

**EFEK MODULASI EKSTRAK KELOPAK BUNGA  
ROSELA (*Hibiscus sabdariffa* Linn) TERHADAP  
AKTIVITAS ANTIBAKTERI SEFOTAKSIM PADA  
*Staphylococcus aureus***

**EFFECTS OF MODULATION CALYX ROSELLE  
EXTRACT (*Hibiscus sabdariffa* Linn) ON  
ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF CEFOTAXIME  
AGAINST *Staphylococcus aureus***

**VALENTINUS WAWAN  
N111 16 023**



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2020**



Optimization Software:  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)

**EFEK MODULASI EKSTRAK KELOPAK BUNGA ROSELA (*Hibiscus  
sabdarriffa* Linn ) TERHADAP AKTIVITAS ANTIBAKTERI SEFOTAKSIM  
PADA *Staphylococcus aureus***

**EFFECTS OF MODULATION CALYX ROSELLE EXTRACT (*Hibiscus  
sabdarriffa* Linn) ON ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF CEFOTAXIME  
AGAINST *Staphylococcus aureus***

**SKRIPSI**

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

**VALENTINUS WAWAN  
N111 16 023**

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

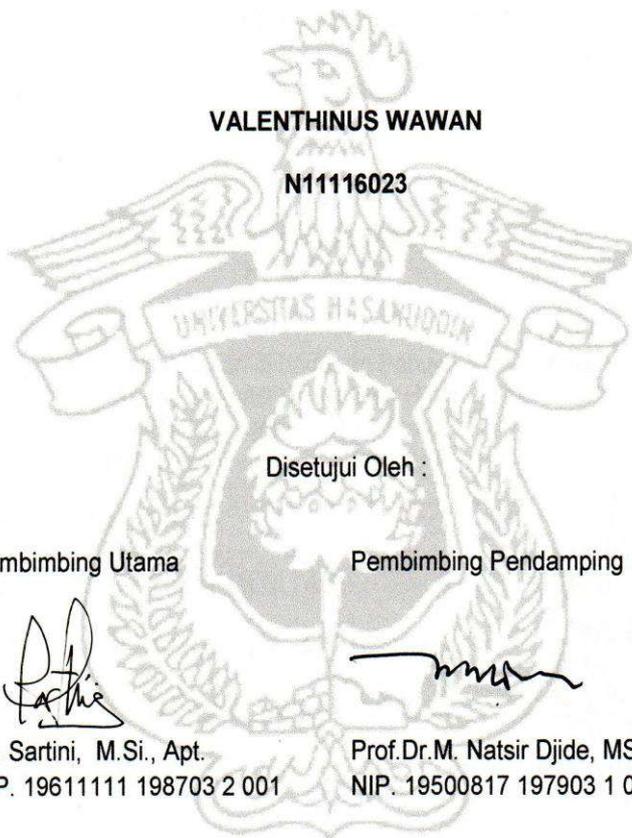
**20**



**EFEK MODULASI EKSTRAK KELOPAK BUNGA ROSELA (*Hibiscus  
sabdariffa* Linn ) TERHADAP AKTIVITAS ANTIBAKTERI SEFOTAKSIM  
PADA *Staphylococcus aureus***

**VALENTINUS WAWAN**

**N11116023**



Disetujui Oleh :

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

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

Prof. Dr. M. Natsir Djide, MS., Apt.  
NIP. 19500817 197903 1 001

Pada tanggal : Agustus 2020



**SKRIPSI**

**EFEK MODULASI EKSTRAK KELOPAK BUNGA ROSELA (*Hibiscus sabdariffa* Linn ) TERHADAP AKTIVITAS ANTIBAKTERI SEFOTAKSIM PADA *Staphylococcus aureus***

**EFFECTS OF MODULATION CALYX ROSELLE EXTRACT (*Hibiscus sabdariffa* Linn) ON ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF CEFOTAXIME AGAINST *Staphylococcus aureus***

Disusun dan diajukan oleh :

**VALENTINUS WAWAN  
N111 16 023**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin  
Pada Tanggal 13 Agustus 2020  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Panitia Penguji Skripsi

- 1.. Ketua : Dr. Sartini, M.Si., Apt
- 2.. Sekretaris : Prof.Dr.M. Natsir Djide, MS., Apt
3. Anggota : Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt.
4. Anggota : Ismail, S.Si., M.Si., Apt



**Mengetahui,  
Ketua Program Studi S1 Fakultas Farmasi  
Universitas Hasanuddin**

**Firzan Nainu, S.Si., M.Biomed.Sc., Apt., Ph.D.**

**NIP. 19820610 200801 1 012**



## PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini benar-benar adalah hasil karya saya sendiri, tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa pernyataan saya ini tidak benar, maka skripsi dan gelar yang diperoleh batal demi hukum.

Makassar, 26 Agustus 2020

Yang menyatakan



Valentinus Wawan  
N111 16 023



## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji dan syukur yang sebesar-besarnya penulis panjatkan kepada Tuhan yang Maha Esa karena atas berkat dan karunia-Nyalah sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini sebagai salah satu syarat dalam memperoleh gelar kesarjanaan pada Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

Penulis sadari bahwa skripsi ini tidak akan selesai tanpa adanya doa dan dukungan serta bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, melalui kesempatan ini penulis ingin mengucapkan banyak terimakasih kepada:

1. Ibu Dr. Sartini, M.Si., Apt. selaku pembimbing utama dan Bapak Prof. Dr. M. Natsir Djide, MS., Apt. selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan, arahan, ilmu dan waktu dalam membimbing selama melakukan penelitian sehingga mampu menyelesaikan skripsi ini.

2. Ibu Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt. dan Bapak Ismail S.Si., M.Si., Apt. selaku penguji yang telah memberikan saran, dan masukan yang sangat berguna selama penyusunan skripsi ini

3. Bapak Dekan, Wakil Dekan dan Bapak/Ibu dosen Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, terima kasih atas segala ilmu saat menjalani proses perkuliahan.

4. . Ibu Dr. Sartini, M.Si., Apt. selaku pembimbing akademik yang memberikan arahan dan nasehat selama belajar di di Fakultas Universitas Hasanuddin.



5. Saudari Tiffani Dewi Wijaya, Elisa T, Vera Angelin, Chepi Violandi dan Ainul Yaqin yang telah memberikan semangat dan motivasi selama proses perkuliahan dan penyusunan skripsi.

6. Teman-teman di Fakultas Farmasi yang telah membantu, memberikan masukan dan saran selama proses perkuliahan dan pembuatan skripsi.

Terima kasih sebesar-besarnya untuk kedua orang tua dan saudara/ saya yaitu Bapak Robertus Pakanda dan Ibu Alfrida serta saudari saya Cicilia Zephyanna dan Aleksius Laksy yang memberikan dukungan dan membantu saya menjalani kehidupan perkuliahan sehingga dapat menyelesaikan tugas akhir saya. Kepada pihak yang tidak sempat disebutkan namanya saya ucapkan terima kasih.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, oleh sebab itu, penulis mengharapkan masukan sehingga diperoleh karya yang lebih baik lagi. Kiranya skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

Makassar, 26 Agustus 2020



Valenthinus Wawan



## ABSTRAK

**VALENTINUS WAWAN.** Efek Modulasi Ekstrak Kelopak Bunga Rosela (*Hibiscus sabdariffa Linn*) Terhadap Aktivitas Antibakteri Sefotaksim Pada *Staphylococcus aureus* (dibimbing oleh Sartini dan M. Natsir Djide)

Rosela merupakan tanaman yang memiliki banyak manfaat dan telah digunakan sebagai pengobatan tradisional. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa senyawa fenolik dalam ekstrak kelopak bunga rosela dapat memodulasi aktivitas beberapa antibiotik terhadap *Staphylococcus aureus*. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui kemampuan ekstrak kelopak bunga rosela dalam meningkatkan aktivitas sefotaksim terhadap *S. aureus* ATCC 25923. Penentuan aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode *microdilution checkerboard assay* dan difusi agar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak kelopak bunga rosela adalah 0,25%, antibiotik sefotaksim adalah 0,25 bpj dan kombinasi sefotaksim dengan ekstrak kelopak bunga rosela konsentrasi 0,125% adalah 0,25 bpj. Pada hasil pengujian menggunakan metode difusi agar diperoleh diameter zona hambat sefotaksim dan kombinasi sefotaksim dengan ekstrak kelopak bunga rosela konsentrasi 0,125% berturut-turut yaitu 56,93 mm dan 56,99 mm. Kesimpulan penelitian ini, bahwa ekstrak rosela konsentrasi 0,125% tidak memodulasi aktivitas antibakteri dari sefotaksim. Penambahan ekstrak kelopak bunga rosela memiliki efek indeferen terhadap sefotaksim. pada bakteri *S.aureus*

Kata kunci : Ekstrak rosela (*Hibiscus sabdariffa L*), Sefotaksim, bakteri *Staphylococcus aureus*



## ABSTRACT

**VALENTINUS WAWAN.** Effects of Modulation calyx Roselle Extract (*Hibiscus sabdariffa* Linn) on Antibacterial Activity of Cefotaxime against *Staphylococcus aureus* (supervised by Sartini and M. Natsir Djide)

Roselle is a plant that has many benefits and has been used as a traditional medicine. Previous studies reported that phenolic compounds in roselle calyx extracts can modulate the activity of several antibiotics against *Staphylococcus aureus*. The purpose of this study was to determine the ability of roselle calyx extract to increase cefotaxime activity against *S. aureus* ATCC 25923. Determination of antibacterial activity was carried out using the *Microdilution Checkerboard Assay* method and agar diffusion method. The results showed that the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of rosella calyx extract was 0.25%, cefotaxime was 0.25 ppm and combination of cefotaxime with 0.125% concentration of rosella calyx extract was 0.25 ppm. In the test results using the diffusion method in order to obtain the inhibition zone diameter of cefotaxime and the combination of cefotaxime with rosella calyx extract with concentration of 0.125%, namely 56.93 mm and 56.99 mm, respectively. The conclusion of this study was that the roselle calyx extract concentration of 0.125% did not modulate the antibacterial activity of cefotaxime. The addition of roselle calyx extract has an indifferent effect on cefotaxime against *S. aureus*

Keyword : Rosela extract ( *Hibiscus sabdariffa* L ), Cefotaxime, *Staphylococcus aureus*



## DAFTAR ISI

	halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1    Latar Belakang	1
I.2    Rumusan Masalah	2
I.3    Tujuan Penelitian	3
BAB II    TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1    Uraian Tanaman Rosela	
II.1.1    Klasifikasi Tanaman Rosela	4
II.1.2    Morfologi Tanaman Rosela	4
II.1.3    Manfaat Tanaman Rosela	5
II.1.4    Kandungan Tanaman Rosela	5
II.2    Uraian Bakteri Staphylococcus aureus	7
Ekstraksi	8
High Pressure Extraction (HPE)	11



II.5	Antibiotika	12
II.6	Sefotaksim	13
II.7	Resistensi Antibiotik	15
II.8	Metode Pengujian antibiotika	15
BAB III	METODE PENELITIAN	
III.1	Alat dan Bahan	17
III.2	Metode Kerja	17
II.2.1	Penyiapan Sampel	17
II.2.2	Sterilisasi Alat dan Bahan	18
II.2.3	Medium Mueller Hinton Broth (MHB)	18
II.2.4	Medium Mueller Hinton Agar (MHA)	18
II.2.5	Medium Nutrient Agar (NA)	19
II.2.6	Medium Nutrient Agar (NA)	19
II.2.7	Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Rosela	20
II.2.8	Pembuatan Larutan Uji Sefotaksim	20
II.2.9	Penentuan KHM Ekstrak Rosela	21
II.2.10	Penentuan KHM Sefotaksim	21
II.2.11	Penentuan Efek Modulasi Kombinasi Sefotaksim Dan Ekstrak Rosela Menggunakan Metode Mikrodilusi	22
II.2.12	Penentuan Nilai Faktor Modulasi	22
II.2.13	Penentuan Efek Modulasi Ekstrak Rosela Terhadap Aktivitas Antibakteri Sefotaksim Menggunakan Metode Difusi Agar	22



BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	-
IV.1	Penentuan KHM Cefotaksim, Ekstrak Rosella dan Kombinasi Sefotaksim dengan Ekstrak Rosella	23
IV.2	Penentuan Efek Modulasi Ekstrak Rosella Terhadap Sefotaksim	27
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	
V.1	Kesimpulan	31
V.2	Saran	31
	DAFTAR PUSTAKA	32
	LAMPIRAN	35



## DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Hasil KHM sefotaksim, ekstrak rosela dan kombinasi sefotaksim dengan ekstrak rosela	24
2. Hasil Efek Modulasi kombinasi sefotaksim dan esktrak rosela	24
3. Hasil Diameter Zona Hambat sefotaksim dan $\frac{1}{2}$ KHM ekstrak rosela	28



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Tanaman Bunga rosella	3
2. Bakteri <i>staphylococcus aureus</i>	6
3. Struktur Sefotaksim	12
4. Hasil uji KHM cefotaksim dan ekstrak rosella menggunakan <i>microplate well 48</i>	23
5. Diameter zona hambat sefotaksim (A, B, C) dan kombinasi sefotaksim dengan ekstrak rosella konsentrasi 0,125% (D, E, F)	28



## DAFTAR LAMPIRAN

	halaman
1. Skema kerja Umum	34
2. Komposisi Bahan	36
3. Dokumentasi Kegiatan	37



# BAB 1

## PENDAHULUAN

### I.1 Latar Belakang

Sefotaksim adalah antibiotik golongan sefalosporin generasi ketiga yang memiliki aktivitas sebagai bakterisida dengan aktivitas spektrum yang lebih luas (Sweetman, 2009). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa sefotaksim mulai resisten terhadap beberapa bakteri patogen. Studi yang telah dilakukan oleh Marhamah (2016), menunjukkan antibiotik sefotaksim telah resisten terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan mengalami peningkatan dari data yang diambil dari tahun 2012 – 2014 di Balai Laboratorium Kesehatan di Lampung. Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk mempertahankan keefektifan antibiotik adalah mengkombinasikannya dengan ekstrak bahan alam yang dapat meningkatkan sensitivitas antibiotik tersebut.

Rosela (*Hibiscus sabdariffa* Linn) merupakan tanaman yang telah digunakan di banyak sektor sebagai sumber makanan fungsional, pewarna alami dan agen antimikroba (Chang *et al*, 2014; Handarini, 2014; El Mesallamy, 2016). Kelopak bunga rosela mengandung senyawa organik, antosianin (*Delphinidin-3-sambubioside* dan *Cyanidin-3-sambubioside*) (Beltran-Debon *et al.*, 2010), flavonoid berupa *hibiscitrin*



(*hibiscetin-3-glucoside*), *sabdaritrin*, *gossypitrin*, *gossytrin*, *quercetin* dan *luteolin* dan asam protokatekuat (McKay, 2009; Williamson et al., 2009). Hasil studi yang dilakukan oleh Chao dan Yin (2008), menunjukkan senyawa fenolik berperan penting terhadap efek antibakteri dari ekstrak rosela. Penelitian Liu *et al.* (2005), memperoleh ekstrak air kelopak bunga rosela memiliki kadar hambat minimal  $32\pm 8$  bpj terhadap *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*. Pada penelitian Atika (2019), menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak air rosela dengan antibiotik amoksisilin dapat meningkatkan efektivitas antibakteri dari amoksisilin terhadap bakteri *Escherichia coli*. Pada pengujian sinergitas ekstrak rosella dan kitosan juga menunjukkan adanya efek sinergitas, dimana ekstrak rosela menurunkan KHM kitosan sebanyak 250 kali terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (Haeria et al., 2018).

Berdasarkan latar belakang diatas, akan dilakukan penelitian untuk menentukan kemampuan ekstrak rosella dalam meningkatkan aktivitas antibakteri dari sefotaksim terhadap *staphylococcus aureus*.

## II.2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak rosela dapat meningkatkan aktivitas antibakteri sefotaksim terhadap *staphylococcus aureus*

## II.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui kemampuan ekstrak rosela dalam meningkatkan antibakteri sefotaksim terhadap *staphylococcus aureus*



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### II.1 Uraian Tanaman

##### II.1.1 Klasifikasi tanaman rosela

Kingdom = Plantae

Divisi = Magnoliophyta

Class = Magnoliopsida

Ordo = Malvales

Famili = Malvaceae

Genus = Hibiscus

Spesies = *Hibiscus sabdariffa* L ( Ross, 2003 )

##### II.1.2 Morfologi tanaman rosela



Gambar 1. Tanaman Rosela



*Hibiscus sabdariffa* merupakan tanaman tahunan, tegak, lebat dan herba sub belukar yang dapat tumbuh sampai 8 kaki (2,4 m), memiliki batang yang halus atau agak halus, silindris dan berwarna merah. Daunnya bergantian dengan panjang 3 – 5 inci, berwarna hijau dengan urat daun yang agak kemerahan, batang daun yang panjang atau pendek. Bagian atas daun sederhana, bagian bawah daun agak dalam dengan 3, 5 bahkan 7 cuping; bagian tepi bergigi. Bunganya di topang oleh daun aksilnya, dengan lebar mencapai 5 inci, berwarna kuning atau *buff* pada mawar atau mata mawar dan berubah menjadi merah muda pada saat layu. Kelopak merah biasanya terdiri dari 5 sepal besar dengan kerah (*epicalyx*) 8 hingga 12, *bracts* runcing (atau *bracteoles*) di sekitar dasar, mulai membesar, menjadi berdaging, segar tetapi berair, panjang 3,2-5,7 cm dan sepenuhnya menutupi kapsul beludru, panjang 1,25–2 cm, berwarna hijau ketika belum matang, memiliki 5-katup, dengan setiap katup yang mengandung 3 hingga 4 biji berwarna coklat muda berbentuk ginjal, 3–5 mm panjang dan halus. Kapsul berubah menjadi coklat dan terbelah saat matang dan kering (Morton, 1987; Ross, 2003).

### II.1.3 Manfaat tanaman rosela

Kelopak bunga rosela di beberapa negara banyak dikonsumsi sebagai minuman kesehatan. Salah satu bentuk minuman kesehatan

berupa teh kelopak bunga rosela yang pembuatannya dengan rebusan (Maryani dan Kristiana 2005). Di India, Afrika dan Meksiko, daun atau kelopaknya secara tradisional digunakan efek diuretik,



kolerektik, febrifugal dan hipotensi, mengurangi viskositas darah dan merangsang usus gerak peristaltik (Morton, 1987 ). Di Mesir, telah digunakan untuk mengobati penyakit jantung dan saraf dan juga untuk meningkatkan produksi urin (diuresis). Di Mesir dan Sudan, infusnya juga digunakan untuk membantu menurunkan suhu tubuh (Leung, 1996 ). Di Afrika Utara, kelopaknya digunakan untuk mengobati sakit tenggorokan dan batuk, serta masalah kelamin, sementara bubur daunnya digunakan untuk mengobati luka luar dan abses (Neuwinger, 2000). Di India, rebusan dari biji digunakan untuk menghilangkan rasa sakit saat buang air kecil dan gangguan pencernaan. Dalam pengobatan tradisional Cina, digunakan untuk mengobati gangguan hati dan tekanan darah tinggi ( Morton, 1987).

#### II.1.4 Kandungan tanaman rosela

Studi yang dilakukan oleh Ismail *et al* (2008) melaporkan bahwa kelopak bunga rosela mengandung protein, lemak, karbohidrat dan serat, vitamin C, *b*-karoten, kalsium dan zat besi. Daunnya mengandung protein lemak, karbohidrat, mineral (fosfor zat besi tiamin, *b*-karoten, riboflavin dan asam askorbat. Bijinya mengandung minyak lemak mentah,protein kasar, karbohidrat, serat kasar dan abu, kalium, natrium, kalsium, fosfor dan magnesium ( Nzikou et al., 2011 ).

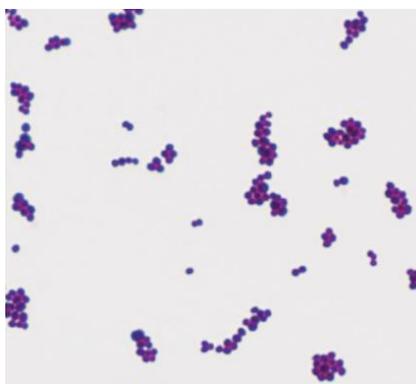


mentara komponen bioaktif yang terdapat didalam tanaman yaitu : asam organik (asam sitrat, asam hidroksisitrat, asam

hibiscus, malat dan asam tartarat, asam oksalat dan asam askorbat), antosianin (*delphini-din-3-sambubioside* (*hibiscin*), *cyanidin-3-sambubioside* (*gossypi-cyanin*), *cyanidin-3,5-diglucoside*, *delphinidin* (*anthocyanidin*)), polisakarida dan flavonoid (asam klorogenat, asam protokatekuat, asam pelargonidik, eugenol, quercetin, luteolin dan sterol b-sitosterol dan ergosterol) (Williamson et al., 2009; McKay, 2009).

## II.2 Uraian Bakteri *Staphylococcus aureus*

Kingdom : Bakteria  
Subkingdom : Posibakteria  
Filum : Firmicutes  
Kelas : Bacili  
Ordo : Bacilalles  
Famili : Staphylococcaceae  
Genus : *Staphylococcus*  
Spesies : *Staphylococcus aureus*



Gambar 2. Bakteri *Staphylococcus aureus* (Jawetz et al, 2001)



*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif dengan sifat fakultatif anaerob. Berbentuk bulat, berdiameter 0,5 – 1,5  $\mu\text{m}$ , suhu pertumbuhan optimum 35 – 37  $^{\circ}\text{C}$ , tumbuh pH optimum 7,0 – 7,5. Biasanya berkelompok, mempunyai pigmen kuning keemasan ketika dibiarkan pada suhu kamar dan sebagian besar koloni *staphylococcus aureus* adalah beta hemolitik (Djide dan Sartini, 2008; Jorgensen *et al*, 2015).

*Staphylococcus aureus* merupakan mikroflora normal dan memiliki habitat pada daerah kulit, hidung dan mulut dimana pada keadaan sistem imun normal tidak bersifat patogen. Tetapi, spesies ini yang secara klinis dapat menyebabkan berbagai penyakit pada manusia dan hewan karena memiliki faktor virulensi yang berlebihan dan saling tumpang tindih seperti adhesin, enzim dan toksin. *S. aureus* menghasilkan beta-laktamase yaitu senyawa yang dapat merusak struktur beta laktam pada penisilin. Oleh karena itu, pengobatan yang digunakan biasanya menggunakan penisilin yang bersifat resisten pada *beta lactamase* (Jorgensen *et al*, 2015; Harris *et al*, 2002).

### II.3 Ekstraksi

Ekstraksi adalah penyarian zat-zat berkhasiat atau zat-zat aktif dari bagian tanaman obat dan hewan untuk menarik komponen kimia yang

didalamnya menggunakan pelarut tertentu. Ekstraksi didasarkan prinsip perpindahan zat aktif yang terlarut pada cairan penyari untuk



keluar dari sel melewati dinding sel ( peristiwa osmosis dan difusi ) (Marjoni, 2016). Secara alamiah, bahan aktif selalu berada bersama-sama dengan senyawa yang lain di dalam jaringan dan sel tanaman. Cara untuk mendapatkan senyawa tersebut adalah dengan teknik ekstraksi. Produk ekstraksi yang dihasilkan dari proses ekstraksi jaringan tanaman dapat berupa cairan yang tidak murni, semisolid atau serbuk.

Jenis-jenis ekstraksi bahan alam yang sering dilakukan adalah ekstraksi secara panas dengan cara refluks dan penyulingan uap air serta ekstraksi secara dingin dengan cara maserasi, perkolasi dan alat soxhlet. (Depkes RI, 1986)

### **II.3.1 Ekstraksi secara panas**

#### **1. Refluks**

Salah satu metode sintesis senyawa anorganik adalah refluks, metode ini digunakan apabila dalam sintesis tersebut menggunakan pelarut yang volatil. Pada kondisi ini jika dilakukan pemanasan biasa maka pelarut akan menguap sebelum reaksi berjalan sampai selesai. Prinsip dari metode refluks adalah pelarut volatil yang digunakan akan menguap pada suhu tinggi, namun akan didinginkan dengan kondensor sehingga pelarut yang tadinya dalam bentuk uap akan mengembun pada kondensor dan turun lagi ke dalam wadah reaksi sehingga pelarut akan tetap ada selama berlangsung (Depkes RI, 1986)



## 2. Destilasi uap

Destilasi uap dapat digunakan untuk menyari serbuk simplisia dengan komponen yang mempunyai titik didih tinggi pada tekanan udara normal. Uap jenuh akan membasahi permukaan bahan, melunakkan jaringan dan menembus kedalam dinding sel (Depkes RI, 1986 ).

### II.3.2 Ekstraksi secara dingin

#### 1. Maserasi

Proses maserasi dilakukan dengan memasukkan 10 bagian simplisia dengan derajat yang cocok kedalam bejana, kemudian dituangi dengan penyari 75 bagian, ditutup dan sambil diaduk sekali-kali dan dibiarkan selama waktu tertentu. Proses maserasi dapat dilakukan secara berulang sampai penyari yang digunakan tidak berwarna lagi (Depkes RI, 1986).

#### 2. Perkolasi

Perkolasi dilakukan dengan cara membasahkan 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok, menggunakan 2,5 bagian sampai 5 bagian cairan penyari. Massa dipindahkan sedikit demi sedikit kedalam perkolator dan dialiri cairan penyari (Depkes RI, 1986).

#### 3. Ekstraksi secara soxhlet



Ekstraksi dengan cara ini pada dasarnya ekstraksi secara  
ambungan dimana cairan penyari diuapkan kemudian

diembunkan oleh pendingin tegak. Cairan penyari akan turun untuk menyari zat aktif dalam simplisia. Setelah cairan penyari mencapai sifon, maka penyari akan turun ke labu dan terjadi proses sirkulasi. Demikian seterusnya sampai zat aktif simplisia tersari seluruhnya (Depkes RI, 1986).

#### II.4 High Pressure Extracttion (HPE)

*High Preasure Extraction* (HPE) merupakan salah satu metode baru untuk mengekstraksi senyawa bioaktif dari bahan alami. Tekanan tinggi dapat merangsang berbagai fenomena (seperti transisi fase dari satu bentuk ke bentuk lainnya, perubahan dinamika reaksi, perubahan struktur molekul, dll.) yang akan menginduksi reaksi secara langsung dan meningkatkan penurunan volume sehingga menghasilkan ekstraksi yang lebih efisien. Karena ukuran kecil molekul bioaktif dari bahan, tekanan tinggi tidak menyebabkan modifikasi apapun di dalamnya (Xi, 2006). Tekanan yang digunakan di HPE berada di kisaran 100-1.000 MPa. Tekanan yang diterapkan pada HPE jauh lebih tinggi daripada teknik ekstraksi lainnya. Oleh karena itu lebih banyak komponen esensial dapat diekstraksi oleh HPE. Sampel yang akan diekstraksi menggunakan HPE harus benar-benar kering, sampel akan diayak hingga diperoleh ukuran partikel kurang dari 3 milimeter dan di campur dengan pelarut yang akan

an. Campuran kemudian di masukkan kedalam sebuah tas dan tekanan tinggi. Hasilnya kemudian mengalami pemisahan dan y. Proses ekstraksi HPE dipengaruhi secara signifikan oleh



berbagai parameter, seperti jenis dan jumlah pelarut, suhu, tekanan, waktu ekstraksi, jumlah siklus, dll. (Chen et al, 2009)

## II.5 Antibiotika

Antibiotika adalah senyawa yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang mampu menghambat pertumbuhan bahkan mematikan mikroorganisme lain. Penemuan penisilin oleh Sir Alexander Fleming merupakan salah satu faktor utama dimulainya keaktifan riset untuk menemukan bahan yang bersifat anti infeksi. Pengembangan yang berspektrum luas mulai pula dilakukan seperti tetrasiklin, kloramfenikol, juga pengisolasian antifungi seperti nistatin griseofulvin. Produksi antibiotika dalam jumlah besar semakin bertambah, yang dapat digunakan untuk mengatasi infeksi oleh bakteri patogen (Djide dan Sartini, 2006).

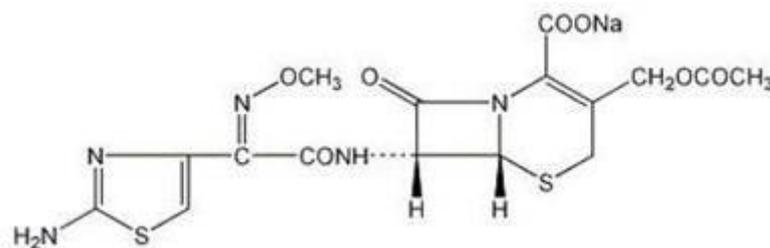
Antibiotika dapat digolongkan berdasarkan tempat kerjanya, spektrum aktivitasnya dan struktur kimianya. Antibiotik berdasarkan struktur kimianya, yaitu : antibiotika beta laktam (turunan penisilin, sefalosporin dan beta laktam non klasik ). turunan amfenikol, turunan tetrasiklin, aminoglikosida, antibiotika makrolida, antibiotika polipeptida, antibiotika linkosamida, antibiotika polien, antibiotika ansamicin dan antibiotika antrasiklin. (Djide dan Sartini, 2006).



Berdasarkan spektrum aktivitasnya, antibiotik digolongkan menjadi (Djide dan Sartini, 2008) ;

1. Antibiotika kerja luas, yaitu antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan dan mematikan bakteri gram positif maupun bakteri gram negatif. Antibiotika yang termasuk golongan ini adalah tetrasiklin dan derivatnya, sefalosporin, carbapenem dan lain-lain.
2. Antibiotika yang hanya aktif terhadap beberapa bakteri saja. Beberapa antibiotika golongan ini adalah penisilin, streptomisin, neomisin, basitrasin

## II.6 Sefotaksim



**Gambar 3.** Struktur senyawa sefotaksim (Sweetman, 2009)

Sefotaksim adalah antibiotik golongan sefalosporin generasi ketiga yang memiliki aktivitas sebagai bakterisida dengan aktivitas spektrum yang lebih luas (Sweetman, 2009). Struktur cincin beta-laktam dari sefalosporin generasi ketiga meniru bagian “D-Ala-D-Ala” dari substrat

*Penicilin Binding Protein (PBP)*. Kebanyakan bakteri memiliki hanya satu PBP, dan mereka adalah target dari berbagai antibiotik



beta-laktam seperti sefalosporin, penisilin, karbapenem, dan monobaktam. Ikatan struktural antibiotik sefalosporin ke bagian aktif PBP di dinding sel bakteri menyebabkan penghambatan aktivitas enzimatisnya dan menyebabkan sintesis peptidoglikan yang rusak; ini menghasilkan ketidakmampuan untuk membangun dinding sel fungsional dan kematian sel bakteri selanjutnya oleh lisis (Sarkar et al, 2017). Sefotaksim aktif secara in vitro terhadap banyak Enterobacteriaceae termasuk *Citrobacter* dan *Enterobacter spp.*, *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, dan *Yersinia spp.* Bakteri gram negative rentan lainnya, termasuk yang resisten terhadap strain penisilin, adalah *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis (Branhamella catarrhalis)*, *Neisseria gonorrhoeae*, dan *N. meningitidis*. Beberapa strain *Pseudomonas spp.* cukup rentan terhadap sefotaksim, tetapi sebagian besar telah resisten.. Di antara bakteri gram positif, sefotaksim aktif terhadap stafilokokus dan streptokokus. *Staphylococcus aureus*, termasuk strain yang memproduksi penisilinase tapi bukan *Staph* yang resisten terhadap metisilin (MRSA). *Streptococcus agalactiae (streptokokus grup B)*, *Str. pneumoniae*, dan *Str. Piogen (streptokokus grup A)* masih sensitif. Enterococci dan *Listeria monocytogenes* resisten. (Sweetmen, 2009).

## II.7 Resistensi antibiotik



penggunaan antibiotika yang beranekaragam mengakibatkan munculnya jenis bakteri yang telah resisten terhadap beberapa antibiotika (Drug Resistance). Bakteri yang resisten terhadap antibiotika

adalah suatu keadaan dimana kehidupan bakteri itu sama sekali tidak terganggu oleh kehadiran antibiotika (Djide dan Sartini, 2006). Terdapat 4 jalur mekanisme resistensi antibiotik, yaitu penurunan permeabilitas terhadap antibiotik, adanya proses enzimatik, modifikasi letak reseptor obat, dan peningkatan sintesis metabolit antagonis terhadap antibiotik (Jorgensen et al, 2015).

Modifikasi biokimia antibiotik oleh enzim bakteri merupakan suatu masalah yang sangat serius dalam pengobatan antibiotik dan kemoterapi. Ada dua tipe mekanisme resistensi untuk golongan penisilin. Satu mekanisme karena terjadinya mutasi kromosom yang menyebabkan ketiadaan beberapa reseptor penisilin. Kedua adalah obat yang digunakan tidak dapat mengaktifasi enzim otolitik pada dinding sel, akibatnya bakteri tidak dapat mati. Sifat toleransi ini telah diamati secara khusus pada *Stafilokokus* dan *Streptokokus* tertentu (Jawetz et al., 2001)

## II.8 Metode Pengujian Antimikroba

Pengujian potensi suatu antibiotika adalah suatu teknik yang digunakan untuk menetapkan potensi suatu antibiotka dengan mengukur efek senyawa tersebut terhadap pertumbuhan mikroorganisme uji yang peka dan sesuai. Efek yang ditimbulkan setelah diuji berupa hambatan pertumbuhan (Djide dan Sartini, 2008). Ada berapa metode untuk

an kerentanan antimikroba, yang dapat dikategorikan menjadi (i)



metode pengenceran yang menghasilkan hasil MIC dan (ii) metode difusi yang menghasilkan hasil diameter zona (Jorgensen et al, 2015).

### **II.8.1 Metode Difusi disk**

Metode difusi disk untuk pengujian dikategorisasi sebagian besar isolat bakteri rentan, sedang, atau resisten terhadap berbagai agen antimikroba. Untuk melakukan pengujian, disk kertas yang berisi konsentrasi tunggal antimikroba diterapkan pada permukaan agar-agar media yang telah diinokulasi dengan organisme uji. Obat dalam cakram berdifusi melalui agar-agar. Sebagai jarak dari disk meningkat, konsentrasi agen antimikroba berkurang secara logaritmik, menciptakan a gradien konsentrasi obat dalam media agar sekitarnya di setiap disk. Bersamaan dengan difusi obat, bakteri yang diinokulasi ke permukaan dan tidak dihambat oleh konsentrasi antimikroba agen dalam agar terus berkembang biak sampai pertumbuhan terlihat. Di daerah di mana konsentrasi obat tersebut penghambatan, tidak ada pertumbuhan terjadi, membentuk zona penghambatan sekitar setiap disk. Prosedur difusi disk telah distandarisasi terutama untuk menguji bakteri umum yang tumbuh dengan cepat (Jorgensen et al, 2015).

### **II.8.2 Metode dilusi**

Metode pengujian dilusi digunakan untuk menentukan konsentrasi biasanya dalam diperlukan mikrogram per mililiter, dari agen oba untuk menghambat atau membunuh mikroorganisme. Agen



antimikroba yang diuji biasanya pada pengenceran serial log<sub>2</sub> (2 kali lipat), dan yang terendah konsentrasi yang menghambat pertumbuhan organisme yang terlihat ditunjuk sebagai KHM. Kisaran konsentrasi yang digunakan mungkin bervariasi dengan obat, organisme yang diuji, dan situs infeksi (misalnya, cairan serebrospinal pada meningitis. Metode dilusi menawarkan fleksibilitas dalam arti bahwa media standar yang digunakan untuk menguji organisme terhadap spesies bakteri tertentu yang mungkin tidak dapat diuji dengan difusi disk (Jorgensen et al, 2015) media yang digunakan dalam pengujian adalah media cair yang diinokulasikan dengan mikroorganisme uji yang sensitif dalam wadah steril. Lalu senyawa antimikroba dipipet dan diinkubasikan. Pertumbuhan mikroorganisme ditandai dengan terjadinya kekeruhan dalam tabung sesuai dengan tingkat pengenceran dari senyawa yang diuji dan antibiotika baku.(Djide dan Sartini, 2008)

Pilihan metode yang akan digunakan di laboratorium individu didasarkan pada faktor-faktor seperti kemudahan dalam pengerjaan, biaya, fleksibilitas dalam pemilihan obat untuk pengujian, ketersediaan perangkat otomatis atau semiotomatis untuk memfasilitasi pengujian, dan akurasi metodologi (Jorgensen, 2015).

