.1 Definisi Antibiotika	5
II.1.2 Penggolongan Antibiotika	5
II.2 Amoksisilin	7
II.3 Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.)	10
II.3.1 Klasifikasi Tanaman	10
II.3.2 Morfologi Tanaman	11

II.3.3 Kandungan Kimia	11
II.3.4 Manfaat Tanaman	12
II.4 <i>Staphylococcus aureus</i>	13
II.5 Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)	15
II.5.1 Definisi KHM	15
II.5.2 Metode Pengujian	15
II.6 Faktor Modulasi	18
BAB III METODE PENELITIAN	19
III.1 Alat dan Bahan	19
III.2 Cara Kerja	19
III.2.1 Pengambilan Sampel	19
III.2.2 Penyiapan Sampel	19
III.2.3 Ekstraksi Daun Sirih	20
III.2.4 Penentuan Nilai KHM Tunggal Dan Kombinasi Ekstrak Daun Sirih Dan Amoksisilin Terhadap <i>S. aureus</i>	21
III.3 Penentuan Modulasi Ekstrak Daun Sirih Terhadap Aktivitas Amoksisilin Pada Bakteri <i>S.aureus</i>	21
III.4 Pengumpulan dan Analisis Data	22
III.5 Pembahasan Hasil	22
III.6 Penarikan Kesimpulan	22
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	23
IV.1 Ekstraksi Daun Sirih	23
IV.2 Hasil Penentuan KHM Tunggal dan Kombinasi Ekstrak Daun Sirih dan Amoksisilin terhadap <i>S. aureus</i> serta Faktor Modulasi	23

BAB V PENUTUP	24
V.1 Kesimpulan	24
V.2 Saran	24
DAFTAR PUSTAKA	25
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Nilai KHM tunggal dan kombinasi amoksisilin dengan ekstrak daun sirih terhadap <i>S. aureus</i>	28
2. Standar interpretasi KHM untuk bakteri <i>Staphylococcus spp.</i> (CLSI, 2020)	29
3. Hasil penentuan KHM tunggal dan kombinasi ekstrak daun sirih dan amoksisilin terhadap <i>S. aureus</i>	45

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Rumus struktur amoksisilin	7
2. Sirih (<i>Piper betle</i> L.)	10
3. <i>Staphylococcus aureus</i>	13
4. Hasil uji KHM amoksisilin dan ekstrak daun sirih menggunakan <i>microplate</i> 1	28
5. Hasil uji penegasan KHM tunggal amoksisilin menggunakan media MHA (A1 = 1,2 µg/ml)	29
6. Hasil uji penegasan KHM tunggal daun sirih menggunakan media MHA (S2 = 1.200 µg/ml)	30
7. Hasil uji penegasan KHM kombinasi ekstrak 600 µg/ml dengan masing-masing konsentrasi amoksisilin (A1S3 = amoksisilin + ekstrak 0,3 µg/ml dan ekstrak + amoksisilin 600 µg/ml)	31
8. Hasil ekstraksi daun sirih	47
9. Hasil uji KHM amoksisilin dan ekstrak daun sirih menggunakan <i>microplate</i> 2	48
10. Hasil uji KHM amoksisilin dan ekstrak daun sirih menggunakan <i>microplate</i> 3	48
11. Hasil uji penegasan KHM tunggal amoksisilin menggunakan media MHA	50
12. Hasil uji penegasan KHM tunggal daun sirih menggunakan media MHA	50
13. Hasil uji penegasan KHM kombinasi ekstrak 2.400 µg/ml dengan masing-masing konsentrasi amoksisilin	51
14. Hasil uji penegasan KHM kombinasi ekstrak 1.200 µg/ml dengan masing-masing konsentrasi amoksisilin	51

15. Hasil uji penegasan KHM kombinasi ekstrak 600 $\mu\text{g/ml}$ dengan masing-masing konsentrasi amoksisilin	52
16. Hasil uji penegasan KHM kombinasi ekstrak 300 $\mu\text{g/ml}$ dengan masing-masing konsentrasi amoksisilin	52
17. Hasil uji penegasan KHM kombinasi ekstrak 150 $\mu\text{g/ml}$ dengan masing-masing konsentrasi amoksisilin	53

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Skema kerja umum	39
2. Skema penentuan KHM tunggal dengan metode <i>Microdilution Checkerboard Assay</i>	40
3. Skema penentuan KHM kombinasi dengan metode <i>Microdilution Checkerboard Assay</i>	41
4. Skema <i>well</i> penentuan KHM tunggal dan kombinasi ekstrak daun sirih dan amoksisilin	42
5. Hasil perhitungan pengenceran amoksisilin dan ekstrak daun sirih	44
6. Hasil ekstraksi dan perhitungan persen rendemen ekstrak	47
7. Hasil penentuan KHM tunggal dan kombinasi ekstrak daun sirih dan amoksisilin terhadap <i>S. aureus</i>	48
8. Penentuan KHM tunggal dan kombinasi ekstrak daun sirih dan amoksisilin terhadap <i>S. aureus</i> serta perhitungan faktor modulasi	49
9. Hasil uji penegasan KHM tunggal dan kombinasi ekstrak daun sirih dan amoksisilin terhadap <i>S. aureus</i>	50
10. Komposisi media	54

DAFTAR SINGKATAN

CFU	= <i>Colony forming unit</i>
DMSO	= Dimetil sulfoksida
FICI	= <i>Fractional Inhibitory Concentration Index</i>
FM	= Faktor modulasi
KHM	= Konsentrasi Hambat Minimum
KLT	= Kromatografi Lapis Tipis
MHA	= <i>Mueller Hinton Agar</i>
MHB	= <i>Mueller Hinton Broth</i>
MNs	= <i>Microneedles</i>
MSA	= <i>Mannitol Salt Agar</i>
PBP	= <i>Penicillin binding protein</i>
<i>S. aureus</i>	= <i>Staphylococcus aureus</i>
TTC	= <i>Triphenyl tetrazolium chloride</i>
WHO	= <i>World Health Organization</i>

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Saat ini, penyakit infeksi mencapai sepertiga dari semua penyebab kematian di dunia. Salah satu bakteri yang menyebabkan penyakit infeksi adalah *Staphylococcus aureus* (Blesson *et al.*, 2015). Bakteri ini mampu menyebabkan berbagai penyakit mulai dari infeksi kulit ringan (jerawat, impetigo, bisul, selulitis, folikulitis, dan lain-lain), hingga penyakit yang mengancam jiwa seperti pneumonia, osteomielitis, meningitis, endokarditis dan sepsis (Gurung *et al.*, 2020). *World Health Organization* (WHO) melaporkan bahwa terdapat 64% pasien yang meninggal akibat infeksi *S. aureus* (WHO, 2020). Resistensi bakteri *S. aureus* menjadi masalah yang sangat serius terhadap berbagai jenis antibiotik. *Staphylococcus aureus* memiliki kemampuan adaptasi yang luar biasa sehingga bisa resisten pada banyak antibiotik. Salah satu golongan antibiotik yang menjadi sasaran dari *S. aureus* saat ini adalah penisilin (Afifurrahman dkk., 2014).

Amoksisilin adalah antibiotik golongan penisilin berspektrum luas yang merupakan salah satu antibiotika lini pertama pada berbagai terapi infeksi termasuk infeksi oleh *S. aureus* (Sitorus, 2018). Nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) dari amoksisilin yaitu 8 µg/ml (Sartini *et al.*, 2020). KHM merupakan konsentrasi terendah antimikroba yang dapat

menghambat pertumbuhan bakteri setelah diinkubasi. Penentuan nilai KHM dapat membantu dalam penentuan tingkat resistensi yang menunjukkan bahwa isolat tidak dihambat oleh konsentrasi antibiotik (Soleha, 2015; Bagul & Sivakumar, 2016). Beberapa penelitian menyatakan bahwa *S. aureus* menunjukkan resistensi tinggi (85,5%) terhadap amoksisilin. Kasus resistensi inilah yang menyebabkan kegagalan terapi menggunakan amoksisilin untuk menangani infeksi *S. aureus* (Ajoke *et al.*, 2021).

Tingginya prevalensi resistensi amoksisilin ini mendorong perlunya pencarian alternatif pada terapi resistensi amoksisilin, salah satunya dengan peningkatan aktivitas amoksisilin melalui modulasi oleh ekstrak tanaman (Kuok *et al.*, 2017). Bakteri yang resisten terhadap antibiotika membutuhkan senyawa antimikroba yang dapat memodulasi antibiotika agar tetap memiliki aktivitas sebagai antimikroba seperti minyak atsiri dan flavonoid. Modulasi dalam mikrobiologi adalah kemampuan suatu senyawa pada konsentrasi dibawah nilai KHM-nya dapat meningkatkan aktivitas antimikroba suatu antibiotika (Coelho *et al.*, 2015).

Flavonoid dan minyak atsiri dikenal sebagai salah satu sumber senyawa terapeutik untuk berbagai penyakit infeksi, termasuk agen antimikroba. Senyawa ini telah dilaporkan bahwa dalam kombinasi dengan antibiotik memiliki aksi antibakteri dalam menangani resistensi bakteri (Septama & Panichayupakaranant, 2015; Blesson *et al.*, 2015). Penggunaan kombinasi antibiotik dengan ekstrak tanaman dapat

menimbulkan efek sinergis yang mampu meningkatkan aktivitas antimikroba dari antibiotika. Efek sinergis terbentuk oleh pembentukan kompleks tertentu yang menjadi lebih efektif dalam menghambat mikroorganisme tertentu, baik dengan menghambat sintesis dinding sel ataupun dengan menyebabkan lisis atau kematiannya (Lubis *et al.*, 2020).

Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai modulator adalah daun sirih (*Piper betle* L.). Daun sirih mengandung banyak komponen kimia seperti betal-fenol, kavikol dan senyawa fenolik lainnya. Komponen ini diketahui memiliki potensi yang kuat dalam anti jamur maupun anti bakteri (Lubis *et al.*, 2020). Ekstrak etanol daun sirih dilaporkan memiliki nilai KHM sebesar 625 µg/ml terhadap *S. aureus* ATCC 25923 (Hoque *et al.*, 2011). Penelitian Taukoorah *et al.* (2016) melaporkan efek modulasi ekstrak etanol daun sirih terhadap aktivitas streptomisin, namun, belum ada penelitian yang menguji kemampuan ekstrak etanol 70% daun sirih terhadap amoksisilin.

Berdasarkan uraian di atas maka penelitian ini berfokus pada pengujian efek modulasi ekstrak daun sirih (*P. betle*) sebagai modulator yang dapat meningkatkan aktivitas antibakteri dari amoksisilin terhadap bakteri *S. aureus*.

I.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini yaitu apakah ekstrak daun sirih (*P. betle*) sebagai modulator dapat meningkatkan aktivitas antibakteri dari amoksisilin terhadap bakteri *S. aureus*?

I.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek modulasi ekstrak daun sirih (*P. betle*) sebagai modulator dapat meningkatkan aktivitas antibakteri dari amoksisilin terhadap bakteri *S. aureus*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Antibiotika

II.1.1 Definisi antibiotika

Antibiotika adalah zat-zat kimia yang dihasilkan oleh fungi dan bakteri yang mempunyai khasiat mematikan atau menghambat pertumbuhan kuman, sedangkan toksisitasnya pada manusia relatif kecil. Obat yang digunakan untuk membasmi mikroba harus memiliki sifat toksisitas selektif setinggi mungkin dimana obat tersebut harus bersifat sangat toksik untuk mikroba, tetapi relatif tidak toksik untuk hospes (Indijah & Fajri, 2016).

II.1.2 Penggolongan antibiotika

Berdasarkan sifat toksisitas selektif, terdapat antibiotika yang bersifat menghambat pertumbuhan mikroba, dikenal sebagai aktivitas bakteriostatik, dan ada pula yang bersifat membunuh mikroba, dikenal sebagai aktivitas bakterisid. Antimikroba yang tertentu aktivitasnya dapat meningkat dari bakteriostatik menjadi bakterisid bila kadarnya ditingkatkan.

Berdasarkan aktivitas dan spektrum, antibiotika dapat digolongkan menjadi dua kelompok, yaitu (Indijah & Fajri, 2016):

1. Antimikroba yang berspektrum sempit: hanya efektif untuk jenis bakteri Gram positif atau negatif saja. Contoh penisilin G, penisilin V,

eritromisin, klindamisin, kanamisin, dan asam fusidat efektif terutama terhadap bakteri Gram positif, sedangkan streptomisin, gentamisin, polimiksin B, dan asam nalidiksat khusus terhadap kuman Gram negatif.

2. Antimikroba yang berspektrum luas: efektif untuk berbagai jenis mikroba. Contoh tetrasiklin aktif terhadap beberapa jenis bakteri Gram positif, Gram negatif, *Rickettsia*, dan *Chlamydia*.

Berdasarkan mekanisme kerja, antibiotika dapat digolongkan sebagai berikut (Indijah dan Fajri, 2016):

1. Menghambat metabolisme sel mikroba

Mikroba membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya. Bila sintesis asam folat dari PABA dihambat oleh antimikroba maka kelangsungan hidupnya akan terganggu. Dengan mekanisme kerja ini diperoleh efek bakteristatik. Contoh obat: sulfonamide, trimetoprim, asam p-aminosalisilat, dan sulfonamide.

2. Menghambat sintesis dinding sel mikroba

Contoh obat: penisilin, sefalosporin, basitrasin, vankomisin, dan sikloserin. Dinding sel terdiri dari polipeptidoglikan, bila sintesis polipeptidoglikan dihambat maka dapat menyebabkan dinding sel lisis oleh karena tekanan osmosis dalam sel yang lebih tinggi dibandingkan dengan tekanan diluar sel.

3. Mengganggu keutuhan membran sel mikroba

Kerusakan membran sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel mikroba, seperti protein, asam nukleat, nukleotida, dan lain-lain. Contoh obat: polimiksin, golongan polien serta berbagai antimikroba golongan kemoterapeutik.

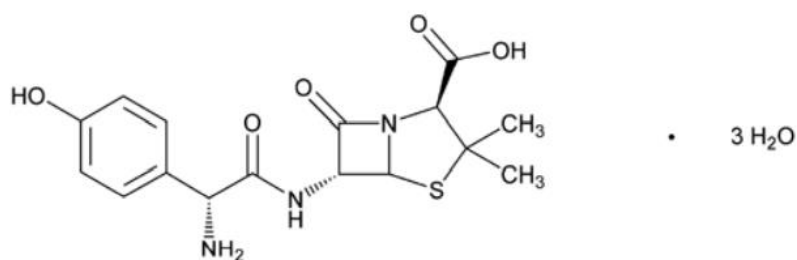
4. Menghambat sintesis protein sel mikroba

Untuk kehidupannya sel mikroba perlu mensintesis berbagai protein. Obat antibiotik diatas menghambat pembentukan protein, atau mengakibatkan terbentuknya protein yang abnormal dan nonfungsional. Contoh obat: aminoglikosida, makrolida, linkomisin, tetrasiklin, dan kloramfenikol.

5. Menghambat sintesis asam nukleat sel mikroba.

Contoh obat rifampisin, dan golongan kuinolon.

II.2 Amoksisilin



Gambar 1. Rumus struktur amoksisilin (Ditjen, 2020)

Amoksisilin merupakan obat generik dan termasuk golongan obat penisilin. Amoksisilin merupakan antibiotik β -laktam yang berspektrum luas dan sering digunakan untuk mengobati berbagai penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif,

seperti infeksi telinga, pneumonia, faringitis streptokokus, infeksi kulit, infeksi saluran kemih, infeksi *Salmonella*, infeksi *Chlamydia* dan penyakit *Lyme* (Maida & Lestari, 2019).

Mekanisme kerja dari penisilin adalah menghambat kerja *penicillin binding protein* (PBP) yang berfungsi mengkatalisis reaksi transpeptidase dalam proses pembentukan dinding sel bakteri, sehingga mengakibatkan matinya sel bakteri. Antibiotika golongan penisilin bersifat bakterisida (membunuh bakteri) hanya bila sel-sel bakteri tumbuh dengan aktif dan mensintesis dinding sel (Bernatova *et al.*, 2013; Indijah & Fajri, 2016).

Resistensi terhadap penisilin dan antibiotik β -laktam lainnya dapat disebabkan oleh salah satu dari empat mekanisme umum, yaitu (Katzung *et al.*, 2012):

1. Inaktivasi antibiotik oleh enzim betalaktamase

Enzim beta-laktamase merusak cincin β -laktam dari antibiotik yang menyebabkan hilangnya aktivitas antibakteri dari antibiotik tersebut.

2. Modifikasi PBPs target

Perubahan target PBPs merupakan dasar resistensi metisilin pada *staphylococcus* dan resistensi penisilin pada *pneumococcus* dan *enterococcus*. Mikroorganisme resisten ini menghasilkan PBP yang memiliki afinitas rendah untuk mengikat antibiotik beta-laktam, dan akibatnya, mikroorganisme ini tidak dapat dihambat kecuali pada konsentrasi obat yang relatif tinggi

3. Kerusakan penetrasi obat ke dalam PBPs target

Resistensi akibat gangguan penetrasi antibiotik ke target PBPs hanya terjadi pada bakteri Gram negatif karena membran dinding sel luarnya yang tidak permeabel, hal ini tidak terdapat pada bakteri Gram positif. Antibiotik β -laktam melintasi membran sel luar dan memasuki bakteri gram negatif melalui saluran protein membran luar yang disebut porin. Kurangnya penetrasi antibiotik ke dalam sel bakteri menyebabkan rendahnya kadar penisilin di dalam sel bakteri, sehingga memengaruhi kemampuan antibiotik dalam menghambat sintesis dinding sel bakteri.

4. Adanya suatu pompa aliran keluar

Hal ini secara aktif mengeluarkan antibiotika dari dalam sel. Hal tersebut menyebabkan rendahnya kadar antibiotika di dalam sel, sehingga memengaruhi kemampuan antibiotik dalam menghambat sintesis dinding sel bakteri.

Proses resistensi amoksisilin yang disebabkan oleh bakteri *S. aureus* dapat menghasilkan enzim beta-laktamase yang menyerang cincin beta-laktam pada molekul penisilin. Enzim ini bertanggung jawab dalam peningkatan perlawanan terhadap penisilin. Enzim beta-laktamase melindungi bakteri Gram positif dan Gram negatif. Dalam Gram positif, enzim dibebaskan ke dalam medium dan menghancurkan antibiotika sebelum mencapai sel. Pada bakteri Gram negatif enzim secara strategis terlokasi pada rute dimana antibiotika harus berjalan untuk mencapai targetnya (Chudlari dkk., 2012).

II.3 Daun Sirih (*Piper betle* L.)

II.3.1 Klasifikasi tanaman

Daun sirih (*P. betle*) merupakan tanaman dengan tatanan taksonomi sebagai berikut (Sarjani dkk., 2017):

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Tracheobionta
Super divisi : Spermatophyta
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Sub Kelas : Magnoliidae
Ordo : Piperales
Famili : Piperaceae
Genus : Piper
Spesies : *Piper betle*



Gambar 2. Sirih (*Piper betle* L.) (Sarjani dkk., 2017)

II.3.2 Morfologi tanaman

Tanaman daun sirih memiliki perawakan berupa semak berkayu di bagian pangkal, merambat atau memanjat, panjang tanaman dapat mencapai 15 m. Akar sirih adalah akar tunggang yang bentuknya bulat dan berwarna coklat kekuningan. Batang sirih berwarna coklat kehijauan ada juga hijau keunguan, berbentuk bulat, beruas, dan merupakan tempat keluarnya akar. Batang berbentuk silindris, berbuku-buku nyata, beralur, batang muda berwarna hijau, tua berwarna coklat muda. Daun tunggal, letak berseling, helaian daun berbentuk bulat telur sampai lonjong, pangkal daun berbentuk jantung atau membulat, panjang 5–18 cm, lebar daun 2,5–10,75 cm dan mengeluarkan aroma yang khas bila diremas. Perbungaan berupa bunga majemuk untai, daun pelindung kurang lebih 1 mm, berkelamin jantan, betina atau banci. Buah terletak tersembunyi atau buni, bulat, berdaging dan berwarna hijau keabu-abuan, tebal 1–1,5 cm, biji agak membulat, panjang 3,5–5 mm (Widiyastuti dkk., 2016; Sarjani dkk., 2017).

II.3.3 Kandungan kimia

Kandungan senyawa kimia dari tanaman daun sirih sangat beragam. Daun sirih mengandung minyak atsiri 0,8–1,8% yang terdiri atas kavikol, kavibetol, alilpirokatekol (hidroksikavikol). Kandungan senyawa lain adalah alilpirokatekol mono dan diasetat, karvakrol, eugenol, eugenol metileter, p-simen, sineol, kariofilen, kadinen, estragol, terpen, seskuiterpen, fenilpropan, tanin, karoten, tiamin, riboflavin, asam

nikotianat, vitamin C, gula, pati, dan asam amino. Minyak atsiri daun sirih dapat diformulasikan menjadi sediaan antiseptik dan telah menunjukkan aktivitas antibakteri yang baik (Widiyastuti dkk., 2016; Veranita *et al.*, 2021). Dari hasil analisis GC-MS minyak atsiri daun sirih hijau, dihasilkan 10 senyawa terbanyak dari 38 senyawa yaitu diantaranya 5 senyawa turunan fenol (senyawa kavikol (21,27 %), eugenol (13,30 %), eugenol asetat (8,34 %), 2-alifenol (7,01 %), dan terpineol (2,87 %)) dan 5 senyawa seskuiterpen (germacren D (9,08 %), karyofilen (8,37 %), beta-chamigren (4,62 %), alfa-kadinen (3,88 %), dan alfa-humulen (2,42 %) (Sujono dkk., 2019).

II.3.4 Manfaat tanaman

Di Indonesia, rebusan daun sirih telah banyak digunakan sebagai pengobatan alternatif, umumnya untuk halitosis, antikandidiasis vagina dan oral, serta konjungtivitis. *P. betle* merupakan anggota famili *Piperaceae*. Daun sirih mengandung banyak komponen kimia seperti betal-fenol, kavikol dan senyawa fenolik lainnya. Komponen tersebut diketahui memiliki potensi yang kuat dalam sifat anti jamur, anti bakteri pada sirih (Lubis *et al.*, 2020). Ekstrak tumbuhan ini juga digunakan untuk menyembuhkan infeksi saluran kemih, servitis vaginitis, dan gangguan pencernaan serta infeksi kulit seperti virus herpes simpleks tipe-1. Daunnya secara tradisional dikenal bermanfaat untuk pengobatan berbagai penyakit seperti bau mulut, bisul dan abses, konjungtivitis, sakit kepala, gatal-gatal, mastitis, mastoiditis, keputihan, kurap, pembengkakan

gusi, rematik, pereda batuk, perangsang keluarnya air liur, pencegah kecacingan dan penenang, sedangkan akarnya dikenal dengan efek kontrasepsi wanita (Hoque *et al.*, 2011; Widiyastuti dkk., 2016).

II.4 *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi dari *Staphylococcus aureus* yaitu sebagai berikut (Tammi, 2015):

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i>



Gambar 3. *Staphylococcus aureus*. (a) pewarnaan gram mikroskopik, (b) Media Blood Agar, (c) Media Mannitol Salt Agar (Hayati dkk., 2019; Gurung *et al.*, 2020)

Staphylococcus aureus adalah bakteri Gram positif non-motil, berbentuk anggur yang tidak beraturan dan kadang-kadang tunggal atau berpasangan, tidak membentuk spora, fakultatif anaerob dan anggota patogen dari genus *Staphylococcus* berukuran sekitar 1 μ M. Bakteri ini membentuk koloni berwarna emas pada medium diperkaya dan hemolisis

pada *Blood Agar* yang mengandung karena produksi karotenoid dan beta-hemolisin, pada pewarnaan gram tampak sebagai koloni seperti anggur kebiruan. *Staphylococcus aureus* bersifat katalase-positif, suatu ciri unik yang membedakannya dengan *Streptococcus spp.*, bersifat oksidase-negatif sehingga memerlukan asam amino dan vitamin B tertentu yang penting untuk pertumbuhan dan juga dapat mentolerir konsentrasi garam yang tinggi (Bitrus *et al.*, 2018; Dewi, 2013).

Infeksi oleh jenis kuman ini yang terutama menimbulkan penyakit pada manusia. Setiap jaringan ataupun alat tubuh dapat menyebabkan timbulnya penyakit dengan tanda-tanda yang khas, yaitu peradangan, nekrosis dan pembentukan abses. Infeksinya dapat berupa furunkel yang ringan pada kulit sampai berupa suatu piemia yang fatal. Kecuali impetigo, umumnya kuman ini menimbulkan penyakit yang bersifat sporadik bukan epidemik (Cheung *et al.*, 2021).

Kuman *Staphylococcus* merupakan sebagian dari flora normal pada kulit manusia, saluran pernapasan dan saluran pencernaan makanan. Selain itu, kuman *Staphylococcus* dapat pula menyebabkan terjadinya sistitis dan pielitis, bahkan dapat pula menyebabkan terjadinya septikemia, endokarditis, meningitis, abses serebri, sepsis puerperalis, trombosis sinus kavernosus dan orbitalis, osteomielitis dan pneumonia (Cheung *et al.*, 2021).

II.5 Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

II.5.1 Definisi KHM

Konsentrasi hambat minimum (KHM) adalah konsentrasi antimikroba terendah yang masih dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme tertentu. Prosedur ini digunakan untuk menentukan konsentrasi antimikroba yang masih efektif untuk mencegah pertumbuhan patogen dan mengindikasikan dosis antimikroba yang efektif untuk mengontrol infeksi pada pasien (Stefanovic *et al.*, 2011).

II.5.2 Metode pengujian

Secara umum, metode pengujian aktivitas antibakteri terdiri atas dua yaitu metode difusi dan metode dilusi. Kedua metode terdiri dari (Balouiri *et al.*, 2015):

II.5.2.1. Metode difusi cakram

Metode difusi cakram dilakukan dengan menggunakan media agar yang diinokulasikan dengan inokulum standar mikroorganisme uji. Kemudian, kertas cakram (diameter 6 mm) yang mengandung senyawa uji dengan konsentrasi yang diinginkan diletakkan pada permukaan media agar. Cawan petri tersebut diinkubasi pada kondisi yang sesuai. Selanjutnya, gen antimikroba akan berdifusi ke media agar dan menghambat pertumbuhan mikroorganisme uji yang dapat dilihat dari zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram.

Keuntungan dari metode difusi cakram dibandingkan dengan metode lain, yaitu lebih mudah, murah, dapat menguji sejumlah besar

mikroorganisme dan agen antimikroba, serta sangat mudah dalam menginterpretasikan hasil yang diperoleh. Adapun kekurangan dari metode ini yaitu: tidak dapat membedakan efek bakterisida dan bakteriostatik, serta tidak cocok digunakan dalam penentuan nilai KHM.

II.5.2.2 Metode dilusi

Metode dilusi merupakan metode yang sangat tepat digunakan dalam menentukan nilai KHM, karena pada metode ini dapat diperkirakan konsentrasi senyawa antimikroba pada media agar maupun media cair. Metode dilusi secara garis besar terdiri atas metode dilusi cair dan dilusi padat.

II.5.2.2.1 Metode dilusi cair

II.5.2.2.1.1 Metode makrodilusi

Metode makrodilusi digunakan pada media cair dalam tabung dengan volume minimal 2 ml. Selanjutnya, tabung diinokulasikan dengan inokulum mikroba yang setara dengan standar 0,5 *McFarland* dan diinkubasi pada kondisi yang sesuai.

Kerugian dari metode makrodilusi ini adalah membutuhkan waktu yang lama, dilakukan secara manual, resiko terjadinya kesalahan dalam pembuatan larutan uji, dan dibutuhkan banyak reagen serta ruang dalam melakukan metode ini.

II.5.2.2.1.2 Metode mikrodilusi

Metode mikrodilusi dapat digunakan untuk mengukur secara kualitatif dan kuantitatif aktivitas antimikroba terhadap bakteri maupun fungi. Nilai KHM dinyatakan sebagai konsentrasi terendah dari agen antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme uji.

Metode mikrodilusi cair merupakan salah satu metode paling dasar dalam pengujian aktivitas antimikroba. Metode ini dilakukan dengan menyiapkan pengenceran berkelipatan dua ke dalam media pertumbuhan cair pada *microplate*. Selanjutnya, pada setiap *well* diinokulasikan dengan inokulum mikroba yang setara dengan standar 0,5 *McFarland* dan diinkubasi pada kondisi yang sesuai. Kelebihan metode mikrodilusi yaitu lebih sensitif.

Penentuan nilai KHM dari suatu antimikroba dapat dilakukan dengan menggunakan perangkat untuk membaca pengujian mikrodilusi dan mencatat hasil dengan baik dalam membedakan pertumbuhan mikroorganisme di dalam *well* dan dengan menggunakan reagen warna. Beberapa reagen warna yang dapat digunakan yaitu seperti reagen garam-garam tetrazolium dan resazurin.

II.5.2.2.2 Metode dilusi agar

Metode dilusi padat dilakukan dengan berbagai konsentrasi yang diinginkan ke dalam media agar dengan menggunakan pengenceran seri berlipat ganda dan di atas permukaan media padat diinokulasikan suspensi mikroba. Hasilnya dapat dilihat dari konsentrasi terendah

senyawa antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Metode ini cocok jika digunakan dengan metode *E-test*, khususnya dalam pengujian antibakteri terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif.

II.6 Faktor Modulasi

Faktor modulasi didefinisikan sebagai rasio KHM untuk antibiotik tunggal dan kombinasi antibiotik dengan adanya ekstrak. Faktor modulasi digunakan untuk mengukur efek inhibitor pada KHM antibiotik dan ekstrak. Faktor modulasi dilakukan dengan cara membandingkan nilai KHM dari amoksisilin dan nilai KHM dari amoksisilin yang dikombinasikan dengan ekstrak daun sirih. Faktor modulasi menunjukkan pengurangan nilai KHM dari antibiotik yang diberikan dengan adanya penghambatan dan dapat dikatakan signifikan jika nilai FM ≥ 4 (penurunan empat kali lipat) (Coelho *et al.*, 2015).