

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Umum Tanaman Gamal

2.1.1 Klasifikasi



Gambar 2.1 (a) Tanaman Gamal (b) Daun Gamal (Elevitch and John, 2006)

Dalam taksonomi, tumbuhan ini diklasifikasikan sebagai berikut :

- Kerajaan : Plantae
- Divisi : Magnoliophyta
- Kelas : Magnoliophyta
- Ordo : Fabales
- Famili : Fabaceae/Leguminosa/Papilionoideae
- Upafamili : Faboideae
- Genus : *Gliricidia*
- Spesies : *Gliricidia sepium*

2.1.2 Deskripsi

Gamal berasal dari wilayah kawasan Pantai Pasifik Amerika Tengah yang bermusim kering. Habitat asli gamal adalah hutan gugur daun tropika, dapat tumbuh mulai dari dataran rendah hingga ketinggian tempat 1.300 meter di atas permukaan laut, beradaptasi pada beberapa jenis tanah, termasuk jenis tanah yang

kurang subur, tahan kering, juga tahan asam. Gamal merupakan tanaman yang cocok untuk tanah asam dan marginal. Batang gamal berukuran kecil hingga sedang, tingginya dapat mencapai 10-12 meter, sering bercabang dari dasar dengan diameter basal mencapai 50-70 cm. Kulit batang halus dengan warna bervariasi, dari putih abu-abu hingga kemerah tua-coklat (Winata, 2012).

Batang dan cabang-cabang pada umumnya ada bercak putih kecil. Daun gamal menyirip ganjil, biasanya perpasangan sepanjang sekitar 30 cm melebar 5-20 cm, helai daun berbentuk ovale atau elips, panjang daun 2-7 cm dan lebar daun 1-3 cm. Helai daun, pelepah dan tulang belakang kadang-kadang bergaris-garis merah. Bunga berwarna merah muda keungulan, sedikit warna putih, biasanya dengan titik kuning pucat menyebar di dasar kelopak. Dasar kelopak bunga bulat dan hampir tegak, dengan ukuran sekitar 20 mm, panjang kelopak bunga 15-20 mm dan lebarnya 4-7 mm. Polong muda berwarna hijau kemerahan-unguan, berwarna kuning-cokelat setelah masak dan berwarna kuning coklat muda sampai coklat bila sudah tua. Polong berbentuk pipih hampir bulat, panjang polong 10-18 cm, lebarnya 2 cm, jumlah biji 4-10 (Winata, 2012).

2.1.3 Kandungan Senyawa Kimia

Berdasarkan hasil uji skrining fitokimia yang dilakukan oleh Lumowa (2017), dapat diketahui bahwa daun gamal mengandung senyawa kimia *steroid/terpenoid*, *tanin/polifenol*, dan *saponin*. Hasil uji skrining fitokimia ini memperlihatkan hasil yang sama dengan uji skrining fitokimia yang dilakukan oleh Martin *et al.*, (2012), dimana kandungan senyawa kimia yang terdapat pada ekstrak daun gamal yaitu *steroid*, *tanin/polifenol* dan *saponin*. Sementara itu, terdapat perbedaan hasil uji skrining fitokimia daun buah gamal yang dilakukan

oleh Suwastika *et al.*, (2015), bahwa hasil uji fitokimia pada ekstrak daun gamal mengandung senyawa kimia *alkaloid, steroid/terpenoid, tanin/polifenol* dan *saponin*. Perbedaan hasil uji ini dapat disebabkan oleh karena kemampuan deteksi uji fitokimia yang tidak mampu mendeteksi senyawa metabolit yang berjumlah sedikit di dalam berbagai ekstrak yang digunakan pada penelitian (Lumowa, 2017).

2.2 Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan menggunakan pelarut cair. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloida, flavonoid dan lain-lain. Dengan diketahuinya senyawa aktif yang dikandung simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Ditjen POM, 2000; Anonim 2000).

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok di luar pengaruh matahari langsung (Ditjen POM, 1979). Pelarut yang sering digunakan dalam ekstraksi adalah air, etanol maupun campuran antara keduanya. Pemilihan cairan penyari harus mempertimbangkan banyak faktor. Cairan penyari yang baik harus memenuhi kriteria:

1. Murah dan mudah diperoleh
2. Stabil secara fisika dan kimia
3. Bereaksi netral
4. Tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar

5. Selektif yaitu hanya menarik zat berkhasiat yang dikehendaki
6. Tidak mempengaruhi zat berkhasiat
7. Diperbolehkan oleh peraturan

Menurut Anonim (2000), metode ekstraksi menggunakan pelarut dibagi menjadi 2 bagian, yaitu metode ekstraksi cara dingin dan metode ekstraksi cara panas. Metode ekstraksi cara dingin meliputi maserasi dan perkolasi, sedangkan metode ekstraksi cara panas meliputi refluks, soxletasi, digesti, infundasi dan dekok.

1.2.1 Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif yang akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan di luar sel maka larutan terpekat didesak keluar.

Penggunaan metode maserasi memiliki kelemahan yaitu membutuhkan waktu beberapa hari pada proses perendamannya. Adapun keuntungan maserasi diantaranya adalah sebagai berikut:

1. Unit alat yang digunakan sederhana dan hanya dibutuhkan bejana perendam
2. Biaya operasionalnya relatif rendah
3. Prosesnya relatif hemat penyari
4. Proses maserasi ini menguntungkan dalam isolasi bahan alam karena selama proses perendaman serbuk simplisia dalam pelarut akan terjadi proses pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam

dan di luar selnya sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan senyawa akan terekstraksi sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan.

1.2.2 Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Prosesnya terdiri atas tahap pengembangan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak) secara terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat)

1.2.3 Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna.

1.2.4 Sokletasi

Sokletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi yang berkelanjutan dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

1.2.5 Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar) yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C.

1.2.6 Infundasi

Infundasi adalah proses penyarian yang umumnya untuk menyari zat aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Proses ini dilakukan pada suhu 90⁰C selama 15 menit.

1.2.7 Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama dan temperatur sampai titik didih air, yakni 30 menit pada suhu 90⁰C-100⁰C.

1.2.8 Destilasi Uap

Destilasi uap adalah ekstraksi senyawa menguap (minyak atsiri) dari bahan (segar atau simplisia) dengan uap air berdasarkan peristiwa tekanan parsial. Senyawa menguap akan terikut dengan fase uap air dari ketel secara kontinu dan diakhiri dengan kondensasi fase uap campuran (senyawa kandungan menguap ikut terdestilasi) menjadi destilat air bersama senyawa kandungan yang memisah sempurna atau memisah sebagian (Ditjen POM, 2000).

2.3 Identifikasi Fitokimia Ekstrak

Identifikasi fitokimia dilakukan untuk menentukan ciri atau kandungan senyawa aktif penyebab efek racun atau efek yang bermanfaat, yang ditunjukkan oleh ekstrak tumbuhan bila diuji dengan sistem biologi (Illing, 2017). Senyawa

yang diuji dalam identifikasi fitokimia antara lain meliputi alkaloid, kumarin, flavonoid, tannin, minyak atsiri, saponin, sterol dan triterpen.

Metode yang digunakan untuk melakukan penapisan fitokimia harus memenuhi beberapa persyaratan antara lain; sederhana, cepat dan dapat dilakukan dengan peralatan minimal, selektif terhadap golongan senyawa yang dipelajari, semikualitatif dan dapat memberikan keterangan tambahan ada atau tidaknya senyawa tertentu dari golongan senyawa yang dipelajari (Nirwana, 2015).

2.3.1 Alkaloid

Senyawa alkaloid sebagai salah satu golongan zat tumbuhan hasil metabolit sekunder umumnya bersifat basah karena mengandung satu atau lebih atom nitrogen. Alkaloid memiliki ciri tidak berwarna, berbentuk kristal pada suhu kamar, seringkali beracun bagi manusia dan memiliki efek fisiologis yang menonjol sehingga digunakan dalam bidang pengobatan (Agustina, 2017). Hasil positif uji alkaloid pada uji *Wagner*, ditandai dengan terbentuknya endapan. Endapan tersebut diperkirakan adalah kalium-alkaloid. Pada pembuatan pereaksi *Wagner*, iodine bereaksi dengan I dari kalium iodide menghasilkan ion I_3 yang berwarna coklat. Pada uji *Wagner*, ion logam K^+ akan membentuk ikatan kovalen dengan nitrogen pada alkaloid membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap (Asmara, 2017).

2.3.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang banyak terkandung di alam dan dikategorikan menurut struktur kimianya menjadi flavonol, flavon, flavanon, isoflavon, antosianidin dan kalkon. Keberadaan flavonoid dalam tanaman,

khususnya daun, dipengaruhi oleh adanya proses fotosintesis sehingga daun muda belum terlalu banyak mengandung flavonoid (Pusmarani and Saranani, 2018).

Uji flavonoid dilakukan dengan mengambil sedikit sampel, dilarutkan dengan methanol 50% panas kemudian ditambahkan logam Mg dan HCl pekat. Penambahan HCl pekat dalam uji flavonoid digunakan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi glikonnya, yaitu dengan menghidrolisis O-glikosil. Glikosil akan tergantikan oleh H^+ dari asam karena sifatnya yang elektrofilik. Glikosida berupa gula yang biasa dijumpai yaitu glukosa, galaktosa dan ramnosa. Serbuk Mg menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah atau jingga.

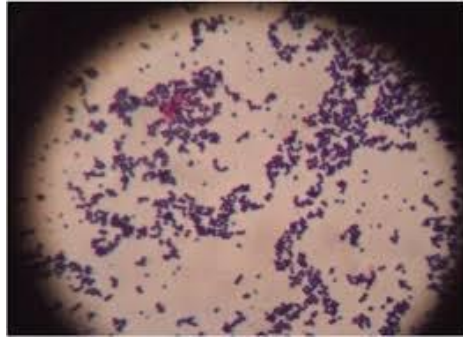
2.3.3 Saponin

Timbulnya busa menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air. Senyawa glikosida terhidrolisis menjadi glukosa dan aglikon (Asmara, 2017).

2.3.4 Tannin

Tannin terdeteksi dalam ekstrak karena kemampuan ion Fe^{3+} dari reagen membentuk kompleks dengan senyawa tannin. Kompleks terbentuk karena ikatan kovalen ion Fe^{3+} dengan atom O^- dari gugus fungsi OH senyawa tannin yang melepaskan atom H.

2.4 Tinjauan tentang *Staphylococcus aureus*



Gambar 2.2 *Staphylococcus aureus* (Toelle dan Lenda., 2014)

Staphylococcus aureus merupakan salah satu bakteri yang sering digunakan untuk pengujian bahan antibakteri, karena bakteri ini mempunyai ketahanan lebih tinggi terhadap bahan kimia dan suhu dibandingkan bakteri lain (Haniah, 2008).

Bakteri *Staphylococcus aureus* adalah salah satu bakteri yang biasa menyebabkan terjadinya infeksi. Bakteri ini merupakan salah satu jenis bakteri gram positif yang tersebar luas di tanah, air, tanaman dan binatang. Bakteri ini yang dapat menyebabkan penyakit seperti infeksi pada folikel rambut dan kelenjar keringat, bisul, infeksi pada luka, meningitis, endocarditis, pneumonia, osteomyelitis dan pyelonephritis. Bakteri *Staphylococcus aureus* tumbuh pada selaput mukosa (misalnya pada vagina orang yang sedang haid) atau pada luka (Paju and Yamlean, 2013).

2.4.1 Klasifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut:

- Kingdom : *Plantae*
- Division : *Protophyta*
- Classis : *Scizomycetes*

- Familia : Microoccaceae
Genus : *Staphylococcus*
Spesies : *Staphylococcus aureus* (gram positif) (Said *et al.*, 2014).

Nama *Staphylococcus aureus* berasal dari bahasa Yunani “*Stapyle*” yang artinya seperti buah anggur, sedangkan “*coccus*” yang berarti butir-butir, untuk mendeskripsikan organisme yang tampak pada nanah dari infeksi pembedahan.

2.4.2 Karakteristik Bakteri *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus adalah bakteri gram positif yang berbentuk seperti bola-bola kecil (*coccus*) yang menyerupai bentuk anggur dengan diameter 0,8-10 mikron. Secara umum bakteri ini merupakan organisme yang hidup bebas, baik berupa sel tunggal atau berupa kelompok yang berpasangan dua, ada juga yang berkelompok teratur secara tetrad, bahkan ada yang memiliki susunan tidak teratur.

Staphylococcus aureus merupakan bentuk kougulase positif, hal ini membedakannya dengan spesies lain. *Staphylococcus aureus* merupakan patogen utama bagi manusia. Hampir semua orang mengalami beberapa tipe infeksi *Staphylococcus aureus* sepanjang hidupnya, bervariasi dalam beratnya mulai dari keracunan makanan atau infeksi kulit ringan sampai infeksi berat yang mengancam jiwa (Miranti, 2013).

Staphylococcus aureus merupakan mikroorganisme yang paling tahan terhadap panas, dingin dan zat kimia dibandingkan dengan mikroorganisme yang tidak berspora. *Staphylococcus aureus* tahan pada suhu 60⁰C selama satu jam atau pada suhu 80⁰C selama 30 menit. Pada suhu kondisi dingin dapat bertahan

berbulan-bulan. Bakteri ini mempunyai daya adaptasi paling cepat dan mudah pada inangnya.

2.4.3 Patogenesis

Patogenesis infeksi bakteri mencakup inisiasi dari proses infeksi dan mekanisme yang menyebabkan pemunculan tanda-tanda dan symptom penyakit. Ciri khas bakteri patogen antara lain kemampuan transmisi, perlekatan pada sel inang, invasi sel dan jaringan inang serta kemampuan menghindari sistem imun inang. Daerah-daerah predominan pada beberapa anatomi manusia merupakan tempat *Staphylococcus aureus* berada, antara lain pada; kulit 3-5%, hidung 20-85%, nasofaring 20-85%, orofaring 34-45%, mulut, air liur dan permukaan gigi (Putri *et al.*, 2018).

Staphylococcus aureus merupakan bakteri yang dapat menyebabkan beberapa penyakit, antara lain; bisul, infeksi pada luka operasi atau pembedahan, pneumonia, penyakit limpyema dan infeksi serius pada luka yang bernanah. Dapat juga menginfeksi serius pada permukaan wajah dan tubuh berupa bintil-bintil berisi nanah. Apabila kulit mengalami luka, maka bakteri ini akan melakukan penetrasi yang kemudian menyebar menjadi borok dan bernanah, yang merupakan ciri khas penetrasi *Staphylococcus aureus* terhadap tubuh. Beberapa hewan seperti kuda, sapi, domba, anjing dan ayam juga dapat terserang penyakit yang disebabkan oleh bakteri ini, misalnya penyakit *urogniko* pada kuda, *mastitis* pada sapi dan lain-lain (Hertanto and Cahyadi, 2016).

2.5 Senyawa Antibakteri

2.5.1 Pengertian Antibakteri

Antibakteri adalah suatu komponen kimia yang berkemampuan dalam menghambat pertumbuhan dan berkemampuan dalam mematikan bakteri (Amrulloh, 2008). Bahan antibakteri diartikan sebagai bahan yang mengganggu pertumbuhan metabolisme bakteri (Ma'rifah, 2012).

Penggunaan antibakteri bertujuan sebagai usaha pengendalian terhadap bakteri, yaitu untuk menghambat, membasmi atau menyingkirkan bakteri. Pengendalian bakteri tersebut meliputi beberapa hal yaitu; mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, membasmi bakteri pada inang yang terinfeksi, mencegah pembusukan dan kerusakan bahan oleh bakteri.

2.5.2 Jenis Senyawa Antibakteri

Senyawa antibakteri dapat berasal dari tumbuhan atau bahan-bahan kimia. Antibakteri dapat berupa zat padat, cair dan gas yang dicirikan oleh komposisi molekuler yang pasti dan menyebabkan reaksi (Julita, 2012).

Suatu bahan dikatakan memiliki daya antibakteri yang baik jika bahan tersebut memiliki sifat antara lain tidak meracuni tubuh, tidak menyebabkan rasa sakit, dapat diminum, warnah mudah dihilangkan jika mengenai pakaian dan harganya murah (Sulistiyani *et al.*, 2017). Semakin tinggi konsentrasi senyawa antibakteri maka semakin besar daya antibakterinya. Meskipun demikian tidak ada satupun senyawa antibakteri yang terbaik bagi semua tujuan karena beragamnya kondisi, perbedaan cara kerja, serta begitu banyaknya sel yang harus dimusnahkan (Ningrum *et al.*, 2011).

2.5.3 Mekanisme Kerja Antibakteri

Antibakteri dalam melakukan efeknya harus mampu mempengaruhi bagian sel yang vital, seperti membran sitoplasma, enzim, protein (Fauziah, 2015). Cara kerja senyawa antibakteri dalam melakukan efeknya terhadap mikroorganisme adalah sebagai berikut:

1. Merusak Dinding Sel

Dinding sel bakteri tersusun dari peptidoglin yaitu suatu senyawa kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Penghambat pertumbuhan bakteri melalui mekanisme penghambat sintesa dinding sel melibatkan gangguan pada sintesa peptidoglikan. Oleh karena tekanan osmotik dalam sel kuman lebih tinggi dari pada luar sel maka kerusakan dinding sel akan menyebabkan terjadinya lisis, yang merupakan dasar efek bakterisida pada kuman yang peka (Angelika *et al.*, 2014).

2. Perubahan Permeabilitas Membran Sel

Membrane sel berfungsi dalam memelihara integrasi komponen-komponen seluler yang secara selektif mengatur keluar masuknya zat antar sel dan lingkungan luar. Dengan demikian kerusakan pada membran sel akan memungkinkan ion organik penting, nukleotida, asam amino dan enzim keluar dari sel.

3. Penghambat Kerja Enzim

Suatu sel normal memiliki sejumlah enzim untuk membantu kelangsungan proses-proses metabolisme bersama protein yang lain. Penghambatan pada kerja enzim dapat menyebabkan terganggunya metabolisme atau matinya sel.

4. Perubahan Molekul Protein dan Asam Nukleat

Hidupnya suatu sel tergantung pada terpeliharanya molekul-molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alamiahnya. Konsentrasi tinggi beberapa zat kimia dapat mengakibatkan denetrasi komponen-komponen seluler yang vital ini.

5. Penghambat Sintesa Protein dan Asam Nukleat

DNA, RNA dan protein memegang peran penting dalam proses kehidupan sel. Gangguan yang terjadi pada proses pembentukan dan fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan sel (Artana *et al.*, 2016).

2.5.4 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Kerja Antibakteri

Factor-faktor yang mempengaruhi kerja antibakteri antara lain:

1. Konsentrasi senyawa antibakteri

Semakin tinggi konsentrasi senyawa antibakteri, maka semakin tinggi daya antibakterinya (Ningrum *et al.*, 2011).

2. Jumlah mikroorganisme

Perusakan mikroorganisme oleh suatu antibakteri merupakan suatu proses yang teratur dan tidak mungkin semua bakteri akan mati dalam waktu yang bersamaan. Semakin lama suatu bakteri berada di bawah suatu senyawa antibakteri, semakin besar kemungkinan matinya bakteri tersebut (Purnamaningsih, 2017).

3. Suhu

Kenaikan suhu di bawah suhu maksimal secara terus menerus dapat meningkatkan efektifitas senyawa antibakteri. Hal ini disebabkan zat kimia merusak bakteri melalui reaksi kimia, laju reaksi dipercepat dengan kenaikan suhu. (Ningrum *et al.*, 2011)

4. Adanya bahan organik

Adanya bahan organik asing dapat menurunkan efektifitas suatu antibakteri. Hal tersebut disebabkan adanya penggabungan antibakteri dengan bahan organik membentuk produk yang tidak bersifat antibakteri, menghasilkan suatu endapan yang mengurangi daya antibakteri dan akumulasi bahan organik pada permukaan bakteri menjadi suatu pelindung yang dapat mengganggu kontak antara bakteri dengan sel (Ningrum *et al.*, 2011).

2.6 Metode Pengukuran Daya Hambat

2.6.1 Metode Uji Keampuhan

Ada tiga macam metode yang dapat digunakan untuk menguji keampuhan hasil isolasi senyawa metabolit sekunder dalam menghambat pertumbuhan bakteri penyebab infeksi. Pertama, metode penyebaran (*Difussion Method*) yang meliputi metode kertas cakram (*Paper Disk Method*), metode dalam cincin (*Ring Difussion Method*) dan metode sumuran (*Hole Plate Method*). Kedua, metode pengenceran (*Dilution Method*) yang meliputi metode pengenceran agar (*Agar Dilution Method*) dan metode pengenceran (*Tube Dilution Method*). Ketiga, metode bioautografi (*Bioautography Method*) dan metode bioautografi pencelupan (*Immersion Bioautography Method*).

1. Metode penyebaran (*Difussion Method*)

Metode ini dilakukan dengan cara menanam bakteri pada lempeng agar yang sesuai kemudian diletakkan cakram atau silinder yang sudah ditetaskan dengan bahan uji atau dapat juga bahan uji dimasukkan dalam sumur agar yang telah dibuat pada media. Media yang berisi molekul bakteri dan bahan uji diinkubasi pada suhu 60⁰C selama 24 jam. Keampuhan dapat dilihat dengan

mengukur diameter zona hambat pertumbuhan bakteri disekitar cakram, sumur atau cangkir agar. Semakin besar diameter zona hambat pertumbuhan bakteri menunjukkan bahan uji dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan baik. Keuntungan metode difusi adalah jumlah sampel sedikit dan bisa dikerjakan dalam satu petri 5-6 sampel sekaligus untuk satu jenis mikroorganisme (Ningrum *et al.*, 2011).

2. Metode pengenceran (*Dilution Method*)

Metode ini untuk menemukan KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) dan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum) dari antimikroba yang digunakan. Metode ini dilakukan dengan cara mengisi bahan uji ke dalam seri tabung yang telah berisi media cair dan juga jumlah tertentu sel mikroba yang akan diuji. Selanjutnya, seri tabung tersebut diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan pada tabung. Konsentrasi hambat minimum bahan uji pada tabung ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba). Kemudian dilakukan uji KBM dengan cara menginokulasi semua tabung yang jernih pada media agar padat, kemudian diinkubasi selama 24 jam. Setelah itu diamati ada tidaknya koloni mikroba yang tumbuh. Konsentrasi bunuh minimum merupakan konsentrasi terendah bahan uji pada biakan padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni mikroba (Subekti, 2018).

Metode pengenceran dapat dilakukan dengan pengenceran dalam tabung maupun pengenceran agar. Cara pengenceran dalam tabung dapat dilakukan dengan mengencerkan bahan uji dengan media cair menjadi kelipatan dua secara bertahap sehingga didapatkan beberapa konsentrasi dengan kelipatan setengahnya,

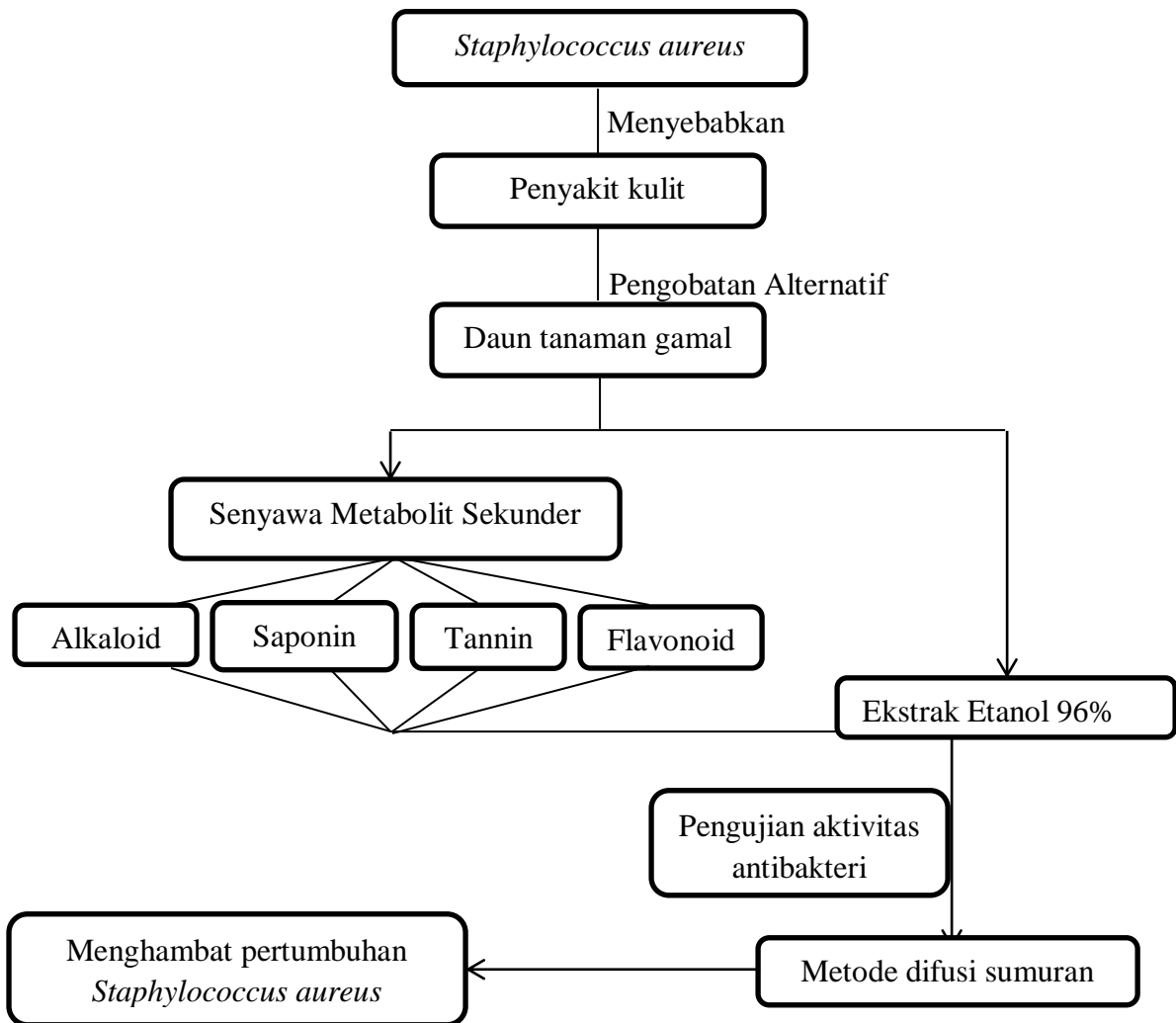
sedangkan pengenceran agar menggunakan satu seri lempeng agar dengan konsentrasi bahan uji yang berbeda. Selanjutnya diinkubasi dengan suspensi bakteri dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 36⁰C, kemudian diamati hambatan pertumbuhan bakteri dengan membandingkan kekeruhan atau pertumbuhan dengan kontrol media yang mengandung media konsentrasi. Penghambatan minimal didapatkan dari tabung yang jernih pada pengenceran tertinggi. Metode ini digunakan untuk mengetahui harga kadar daya hambat minimal satu bahan antibakteri, tetapi metode ini hanya sesuai untuk senyawa yang larut dalam air (Ningrum *et al.*, 2011).

3. Metode Bioautografi (*Bioautography Method*)

Metode ini sangat berguna untuk mengetahui senyawa baru atau yang belum diketahui kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Bahan uji dipindahkan ke dalam cawan petri yang berisi agar dan diinokulasi bakteri melalui proses difusi. Bioautografi kontak menggunakan prinsip difusi senyawa yang terpisah dengan kromatografi lapis tipis atau kromatografi kertas. Lempeng kromatografi diletakkan pada permukaan agar yang telah diinokulasi bakteri. Setelah 30 menit lempeng dipindahkan, diinkubasi, diamati. Senyawa antibakteri akan berdifusi pada lapisan agar dan menghambat pertumbuhan. Pada bioautografi langsung zona hambat diamati secara langsung pada lempeng kromatografi yang sudah disemprot suspensi bakteri dalam media cair, kemudian diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai. Adapun metode bioautografi pencelupan dapat dilakukan dengan pencelupan lempeng kromat ke dalam media yang sudah diinokulasi bakteri, setelah media yang menempel pada lempeng

kromat mengeras, lalu diinkubasi dan dilakukan pengamatan zona hambatan (Ningrum *et al.*, 2011).

2.7 Kerangka Konsep



Gambar 2.7 Bagan Kerangka Konsep

2.8 Kerangka Teori

Gamal merupakan tanaman jenis *leguminosa* yang sering digunakan sebagai pakan ternak terutama *ruminansia* yaitu pada bagian daunnya dan gamal dapat bertumbuh dengan cepat di daerah kering. Ekstrak etanol dari daun tanaman gamal memiliki senyawa aktif metabolit sekunder yaitu saponin, flavonoid, alkaloid dan tanin yang berfungsi secara aktif dapat menghambat pertumbuhan bakteri pada beberapa varian konsentrasi (Artaningsih *et al.*, 2012).

Stapylococcus aureus merupakan bakteri flora normal pada kulit dan selaput lendir pada manusia yang dapat menjadi penyebab infeksi jika bakteri ini mengalahkan mekanisme pertahanan tubuh. Pada penelitian ini, peneliti tertarik untuk meneliti apakah ekstrak daun gamal juga berpotensi untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh bakteri, terutama *Stapylococcus aureus*. Metode yang digunakan untuk pengujian daya aktivitas antibakteri adalah difusi sumuran.