

**PENGARUH CAIRAN PENYARI TERHADAP
AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN
MURBEI (*Morus alba* Linn.)**

**IMANSARI NURUL LAILI
N111 08 324**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2012**

**PENGARUH CAIRAN PENYARI TERHADAP AKTIVITAS ANTIBAKTERI
EKSTRAK DAUN MURBEI (*Morus alba* Linn.)**

SKRIPSI

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



**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2012**

PERSETUJUAN

**PENGARUH CAIRAN PENYARI TERHADAP AKTIVITAS ANTIBAKTERI
EKSTRAK DAUN MURBEI (*Morus alba* Linn.)**

IMANSARI NURUL LAILI

N111 08 324



Dr. Hj. Sartini, M.Si., Apt.
NIP. 1961111 198703 2 001

Dr. Mufidah, S.Si., M.Si., Apt.
NIP. 19730309 199903 2 002

Pada tanggal, 6 Desember 2012

PENGESAHAN

**PENGARUH CAIRAN PENYARI TERHADAP AKTIVITAS ANTIBAKTERI
EKSTRAK DAUN MURBEI (*Morus alba* Linn.)**

Oleh :
IMANSARI NURUL LAILI
N111 08 324

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
Pada Tanggal 6 Desember 2012

Panitia Penguji Skripsi

1. Ketua

Drs. H. Burhanuddin Taebe, M.Si., Apt. :

2. Sekretaris

Usmar, S.Si., M.Si., Apt. :

3. Anggota

Drs. H. Syaharuddin Kasim, M.Si., Apt. :

4. Ex Officio

Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt. :

5. Ex Officio

Dr. Hj. Sartini, M.Si., Apt. :

6. Ex Officio

Dr. Mufidah, S.Si., M.Si., Apt. :

Mengetahui :
Dekan Fakultas Farmasi
Universitas Hasanuddin

Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA, Apt.
NIP. 19560114 198601 2 001

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah 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 bahwa pernyataan saya ini tidak benar, maka skripsi dan gelar yang diperoleh, batal demi hukum.

Makassar, 6 Desember 2012

Penyusun,

IMANSARI NURUL LAILI

UCAPAN TERIMA KASIH

Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Puji dan Syukur penulis haturkan atas kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, atas segala perkenaan-Nya sehingga penulis dapat merampungkan skripsi dengan judul “Pengaruh Cairan Penyari terhadap Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Murbei (*Morus alba* Linn.)”

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini tidak sedikit rintangan dan hambatan yang dihadapi, namun dengan segala doa, usaha dan bantuan dari berbagai pihak, akhirnya penulis dapat melewati kendala-kendala tersebut. Oleh karena itu pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt., Ibu Dr. Hj. Sartini, M.Si., Apt. dan Ibu Dr. Mufidah, S.Si., M.Si. Apt. selaku dosen pembimbing yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan ilmunya dalam memberikan bimbingan, bantuan, dan perhatian mulai dari perencanaan sampai terselesainya skripsi ini.
2. Dekan Fakultas Farmasi dan Ketua Jurusan Farmasi, Universitas Hasanuddin beserta seluruh staf atas segala fasilitas yang diberikan selama penulis menempuh studi hingga menyelesaikan penelitian ini.
3. Kedua orang tuaku yaitu Ayahanda Ir. Mohammad Edi Syuria dan Ibunda Kamerariningsih yang telah memberikan dukungan dan dorongan dengan

penuh kasih sayang baik dalam bentuk material maupun spiritual dalam meraih cita-citaku.

4. Saudara saya Rachmad Firazullah dan Mohammad Fadel Farahad yang senantiasa memberikan semangat dan keceriaan kepada penulis untuk mencapai cita-cita.
5. My best sisters "EF" (Arfiana, Neni Trianah, Nana Juniarti, Rosdiana Nasir, Rizky Fajar Wulan, Resa Alifyanty, Sri Astuti, dan Rahmatun Sahra) yang telah setia menemani selama empat tahun hidup di rantauan orang dan selalu ada untuk mendengarkan keluh kesah penulis. Terima kasih untuk semangat dan segala protes yang kalian berikan hingga skripsi ini bisa rampung.
6. Teman-teman seperjuangan selama penelitian Syamsiah, Irsan, dan Suryadi atas bantuannya selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.
7. My big family "STEROID 08", terima kasih atas persahabatan yang terjalin selama masa-masa perkuliahan hingga saat detik-detik akhir studi.
8. Kak Haslia S.Si. dan Kak Dewi Primayanti selaku Laboran Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Universitas Hasanuddin, serta Arti Setiawati selaku Laboran Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia Farmasi Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Untuk itu segala bentuk kritikan dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan untuk penyempurnaan dimasa yang akan

datang. Dengan segala kerendahan hati semoga tulisan ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Makassar, 6 Desember 2012

Penulis,

Imansari Nurul Laili

ABSTRAK

Telah diuji aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol 30%, etanol 70%, etanol 96%, kloroform dan heksan daun murbei (*Morus alba* Linn.) yang berasal dari tiga daerah berbeda terhadap *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*. Penelitian ini dilakukan untuk menentukan cairan penyari yang dapat memberikan nilai hambat minimum terendah dari ekstrak daun murbei terhadap *E. coli* dan *B. subtilis*. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ditentukan dengan metode dilusi cair. KHM menurun seiring dengan menurunnya tingkat kepolaran penyari terhadap kedua jenis bakteri untuk semua daun murbei dari tiga daerah yang berbeda. Ekstrak etanol 30% tidak menunjukkan daya hambat terhadap kedua bakteri. Ekstrak heksan menunjukkan KHM terkecil yaitu 2,08 mg/ml terhadap *E. coli* dan 2,60 mg/ml terhadap *B. subtilis*.

ABSTRACT

The antibacterial activity of 30% ethanolic, 70% ethanolic, 96% ethanolic, chloroform, and hexane extract of leaves of mulberry (*Morus alba* Linn.) that collected from three different areas were tested against *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. This study aims to determine the solvents that can provide the lowest value of minimum inhibitory mulberry leaf extract against *E. coli* and *B. subtilis*. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) were determined by broth dilution method. MIC decreased as the decrease levels of solvent polarity for all the microbes tested by all mulberry leaves from three different areas. 30% ethanolic extracts did not show the inhibition against both bacteria. The lowest MIC against *E. coli* and *B. subtilis* was showed at 2.08 mg/ml and 2.60 mg/ml by hexane extracts.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	ii
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vi
ABSTRAK.....	ix
ABSTRACT.....	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xviii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
II.1 Uraian Tanaman Daun Murbei (<i>Morus alba Linn.</i>).....	4
II.1.1 Klasifikasi.....	4
II.1.2 Nama Lain.....	4
II.1.3 Morfologi.....	4
II.1.4 Kandungan Kimia.....	5
II.1.5 Khasiat.....	6
II.2 Ekstrak dan Ekstraksi.....	7
II.2.1 Maserasi.....	7
II.2.2 Infundasi.....	10
II.2.3 Perkolasi.....	12
II.2.4 Soxhletasi.....	13

II.2.5 Reflux.....	13
II.2.6 Metode Destilasi.....	14
II.3 Standardisasi.....	14
II.4 Antibakteri.....	15
II.5 Bakteri Uji.....	17
II.6 Uji Kadar Hambat Minimum.....	19
BAB III. PELAKSANAAN PENELITIAN.....	20
III.1 Alat dan Bahan.....	20
III.2 Pengambilan dan Penyiapan Sampel Penelitian.....	20
III.3 Ekstraksi Serbuk Simplisia.....	21
III.3.1 Maserasi Serbuk Simplisia dengan Pelarut Etanol 30%.....	21
III.3.2 Maserasi Serbuk Simplisia dengan Pelarut Etanol 70%.....	21
III.3.3 Maserasi Serbuk Simplisia dengan Pelarut Etanol 96%.....	21
III.3.4 Maserasi Serbuk Simplisia dengan Pelarut Kloroform.....	22
III.3.5 Maserasi Serbuk Simplisia dengan Pelarut Hexan.....	22
III.4 Penyiapan Mikrobiologi.....	22
III.4.1 Sterilisasi alat.....	22
III.4.2 Penyiapan Bakteri Uji.	23
III.5 Penetapan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak.....	23
III.5.1 Penyiapan Sediaan Stok	23
III.5.2 Uji KHM terhadap Bakteri Uji.....	23
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	25

IV.1 Hasil Penelitian.....	25
IV.2 Pembahasan.....	26
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	32
V.1 Kesimpulan.....	32
V.2 Saran.....	32
DAFTAR PUSTAKA.....	33
LAMPIRAN.....	35

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Bobot dan rendamen berbagai ekstrak daun murbei.....	25
2. Hasil uji Kadar Hambat Minimum (KHM) berbagai ekstrak daun murbei (<i>Morus alba</i>) yang berasal dari Gowa, Soppeng, dan Wajo terhadap pertumbuhan <i>Escherichia coli</i> (mg/ml).....	26
3. Hasil uji Kadar Hambat Minimum (KHM) berbagai ekstrak daun murbei (<i>Morus alba</i>) yang berasal dari Gowa, Soppeng, dan Wajo terhadap pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i> (mg/ml).....	26

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Grafik nilai rendamen berbagai ekstrak daun murbei yang berasal dari Gowa, Soppeng, dan Wajo.....	27
2. Grafik Kadar Hambat Minimum (KHM) berbagai ekstrak daun murbei (<i>Morus alba</i>) yang berasal dari Gowa, Soppeng, dan Wajo terhadap pertumbuhan <i>Escherichia coli</i> (mg/ml).....	29
3. Grafik Kadar Hambat Minimum (KHM) berbagai ekstrak daun murbei (<i>Morus alba</i>) yang berasal dari Gowa, Soppeng, dan Wajo terhadap pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i> (mg/ml).....	30
4a. Uji KHM dan hasil gores ekstrak etanol 30% asal Gowa terhadap <i>B. subtilis</i>	37
4b. Uji KHM dan hasil gores ekstrak etanol 30% asal Gowa terhadap <i>E.coli</i>	37
4c. Uji KHM dan hasil gores ekstrak etanol 30% asal Soppeng terhadap <i>B. subtilis</i>	37
4d. Uji KHM dan hasil gores ekstrak etanol 30% asal Soppeng terhadap <i>E.coli</i>	38
4e. Uji KHM dan hasil gores ekstrak etanol 30% asal Wajo terhadap <i>B. subtilis</i>	38
4f. Uji KHM dan hasil gores ekstrak etanol 30% asal Wajo terhadap <i>E.coli</i>	38
5a. Uji KHM dan hasil gores ekstrak air asal Soppeng terhadap <i>E.coli</i>	39
5b. Uji KHM dan hasil gores ekstrak etanol 70% asal Gowa terhadap <i>E.coli</i>	39
5c. Uji KHM dan hasil gores ekstrak etanol 70% asal Soppeng terhadap <i>B. subtilis</i>	39

5d. Uji KHM dan hasil gores ekstrak etanol 70% asal Soppeng terhadap <i>E.coli</i>	40
5e. Uji KHM dan hasil gores ekstrak etanol 70% asal Wajo terhadap <i>B. subtilis</i>	40
5f. Uji KHM dan hasil gores ekstrak etanol 70% asal Wajo terhadap <i>E.coli</i>	40
6a. Uji KHM dan hasil gores ekstrak etanol 96% asal Gowa terhadap <i>B. subtilis</i>	41
6b. Uji KHM dan hasil gores ekstrak etanol 96% asal Gowa terhadap <i>E.coli</i>	41
6c. Uji KHM dan hasil gores ekstrak etanol 96% asal Soppeng terhadap <i>B. subtilis</i>	41
6d. Uji KHM dan hasil gores ekstrak etanol 96% asal Soppeng terhadap <i>E.coli</i>	42
6e. Uji KHM dan hasil gores ekstrak etanol 96% asal Wajo terhadap <i>B. subtilis</i>	42
6f. Uji KHM dan hasil gores ekstrak etanol 96% asal Wajo terhadap <i>E.coli</i>	42
7a. Uji KHM dan hasil gores ekstrak kloroform asal Gowa terhadap <i>B. subtilis</i>	43
7b. Uji KHM dan hasil gores ekstrak kloroform asal Gowa terhadap <i>E.coli</i>	43
7c. Uji KHM dan hasil gores ekstrak kloroform asal Soppeng terhadap <i>B. subtilis</i>	43
7d. Uji KHM dan hasil gores ekstrak kloroform asal Soppeng terhadap <i>E.coli</i>	44
7e. Uji KHM dan hasil gores ekstrak kloroform asal Wajo terhadap <i>B. subtilis</i>	44
7f. Uji KHM dan hasil gores ekstrak kloroform asal Wajo terhadap <i>E.coli</i>	44

8a. Uji KHM dan hasil gores ekstrak heksan asal Gowa terhadap <i>B. subtilis</i>	45
8b. Uji KHM dan hasil gores ekstrak heksan asal Gowa terhadap <i>E.coli</i>	45
8c. Uji KHM dan hasil gores ekstrak heksan asal Soppeng terhadap <i>B. subtilis</i>	45
8d. Uji KHM dan hasil gores ekstrak heksan asal Soppeng terhadap <i>E.coli</i>	46
8e. Uji KHM dan hasil gores ekstrak heksan asal Wajo terhadap <i>B. subtilis</i>	46
8f. Uji KHM dan hasil gores ekstrak heksan asal Wajo terhadap <i>E.coli</i>	46
9a. DMSO+NB+ <i>E.coli</i> sebelum inkubasi.....	47
9b. DMSO+NB+ <i>E.coli</i> setelah inkubasi.....	47
10a. DMSO+NB+ <i>B.subtilis</i> sebelum inkubasi	47
10b. DMSO+NB+ <i>B.subtilis</i> setelah inkubasi.....	47

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja Penelitian.....	35
2. Skema Kerja Uji Konsentrasi Hambat Minimum.....	36
3. Foto Hasil Uji KHM Berbagai Ekstrak Daun Murbei (<i>Morus alba</i>)	40
4. Foto Pengaruh DMSO terhadap Pertumbuhan Bakteri Uji	47

BAB I

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah dalam bidang kesehatan dari waktu ke waktu dan terus berkembang. Pengobatan infeksi yang paling umum dilakukan adalah dengan terapi antibiotik. Penggunaan antibiotik secara besar-besaran adalah faktor utama terjadinya resistensi (1). Situasi ini mendorong para ilmuwan untuk mengembangkan senyawa antibakteri baru yang berasal dari tumbuhan. Salah satu tumbuhan yang memiliki efek sebagai antibakteri adalah murbei.

Murbei (*Morus alba* Linn.) merupakan agen terapeutik yang bersifat non-toksik dan berasal dari keluarga *Moraceae*. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa murbei memiliki efek neuroproteksi, perlindungan hati dan ginjal, hipotensi, antibatuk dan analgesik. Selain itu, murbei menunjukkan efek antiviral dan antimikrobal (2). Daun murbei memiliki kandungan flavonoid seperti apigenin (42,7 mg/g) dan kuersetin (40,0 mg/g). Flavonoid, kuwanon-G, yang diisolasi dari kulit akar murbei memperlihatkan aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* (3). *Total Soluble Protein* (TSP) dari daun murbei memiliki Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) terhadap *Escherichia coli* sebesar 25 µl, sedangkan terhadap *Bacillus subtilis* sebesar 50 µl (4). Sedangkan nilai KHM ekstrak daun murbei sendiri belum pernah dilaporkan. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak heksan, kloroform, dan etanol dari daun murbei memiliki kandungan karbohidrat, tannin, alkaloid, sterol, flavonoid, dan glikosida (5).

Publikasi mengenai jenis pelarut untuk ekstraksi daun murbei sebagai zat penghambat pertumbuhan bakteri belum ditemukan. Hubungan antara jumlah ekstrak dan aktivitas ekstrak belum banyak dijelaskan. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan variasi jenis pelarut dari yang bersifat nonpolar hingga yang bersifat polar

untuk menentukan jenis pelarut yang memberikan aktivitas antibakteri ekstrak daun murbei tertinggi. Pemilihan pelarut heksan yang bersifat nonpolar diharapkan dapat melarutkan senyawa aktif yang bersifat nonpolar, pelarut etanol yang bersifat semipolar diharapkan dapat melarutkan senyawa aktif yang bersifat polar dan nonpolar, dan air yang bersifat polar diharapkan dapat melarutkan senyawa aktif yang juga bersifat polar.

Dewasa ini, penggunaan ekstrak tanaman sebagai obat tradisional maupun diolah menjadi produk kesehatan telah mengalami kemajuan pesat karena didukung oleh adanya sifat bakteristatik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri tertentu (6). Dalam pembuatan ekstrak, seringkali terdapat perbedaan antara pembuatan betas ekstrak yang satu (satu waktu pembuatan) dengan betas yang lain (waktu pembuatan yang lain). Hal ini dapat menyebabkan karakteristik ekstrak yang berbeda sehingga memungkinkan khasiat ekstrak berbeda pula, akibatnya produk menjadi tidak memiliki standar kualitas. Terpenuhinya standar mutu ekstrak tidak terlepas dari pengendalian proses, artinya proses yang terstandar dapat menjamin produk terstandar. Salah satu proses tersebut adalah pemilihan pelarut yang tepat untuk menarik senyawa aktif yang menjadi syarat mutu ekstrak yang diproduksi (7).

Penelitian ini dilakukan terhadap tanaman murbei yang tumbuh pada tiga tempat yang berbeda, yaitu Gowa, Soppeng dan Wajo sehingga dapat ditentukan standarisasi berdasarkan efek antibakteri ekstrak tanaman tersebut. Ekstrak daun murbei diperoleh melalui proses infundasi dan maserasi, kemudian ditentukan kadar hambatnya terhadap *E.coli* dan *B. subtilis* dengan metode dilusi cair.

Tujuan penelitian ini untuk menentukan cairan penyari yang dapat memberikan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) terkecil terhadap *E.coli* dan *B. subtilis*, menuju

ekstrak yang terstandar yang dapat menjamin keberulangnya dalam pengembangan obat tradisional.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Uraian Tanaman Daun Murbei (*Morus alba* Linn.)

II.1.1 Klasifikasi

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Super divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Dilleniidae
Ordo	: Urticales
Famili	: Moraceae
Genus	: <i>Morus</i>
Spesies	: <i>Morus alba</i> Linn. (8)

II.1.2 Nama Lain

Tanaman *Morus alba* L. dikenal di pulau Jawa dengan nama murbei dan besaran, di pulau Sumatera dikenal dengan kerta dan kita, di pulau Kalimantan dikenal dengan nama kitan (Lampung), di pulau Sulawesi dengan nama bassara (Makasar) dan papanre ule (Bugis) (8).

II.1.3 Morfologi

Tumbuh baik pada ketinggian lebih dari 100 m dpl. dan memerlukan cukup sinar matahari. Tumbuhan yang sudah dibudidayakan ini menyukai daerah-daerah yang cukup basah seperti di lereng gunung dan pada tanah yang berdrainase baik. Kadang ditemukan tumbuh liar. Pohon, tinggi sekitar 9 m, percabangan banyak, cabang muda berambut halus. Daun tunggal, letak berseling, bertangkai yang panjangnya 4 cm. Helai daun bulat telur sampai berbentuk jantung, ujung runcing, pangkal tumpul, tepi bergerigi, pertulangan menyirip agak menonjol, permukaan atas dan bawah kasar, panjang 2,5 – 20 cm, lebar 1,5 – 12 cm, warnanya hijau. Bunga majemuk bentuk tandan, keluar dari ketiak daun, mahkota bentuk taju, warnanya putih. Dalam satu pohon terdapat bunga jantan, bunga betina, dan bunga sempurna yang terpisah. Murbei berbunga sepanjang tahun. Buahnya banyak berupa buah buni, berair, dan rasanya enak. Biji kecil, warna hitam. Tumbuhan ini dibudidayakan karena daunnya digunakan untuk makanan ulat sutera. Daun muda enak disayur dan berkhasiat sebagai pembersih darah bagi orang yang sering bisulan. Perbanyakkan dengan setek dan okulasi (8).

II.1.4 Kandungan Kimia

1. Daun

Daun mengandung isoquercitrin, astragalin, scopolin, skimmin, roseoside II, linolenyl alkohol, protein larut total dan benzyl D-glukopiranoside (4, 9,11) .

2. Ranting

Ranting mengandung tanin dan vitamin A (8).

3. Buah

Buah mengandung cyanidin, isoquercetin, sakarida, asam linoleat, asam stearat, asam oleat, dan vitamin (karoten, B1, B2 dan C) (8).

4. Kulit batang

Kulit batang mengandung triterpenoids : α , β - amyrin, sitosterol, sitosterol- α - glucoside. Flavanoids : morusin, cyclomorusin, kuwanone A, B, C, oxydihyromorusin. Coumarins : umbelliferone dan scopoletin (8).

5. Kulit akar

Kulit akar mengandung derivat flavone mulberrin, mulberro chromene, cyclomulberrin, cyclomulberrochromene, morussin, dan mulberofuran A (8).

6. Biji

Biji mengandung urease (8).

II.1.5 Khasiat

Murbei (*Morus alba* L.) banyak dimanfaatkan untuk pengobatan demam, flu, malaria, batuk, rematik, darah tinggi (hipertensi), kencing manis (diabetes melitus), kaki gajah (elephantiasis), radang mata merah (conjunctivitis acute), memperbanyak ASI, keringat malam, muntah darah, batuk darah, batuk berdahak, kolesterol tinggi (hiperkolesterolemia), tidak datang haid, gangguan saluran cerna, sesak napas (asma), cacingan, muka bengkak (edema), sukar kencing (disuria), neurastenia, jantung berdebar (palpitasi), rasa haus dan mulut kering, sukar tidur (insomnia), telinga berdenging (tinnitus), sembelit, tuli, vertigo,

hepatitis, kurang darah (anemia), rambut beruban, sakit kepala, sakit tenggorokan, sakit gigi, sakit pinggang (lumbago), dan menyuburkan pertumbuhan rambut (8).

Penelitian terbaru menyatakan daun murbei memiliki aktifitas anti radikal bebas, hipolipidemik, antioksidan, antibakteri, antivirus, emolien, dan anti inflamasi (10) .

II.2 Ekstrak dan Ekstraksi (11,12)

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau 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.

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan zat yang dapat larut dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Ekstraksi adalah sediaan kering, kental, atau cair dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok, diluar pengaruh sinar matahari langsung.

Proses ekstraksi dapat dilakukan secara panas dan secara kering. Ekstraksi secara panas yaitu dengan metode refluks, infusa dekokta dan destilasi uap air, sedangkan ekstraksi dingin yaitu dengan maserasi, perkolasi dan soxhletasi.

III.2.1 Maserasi

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel.

Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari, tidak mengandung benzoin, stirok dan lain-lain.

Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Kerugian cara maserasi adalah pengerjaannya lama dan penyariannya kurang sempurna.

Maserasi umumnya dilakukan dengan cara : memasukkan simplisia yang sudah diserbukkan dengan derajat halus tertentu sebanyak 10 bagian ke dalam bejana maserasi yang dilengkapi pengaduk mekanik, kemudian ditambahkan 75 bagian cairan penyari ditutup dan dibiarkan selama 5 hari pada temperatur kamar terlindung dari cahaya sambil berulang-ulang diaduk. Setelah 5 hari, disaring kedalam dalam bejana penampung, kemudian ampasnya diperas dan ditambah cairan penyari lagi secukupnya dan diaduk kemudian disaring lagi hingga diperoleh sari 100 bagian. Sari yang diperoleh ditutup dan disimpan pada

tempat yang terlindung dari cahaya selama dua hari, endapan yang terbentuk dipisahkan dan filtratnya dipekatkan.

Maserasi dapat dilakukan modifikasi misalnya:

1. Digesti

Digesti adalah maserasi dengan menggunakan pemanasan lemah, yaitu pada suhu 40°-50°C. Cara maserasi ini hanya dapat dilakukan untuk simplisia yang zat aktifnya tahan terhadap pemanasan.

Dengan pemanasan akan diperoleh keuntungan antara lain:

- a. Kekentalan pelarut berkurang, yang dapat mengakibatkan berkurangnya lapisan-lapisan batas.
- b. Daya melarutkan cairan penyari akan meningkat, sehingga pemanasan tersebut mempunyai pengaruh yang sama dengan pengadukan.
- c. Koefisien difusi berbanding lurus dengan suhu absolut dan berbanding terbalik dengan kekentalan, hingga kenaikan suhu akan berpengaruh pada kecepatan difusi. Umumnya kelarutan zat aktif akan meningkat bila suhu dinaikkan.

Jika cairan penyari mudah menguap pada suhu yang digunakan, maka perlu dilengkapi dengan pendingin balik, sehingga cairan penyari yang menguap akan kembali ke dalam bejana.

2. Maserasi dengan mesin pengaduk

Penggunaan mesin pengaduk yang berputar terus menerus, waktu proses maserasi dapat dipersingkat menjadi 6 sampai 24 jam.

3. Remaserasi

Cairan penyari dibagi 2. Seluruh serbuk simplisia dimaserasi dengan cairan penyari pertama, sesudah diendapkan dan diperas, ampas dimaserasi lagi dengan cairan penyari yang ke dua.

4. Maserasi melingkar

Maserasi dapat diperbaiki dengan mengusahakan agar cairan penyari selalu bergerak dan menyebar. Dengan cara ini penyari selalu mengalir kembali secara berkesinambungan melalui serbuk simplisia dan melarutkan zat aktifnya. Cairan penyari dipompa dari bawah bejana penyari melalui pipa penghubung, masuk ke bejana penyari. Cairan penyari oleh alat penyembur disemurkan ke permukaan serbuk simplisia. Dengan cara ini diharapkan cairan penyari akan membasahi seluruh butir serbuk yang disari. Cairan penyari akan turun ke bawah sambil melarutkan zat aktifnya. Saringan berfungsi untuk menghalangi serbuk simplisia turun ke bawah. Cairan penyari kemudian dipompa kembali ke bejana penyari. Proses tersebut dilakukan berulang-ulang, sehingga cairan penyari jenuh terhadap zat aktif.

5. Maserasi melingkar bertingkat

Pada maserasi melingkar penyarian tidak dapat dilaksanakan secara sempurna, karena pemindahan massa akan berhenti bila keseimbangan telah terjadi. Masalah ini dapat diatasi dengan maserasi melingkar bertingkat.

II.2.2 Infundasi

Infus adalah sediaan cair yang dibuat dengan menyari simplisia dengan air pada suhu 90°C selama 15 menit.

Infundasi adalah proses penyarian yang umumnya digunakan untuk menyari zat kandungan aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Penyarian dengan cara ini menghasilkan sari yang tidak stabil dan mudah tercemar oleh kuman dan kapang. Oleh sebab itu sari yang diperoleh dengan cara ini tidak boleh disimpan lebih dari 24 jam.

Cara ini sangat sederhana dan sering digunakan oleh perusahaan obat tradisional. Dengan beberapa modifikasi, cara ini sering digunakan untuk membuat ekstrak.

Infus dibuat dengan cara:

1. Membasahi bahan bakunya, biasanya dengan air 2 kali bobot bahan, untuk bunga 4 kali bobot bahan dan untuk karagen 10 kali bobot bahan.
2. Bahan baku ditambah dengan air dan dipanaskan selama 15 menit pada suhu 90°-98°C. Umumnya untuk 100 bagian sari diperlukan 10 bagian bahan.

Pada simplisia tertentu tidak diambil 10 bagian. Hal ini disebabkan karena:

- a. Kandungan simplisia kelarutannya terbatas, misalnya kulit kina digunakan 6 bagian.

- b. Disesuaikan dengan cara penggunaannya dalam pengobatan, misalnya daun kumis kucing, sekali minum infus 100 cc, karena itu diambil setengah bagian.
 - c. Berlendir, misalnya karagen digunak satu setengah bagian.
 - d. Daya kerjanya keras, misalnya digitalis digunakan setengah bagian.
3. Untuk memindahkan penyarian kadang-kadang perlu ditambah bahan kimia misalnya:
- a. Asam sitrat untuk infus kina.
 - b. Kalium atau Natrium karbonat untuk infus kelembak.
4. Penyaringan dilakukan pada saat cairan masih panas, kecuali bahan yang mengandung bahan yang mudah menguap.

II.2.3 Perkolasi

Perkolasi adalah cara penyarian yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Kekuatan yang berperan pada perkolasi antara lain : gaya berat, kekentalan, daya larut, tegangan permukaan, difusi, osmosa, adesi, daya kapiler dan daya gesekan (friksi).

Alat yang digunakan untuk perkolasi disebut perkolator, cairan yang digunakan untuk menyari disebut cairan penyari atau menstrum, larutan zat aktif yang keluar dari perkolator disebut sari /perkolat, sedang sisa setelah dilakukannya penyarian disebut ampas atau sisa perkolasi.

II.2.4 Soxhletasi

Soxhletasi merupakan penyarian simplisia secara berkesinambungan, cairan penyari dipanaskan hingga menguap, uap cairan penyari terkondensasi menjadi molekul cairan oleh pendingin balik dan turun menyari simplisia di dalam klonsong dan selanjutnya masuk kebalik ke dalam labu alas bulat setelah melewati pipa siphon, proses ini berlangsung hingga proses penyarian zat aktif sempurna yang ditandai dengan beningnya cairan penyari.

II.2.5 Reflux

Metode refluks merupakan metode berkesinambungan dimana cairan penyari secara kontinu akan menyari zat aktif di dalam simplisia. Cairan penyari dipanaskan sehingga menguap dan uap tersebut dikondensasikan oleh pendingin balik, sehingga mengalami kondensasi menjadi molekul-molekul cairan dan jatuh kembali ke dalam labu alas bulat sambil menyari simplisia, proses ini berlangsung secara berkesinambungan dan dilakukan 3 kali dalam waktu 4 jam.

Keuntungan metode refluks:

- Cairan penyari yang diperlukan lebih sedikit dan secara langsung diperoleh hasil yang lebih pekat.
- Serbuk simplisia disari oleh cairan penyari yang murni, sehingga dapat menyari zat aktif lebih banyak.

Simplisia yang biasa diekstraksi dengan cara ini adalah simplisia yang mempunyai komponen kimia yang tahan terhadap pemanasan dan mempunyai tekstur yang keras seperti akar, batang, buah/biji dan herba.

II.2.6 Metode Destilasi

Destilasi atau penyulingan adalah suatu metode pemisahan bahan kimia berdasarkan perbedaan kecepatan atau kemudahan menguap (volatilitas) bahan. Dalam penyulingan, campuran zat dididihkan sehingga menguap, dan uap ini kemudian didinginkan kembali ke dalam bentuk cairan. Zat yang memiliki titik didih lebih rendah akan menguap lebih dulu. Jadi ada perbedaan komposisi antara fase cair dan fase uap, dan hal ini merupakan syarat utama supaya pemisahan dengan distilasi dapat dilakukan.

II.3 Standardisasi (13)

Standardisasi bahan obat alam adalah serangkaian proses melibatkan berbagai metode analisis kimiawi berdasarkan data farmakologis, melibatkan analisis fisik dan mikrobiologi berdasarkan kriteria umum keamanan (toksikologi) terhadap suatu ekstrak alam (tumbuhan obat).

Standardisasi obat herbal meliputi dua aspek :

- a. Aspek parameter spesifik, yakni berfokus pada senyawa atau golongan senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitas farmakologis.

Parameter ini meliputi deskripsi tata nama, senyawa identitas, parameter

organoleptik ekstrak, parameter senyawa terlarut dalam pelarut tertentu, dan uji kandungan kimiawi ekstrak.

- b. Aspek parameter non spesifik, yakni berfokus pada aspek kimia, mikrobiologi, dan fisis yang akan mempengaruhi keamanan konsumen dan stabilitas misalnya kadar logam berat, aflatoxin, kadar air, dan lain-lain.

II.4 Antibakteri

Antibakteri merupakan bahan atau senyawa yang khusus digunakan untuk kelompok bakteri. Antibakteri dapat dibedakan berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu antibakteri yang menghambat pertumbuhan dinding sel, antibakteri yang mengakibatkan perubahan permeabilitas membran sel atau menghambat pengangkutan aktif melalui membran sel, antibakteri yang menghambat sintesis protein, dan antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat sel. Aktivitas antibakteri dibagi menjadi dua macam yaitu aktivitas bakteriostatik (menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh patogen) dan aktivitas bakterisidal (dapat membunuh patogen dalam kisaran luas) (14).

Penentuan aktivitas antibakteri secara *in vitro* dapat dikelompokkan dalam dua metode, yaitu (4) :

1. Metode turbidimetri (metode tabung)

Pada cara turbidimetri, digunakan medium cair dalam tabung reaksi. Pengamatan dengan melihat kekeruhan yang terjadi akibat pertumbuhan bakteri. Kadar antibakteri ditentukan dengan menggunakan spektrofotometer.

Kelebihan cara ini adalah lebih cepat dari cara difusi agar karena hasil dapat dibaca setelah 3 atau 4 jam setelah inkubasi.

2. Metode difusi (metode lempeng)

Pada cara difusi agar digunakan media agar padat dan reservoir yang dapat berupa cakram kertas, silinder atau cekungan yang dibuat pada media padat. Larutan uji akan berdifusi dari pencadang ke permukaan media agar padat yang telah diinokulasi bakteri. Bakteri akan terhambat pertumbuhannya dengan pengamatan berupa lingkaran atau zona disekeliling pencadang. Faktor-faktor yang mempengaruhi metode difusi agar, yaitu :

- a) Pradifusi, perbedaan waktu pradifusi mempengaruhi jarak difusi dari zat uji yaitu difusi antar pencadang.
- b) Ketebalan medium agar adalah penting untuk memperoleh sensitivitas yang optimal. Perbedaan ketebalan media agar mempengaruhi difusi dari zat uji ke dalam agar, sehingga akan mempengaruhi diameter hambatan. Makin tebal media yang digunakan akan makin kecil diameter hambatan yang terjadi.
- c) Kerapatan inokulum, ukuran inokulum merupakan faktor terpenting yang mempengaruhi lebar daerah hambatan, jumlah inokulum yang lebih sedikit menyebabkan obat dapat berdifusi lebih jauh, sehingga daerah yang dihasilkan lebih besar, sedangkan jika jumlah inokulum lebih besar maka akan dihasilkan daerah hambatan yang kecil.

- d) Komposisi media agar, perubahan komposisi media dapat merubah sifat media sehingga jarak difusi berubah. Media agar berpengaruh terhadap ukuran daerah hambat dalam hal mempengaruhi aktivitas beberapa bakteri, mempengaruhi kecepatan difusi antibakteri dan mempengaruhi kecepatan pertumbuhan antibakteri.
- e) Suhu inkubasi, kebanyakan bakteri tumbuh baik pada suhu 37°C.
- f) Waktu inkubasi disesuaikan dengan pertumbuhan bakteri, karena luas daerah hambat ditentukan beberapa jam pertama, setelah diinokulasikan pada media agar, maka daerah hambat dapat diamati segera setelah adanya pertumbuhan bakteri.
- g) Pengaruh pH, adanya perbedaan pH media yang digunakan dapat menyebabkan perbedaan jumlah zat uji yang berdifusi, pH juga menentukan jumlah molekul zat uji yang mengion. Selain itu pH berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri (15).

II.5 Bakteri Uji

Bakteri merupakan mikroorganisme yang bersifat uniseluler yang termasuk kelas schizomycetes. Sifat-sifat bakteri yang dapat dicatat antara lain : ada yang hidup bebas, parasit, saprofit atau sebagai patogen pada manusia, hewan dan tumbuh-tumbuhan, beberapa diantaranya bersifat fotosintetik (16).

1. *Bacillus subtilis*

a. Klasifikasi (17)

Divisi : Firmicutes

Kelas : Bacilli

Bangsa : Eubacteriales

Suku : Bacillaceae

Marga : *Bacillus*

Jenis : *Bacillus subtilis*

b. Sifat dan Morfologi (17,18)

Bacillus subtilis memiliki sel berbentuk batang 0,3-2,2 μm x 1,27-7,0 μm , sebagian besar motil; flagelum khas lateral. Membentuk endospora; tidak lebih satu sel sporangium. Termasuk bakteri Gram-positif, bersifat kemoorganotrof. Metabolisme dengan respirasi sejati, fermentasi sejati, atau kedua-duanya, yaitu respirasi dan fermentasi. Aerobik sejati atau anaerobik fakultatif.

2. *Escherichia coli*

a. Klasifikasi (17)

Divisi : Protophyta

Kelas : Shizomycetes

Bangsa : Enterobacteriales

Suku : Enterobacteriaceae

Marga : *Escherichia*

Jenis : *Escherichia coli*

b. Sifat dan Morfologi (17,18,19)

Berbentuk batang lurus, berukuran 1,1-1,5 x 2,0-6,0 μm , terdapat dalam bentuk berpasangan atau tunggal, sel-selnya peritrik (flagella secara merata tersebar di seluruh permukaan sel) atau non motil, Gram negatif, fakultatif anaerobik dan kemoorganotropik. Memiliki metabolisme tipe fermentatif dan respirasi. Suhu optimum 37°C. D-glukosa dan karbohidrat lainnya dikatabolis dengan membentuk asam dan gas. Mengandung enterotoksin dan faktor-faktor virulen lainnya termasuk faktor-faktor perpindahan dan faktor kolonisasi.

II.6 Uji Kadar Hambat Minimum

Kadar Hambat Minimum (KHM) menentukan uji aktivitas antimikroba dari suatu material terhadap bakteri tertentu. Metode yang sering digunakan adalah metode pengenceran dalam tabung dan metode pengenceran dengan penambahan agar. Sampel produk yang akan diuji dibuat dengan metode pengenceran dalam beberapa konsentrasi.

Uji dilusi tabung adalah metode standar untuk menentukan tingkat ketahanan mikroba terhadap pengenceran antimikroba. Metode ini dibuat dalam media pertumbuhan cair yang diinokulasi dengan sejumlah standar organisme dan inkubasi untuk waktu yang ditentukan. Konsentrasi terendah (pengenceran tertinggi) dari agen uji mencegah munculnya kekeruhan (pertumbuhan) dianggap KHM (20).