

BAB II TINJUAN PUSTAKA

A. Tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.)



Gambar 1. Daun (*Andrographis paniculata* Nees.)
(Sumber: *Homecare24.idn*)

1. Asal-Usul Tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.)

Tanaman herbal *Sambiloto* (*Andrographis paniculata* Nees.) diketahui berasal dari wilayah tropis Asia dan sudah dikenal tumbuh di Pulau Jawa sejak era abad ke-19. Keberadaannya tidak hanya terbatas di Indonesia, tetapi juga menyebar secara alami ke berbagai negara Asia lainnya, antara lain Malaysia, Filipina, Sri Lanka, hingga India. Lingkungan yang menjadi habitat alaminya umumnya berupa lahan terbuka yang memiliki naungan ringan dengan tingkat kelembapan cukup, misalnya di kebun, area semak, tepian aliran sungai, halaman rumah, maupun sekitar rumpun bambu. Pertumbuhan optimal tanaman ini tercatat dapat berlangsung mulai dari dataran rendah hingga mencapai ketinggian kurang lebih 700 meter di atas permukaan laut (Sri Indah, 2017).

2. Klasifikasi Tumbuhan Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.)

Kingdom : *Plantae*

Divisi : *Angiospermae*

Class : *Dicotyledoneae*

Subclass : *Gamopetalae*

Ordo : *Personales*

Family : *Acanthaceae*

Subfamili : *Acanthoidae*

Genus : *Andrographis*

Spesies : *Andrographis paniculata* Nees.

Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.) merupakan salah satu jenis tumbuhan berkhasiat obat yang telah lama dimanfaatkan dalam praktik pengobatan tradisional. Tanaman ini mampu tumbuh dengan baik di berbagai wilayah, termasuk di Indonesia yang memiliki iklim tropis. Keunikan tanaman ini juga tercermin dari beragam penyebutan lokal di berbagai daerah, misalnya dikenal dengan nama bidara, sambiroto, maupun ki oray. Keanekaragaman sebutan tersebut mencerminkan adanya keragaman bahasa sekaligus kekayaan budaya masyarakat Indonesia (Sikumalay *et al.*, 2016).

3. Ciri-Ciri Morfologi Tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.)

a. Morfologi akar dan batang Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.)

Tumbuhan *Sambiloto* (*Andrographis paniculata* Nees.) termasuk jenis perdu atau terna yang banyak dijumpai di tepi hutan, lahan sawah, hingga area perkebunan. Sistem perakarannya berupa akar tunggang dengan warna putih kekuningan hingga kecokelatan. Batangnya bertekstur agak keras seperti kayu, berbentuk bulat hingga sedikit bersudut empat, serta bercabang banyak. Warna batang cenderung hijau, tidak ditutupi rambut halus, dan memiliki ukuran diameter antara 2 hingga 6 milimeter. Pada bagian atas, batang menampilkan sudut menonjol menyerupai rusuk (Sri Indah, 2017).

b. Morfologi daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.)

Daun *Sambiloto* bersifat tunggal, tersusun berhadapan, dan bentuknya menyerupai lanset atau pedang. Permukaan helaian daun terasa licin, tipis, rapuh, dengan tepi rata tanpa gerigi. Warna daun dominan hijau, sedangkan bagian bawahnya cenderung lebih pucat. Ukurannya bervariasi, panjangnya berkisar antara 2 hingga 7 sentimeter dengan lebar 1,5 sampai 3 sentimeter. Tangkai daun relatif pendek, sementara pola pertulangan daunnya jelas menyirip (Sri Indah, 2017).

c. Morfologi bunga Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.)

Bunga pada tanaman *Sambiloto* tersusun dalam bentuk majemuk dan biasanya muncul dari ketiak daun. Struktur bunganya terdiri atas putik

pendek dan dua benang sari. Kelopak bunga berjumlah lima helai, panjangnya sekitar 3–4 milimeter, dan permukaannya ditumbuhi rambut halus. Mahkota bunga memiliki warna putih kehijauan dengan bentuk jorong memanjang, serta dihiasi semburat ungu keputihan pada beberapa bagian. Ujung dan pangkal bunga berbentuk runcing sehingga memberikan kesan lancip (Sri Indah, 2017).

d. Morfologi buah dan biji Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.)

Buah *Sambiloto* berbentuk jorong dengan bagian ujung maupun pangkal yang sama-sama meruncing. Panjang buah dapat mencapai kurang lebih 2 sentimeter dengan lebar sekitar 4 milimeter. Saat masak, buah akan pecah membujur menjadi empat bagian. Warna kulit buah bervariasi dari hijau tua hingga hijau kecokelatan, sedangkan bagian dalamnya tampak putih hingga putih keabu-abuan (Sri Indah, 2017).

4. Khasiat Tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.)

Tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.) telah lama dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional karena mengandung senyawa aktif dengan beragam aktivitas biologis. Pemanfaatannya meliputi pencegahan serta penghambatan proses peradangan atau inflamasi, membantu melancarkan pengeluaran urin sebagai agen diuretika, serta berfungsi sebagai antipiretik untuk menurunkan demam. Selain itu, tumbuhan ini juga digunakan untuk meredakan nyeri pada saluran pencernaan, bertindak sebagai analgesik guna mengurangi rasa sakit, serta dipercaya membantu pengelolaan penyakit kencing manis.

Dalam praktik pengobatan tradisional, Sambiloto juga kerap digunakan untuk meredakan batuk melalui mekanisme antihistamin, mengatasi gangguan akibat gigitan serangga, menurunkan tekanan darah tinggi (hipertensi), hingga mendukung terapi penyakit hepatitis. Manfaat lain dari tanaman ini termasuk sebagai agen antibakteri dalam penanganan diare, terapi radang usus buntu, serta sebagai penawar alami pada kondisi keracunan (Retnaningsih *et al.*, 2021).

B. Bakteri

Kata bakteri berasal dari bahasa Yunani yang berarti “batang kecil”, istilah yang mencerminkan bentuk mikroskopis sebagian besar jenisnya. Dalam sistem klasifikasi biologi, organisme ini dimasukkan ke dalam Divisi Schizomycetes.

Selain itu, istilah serupa juga ditemukan dalam bahasa Latin, yakni bacterium, yang dipakai untuk menggambarkan kelompok organisme hidup tertentu, termasuk di dalamnya mitokondria serta kloroplas sebagai bagian dari garis evolusinya. Bakteri memiliki ciri yang khas, yakni ukuran tubuhnya yang sangat mikroskopis, sebagian besar berbentuk uniseluler, serta tersusun atas struktur sel yang sederhana. Sel bakteri tidak memiliki inti sejati, sitoskeleton, maupun organel kompleks sebagaimana yang terdapat pada sel eukariotik (Citra Kusuma, 2017).

1. Klasifikasi Bakteri

Dalam upaya memahami keragaman mikroorganisme, penyusunan sistem klasifikasi menjadi langkah yang sangat penting. Identifikasi jenis bakteri umumnya dilakukan melalui uji biokimia serta teknik pewarnaan Gram. Metode pewarnaan Gram memiliki peran yang signifikan karena mampu membedakan karakteristik dinding sel bakteri. Perbedaan tersebut menjadi dasar utama pemisahan bakteri ke dalam dua kelompok besar, yaitu Gram-positif dan Gram-negatif (Citra Kusuma, 2017).

a. Bakteri Gram-negatif

Kelompok bakteri Gram-negatif dengan bentuk batang banyak ditemukan dalam famili *Enterobacteriaceae*. Habitat alaminya berada di saluran pencernaan manusia maupun hewan. Anggota famili ini meliputi berbagai genus penting, seperti *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, dan *Proteus*. Sebagian spesies, contohnya *Escherichia coli*, berperan sebagai flora normal usus, tetapi pada kondisi tertentu dapat berubah menjadi penyebab penyakit. Sementara itu, organisme seperti *Salmonella* dan *Shigella* dikenal sebagai patogen utama yang kerap menimbulkan infeksi pada manusia.

b. Bakteri Gram-positif

Bakteri Gram-positif tertentu mampu menghasilkan spora sebagai bentuk pertahanan hidup. Spora ini membuat bakteri dapat bertahan lama pada lingkungan yang tidak mendukung. Dua genus yang paling banyak mewakili kelompok ini adalah *Bacillus* dan *Clostridium*. Kedua spesies tersebut bersifat kosmopolit karena dijumpai hampir di setiap ekosistem, serta memiliki peranan penting baik dalam bidang kesehatan maupun industri (Citra Kusuma, 2017).

C. *Salmonella typhi*



Gambar 2. Morfologi Bakteri *Salmonella typhi*
(Sumber : <http://journal.uin-alauddin.ac.id/index.php/psb/>)

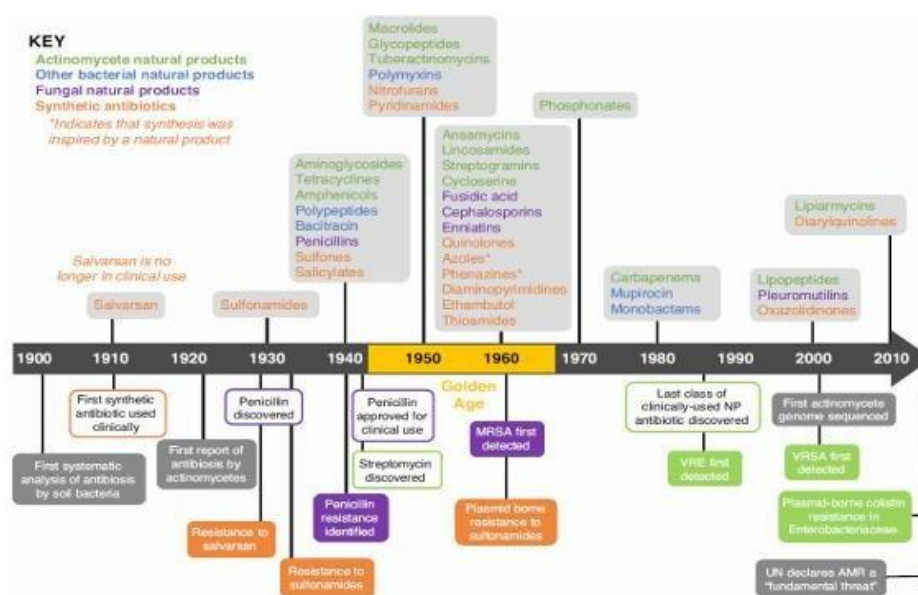
Salmonella typhi merupakan bakteri patogen penyebab demam tifoid, suatu penyakit infeksius yang hingga kini tetap menjadi tantangan kesehatan serius, khususnya di negara berkembang. Istilah “demam tifoid” pertama kali diperkenalkan oleh Pierre Louis pada tahun 1829, setelah ia menemukan kelainan berupa lesi pada kelenjar limfa abdomen pasien yang meninggal akibat penyakit ini. Kata “tifoid” sendiri berasal dari istilah Yunani *typhus*, yang berarti “berkabut” atau “berkabut asap”, merujuk pada gejala delirium yang dialami penderita. Walaupun deskripsi klinis tifoid sudah dikenal sejak awal abad ke-19, agen penyebabnya baru berhasil ditemukan pada tahun 1880 oleh Karl Eberth. Empat tahun kemudian, yakni 1884, bakteri tersebut berhasil diisolasi oleh Georg Gaffky. Beberapa dekade setelahnya, Almroth Wright mengembangkan vaksin untuk mencegah penyakit ini. Meskipun berbagai kemajuan medis telah dicapai, tifoid tetap dikategorikan sebagai salah satu masalah kesehatan global (Fairuza Imara, 2020).

Bakteri *S. typhi* memiliki bentuk batang dan dilengkapi flagela yang memungkinkannya bergerak. Identifikasinya dapat dilakukan melalui keberadaan antigen spesifik berupa lipopolisakarida (antigen O) dan kapsular polisakarida (antigen Vi). Strain yang tidak mengekspresikan antigen Vi umumnya menunjukkan tingkat virulensi lebih rendah dibandingkan strain yang membawa antigen tersebut (Fairuza Imara, 2020).

Dari sisi klasifikasi, *Salmonella typhi* termasuk bakteri Gram-negatif, bersifat anaerob fakultatif, tidak membentuk spora, dan hidup sebagai intraseluler

fakultatif. Bakteri ini termasuk ke dalam famili *Enterobacteriaceae*. Berdasarkan perbedaan antigeniknya, *S. typhi* dibedakan menjadi serovar melalui antigen O (somatik), H (flagela), dan Vi (capsular). Struktur antigen O ditentukan oleh komposisi serta susunan polisakarida pada dinding sel. Selain itu, pembagian lebih rinci dapat dilakukan berdasarkan karakter biovar, misalnya kemampuan memfermentasi xylosa, yang sering dimanfaatkan sebagai penanda epidemiologis untuk memantau pola penyebaran penyakit (Fairuza Imara, 2020).

D. Sejarah Antibiotik



Gambar 3. Timeline munculnya kelas baru antibiotik per decade (Sumber : Hutchings, *et al.*, 2019)

Pemanfaatan agen antimikroba alami telah dikenal jauh sebelum lahirnya obat modern. Sejak ribuan tahun lalu, masyarakat di berbagai belahan dunia menggunakan bahan tradisional untuk mengatasi infeksi. Catatan sejarah menunjukkan bahwa peradaban kuno di Serbia, Tiongkok, Yunani, dan Mesir telah memanfaatkan jamur pada roti sebagai terapi luka terbuka lebih dari dua milenium silam. Bahkan, naskah Anglo-Saxon berusia sekitar seribu tahun terbukti memiliki efektivitas dalam membunuh bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

Perkembangan sistematis dalam penemuan obat anti-infeksi modern dimulai pada awal abad ke-20. Paul Ehrlich merupakan tokoh penting yang

memperkenalkan *salvarsan* dan *neo-salvarsan* sebagai terapi sifilis. Karya inovatifnya tentang pewarnaan sel bakteri juga menjadi inspirasi bagi lahirnya metode pencarian obat baru secara ilmiah. Tidak lama kemudian, *salvarsan* digantikan oleh *protonsil*, sebuah prodrug sulfonamida yang ditemukan oleh Gerhard Domagk. Penemuan ini berawal dari keberhasilan Domagk mencegah amputasi pada anaknya melalui penggunaan obat tersebut. Sulfonamida kemudian berkembang sebagai kelompok antimikroba yang efektif dan tetap digunakan hingga kini (Fadrian, 2023).

Lompatan besar berikutnya terjadi ketika Alexander Fleming menemukan penisilin pada tahun 1928 melalui observasi yang bersifat kebetulan. Senyawa ini segera menggantikan dominasi sulfonamida karena efektivitasnya yang tinggi. Upaya pemurnian penisilin dilakukan oleh tim peneliti di Universitas Oxford, sedangkan struktur kimianya yang khas, yaitu cincin β -laktam, berhasil diidentifikasi oleh Dorothy Hodgkin pada tahun 1945. Pengetahuan ini membuka peluang untuk merancang derivat semi-sintetik guna menghadapi masalah resistensi.

Pada dekade 1930-an, Selman Waksman melakukan penelitian sistematis mengenai mikroorganisme penghasil senyawa antimikroba. Ia memperkenalkan istilah “antibiotik” untuk menggambarkan produk metabolit mikroba yang mampu menghancurkan mikroba lain. Waksman berhasil menemukan berbagai antibiotik penting dari kelompok *Actinomycetes*, termasuk neomisin dan streptomisin. Penemuannya kemudian memicu apa yang dikenal sebagai *Golden Age of Antibiotics* pada periode 1940–1960. Akan tetapi, sejak tahun 1970, laju penemuan antibiotik baru menurun drastis. Sebagian besar kandidat antibiotik dalam uji klinis masa kini hanya berupa derivat atau modifikasi dari senyawa alami dan sintetis yang telah dikenal sebelumnya (Fadrian, 2023).

1. Klasifikasi Antibiotik

Antibiotik merupakan senyawa terapeutik yang berfungsi mengatasi infeksi bakteri melalui dua mekanisme utama, yakni menghambat pertumbuhan (bakteriostatik) atau membunuh secara langsung (bakterisidal). Obat yang bekerja secara bakteriostatik tidak membinasakan bakteri, melainkan memperlambat laju multiplikasinya sehingga sistem imun inang memiliki waktu untuk menyingkirkan

patogen. Golongan yang termasuk dalam kategori ini antara lain tetrasiklin, makrolida, dan sulfonamida. Sebaliknya, antibiotik bakterisidal mampu menghancurkan bakteri secara langsung, dengan contoh kelompoknya yaitu aminoglikosida, β -laktam, serta fluoroquinolon (Fadrian, 2023).

Selain berdasarkan mekanisme kerja, antibiotik juga dapat dikelompokkan menurut spektrum aktivitasnya terhadap dinding sel bakteri. Kriteria ini membedakan antibiotik yang lebih efektif terhadap bakteri Gram-positif maupun Gram-negatif. Perbedaan tersebut terutama ditentukan oleh variasi struktur peptidoglikan dan membran luar pada dinding sel bakteri, yang memengaruhi penetrasi serta efektivitas agen antimikroba.

Tabel 1. Penggolongan antibiotik berdasarkan kemampuan antibakteri terhadap gram-positif dan gram-negatif

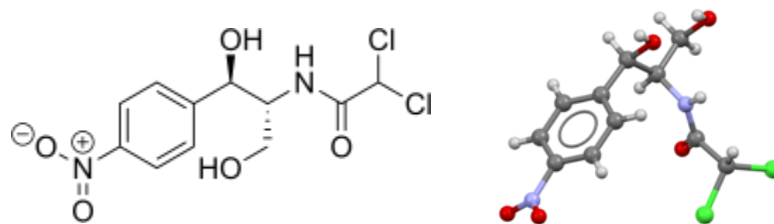
Kelompok	Antibiotik
Gram positif	a. Dapsomisin; b. Klindamisin; c. Linkomisin; d. Makrolid (azitromisin, eritromisin dan klaritromisin); e. Penisilin (benzatil benzil penisilin, dikloksasilin, fenoksimetil penisilin, kloksasilin, prokain benzil penisilin, nafsilin, oksasilin); f. Sefalosporin generasi 1 (sefadroksil, sefalekssin, sefalotin, sefazolin) g. Tetrasiklin dan doksisisiklin; Teikoplanin; h. Vankomisin
Gram Negatif	a. Aztreonam; b. Aminoglikosida; c. Kolistin; d. Polimiksin B; e. Selafosporin generasi kedua (sefaklor, f. sefoksitin, cefotetan, sefuroksim)
Gram-positif dan gram- negatif	a. Ampisilin, ampisilin-sulbaktam, amoksisilin, amoksisilin-asam klavulanat; b. Flurokuinolon (levofloxacin; moksifloksasin; ciprofloxacin); c. Fosfomisin; Karbapenem (doripenem, imipenem, meropenem, ertapenem); d. Kloramfenikol; e. Kotrimoksazol, nitrofurantoin; f. Piperasilin, piperasilin-tazobaktam dan titarsilin (baik untuk pseudomonas aeruginosa, Sterptococcus dan Enterococcus)

-
- g. Sefalosporin generasi ke 3 (sefdinir, sefiksime, sefoperazon, sefotaksim, sefpodoksim, seftazidim, seftriakson);
 - h. Sefepim; Tigesiklin (kurang aktif untuk
 - i. Psuedomonas dan Proteus)
-

Selain dibedakan berdasarkan mekanisme kerja dan spektrum, sejumlah antibiotik memiliki aktivitas yang lebih selektif terhadap mikroorganisme tertentu. Aktivitas khusus tersebut antara lain:

- a. Sulfonamid, menunjukkan efektivitas terhadap *Nocardia* spp., *Chlamydia* spp., serta beberapa jenis protozoa.
- b. Metronidazol, bekerja optimal pada bakteri anaerob baik Gram-positif maupun Gram-negatif.
- c. Isoniazid (INH), etambutol, pirazinamid, rifampisin, streptomisin, dapson, serta makrolida seperti azitromisin dan klaritromisin, terutama digunakan dalam pengobatan infeksi yang disebabkan oleh *Mycobacterium*.
- d. Kolistin, aktif terhadap *Acinetobacter* spp. dan *Pseudomonas* spp., tetapi tidak efektif melawan *Proteus*, *Serratia*, *Providencia*, *Burkholderia*, *Stenotrophomonas*, kokus Gram-positif, maupun kelompok bakteri anaerob.
- e. Tetrasiklin, efektif untuk mengatasi bakteri atipikal, *Rickettsia*, dan *Spirochaeta*.
- f. Makrolida (eritromisin, azitromisin, klaritromisin), menunjukkan aktivitas terhadap bakteri atipikal, *Haemophilus influenzae*, *Helicobacter pylori*, serta *Mycobacterium avium*.
- g. Trimetoprim/sulfametoksazol, mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Listeria monocytogenes*, *Pneumocystis jirovecii* (dahulu dikenal sebagai *Pneumocystis carinii*), serta *Toxoplasma gondii*.
- h. Klindamisin, efektif terhadap kokus Gram-positif dan berbagai bakteri anaerob.
- i. Beberapa antibiotik juga memiliki aktivitas antiparasit, misalnya klindamisin dan kombinasi tertentu, yang digunakan dalam terapi infeksi *Plasmodium* spp. (Fadrian, 2023).

E. Kloramfenikol



Gambar 4. Struktur atom kloramfenikol

Kloramfenikol merupakan antibiotik spektrum luas yang pertama kali diperkenalkan pada tahun 1950. Senyawa ini terbukti efektif melawan berbagai bakteri Gram-positif maupun Gram-negatif, baik aerob maupun anaerob. Secara farmakologis, kloramfenikol bersifat **bakteriostatik**, dengan mekanisme kerja utama berupa penghambatan sintesis protein bakteri melalui blokade aktivitas enzim *peptidil transferase* pada proses pembentukan ikatan peptida (Okunye *et al.*, 2020).

Namun, efektivitas kloramfenikol dalam terapi klinis, khususnya pada demam tifoid, dapat berkurang akibat munculnya resistensi. Resistensi tersebut umumnya disebabkan oleh keberadaan **gen *catP*** pada *Salmonella typhi*, yang memicu produksi enzim asetil transferase. Enzim ini mampu mengubah kloramfenikol menjadi bentuk terasetilasi yang tidak aktif, sehingga bakteri tetap bertahan meskipun mendapat paparan antibiotik (Jamilah, 2015).

F. Metode Difusi Cakram Agar

Metode difusi cakram agar, atau *Kirby-Bauer test*, merupakan prosedur standar yang banyak diaplikasikan di laboratorium mikrobiologi klinis untuk menilai sensitivitas bakteri terhadap senyawa antimikroba (Balouiri, Sadiki & Ibensouda, 2016). Tahapan uji meliputi inokulasi suspensi bakteri yang telah distandarkan sesuai kekeruhan 0,5 McFarland pada permukaan media Mueller Hinton Agar (MHA). Selanjutnya, cakram kertas steril yang telah diresapi ekstrak uji atau antibiotik ditempatkan di atas media, kemudian diinkubasi selama 16–18 jam pada suhu 35–37°C. Setelah periode inkubasi, zona hambat yang terbentuk diukur secara presisi, lalu hasilnya ditafsirkan menggunakan acuan *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) atau *European Committee on Antimicrobial*

Susceptibility Testing (EUCAST). Interpretasi dikelompokkan dalam tiga kategori, yaitu sensitif, intermediet, dan resisten (StatPearls, 2025).

Keunggulan metode ini terletak pada kesederhanaan prosedur, biaya yang relatif rendah, serta kemampuannya menghasilkan data kuantitatif yang mudah dianalisis. Standarisasi protokol oleh lembaga internasional juga menjamin replikasi hasil yang andal. Oleh karena itu, teknik ini kerap digunakan untuk penelitian terkait bahan alami, termasuk ekstrak daun Sambiloto (Balouiri, Sadiki & Ibnsouda, 2016). Namun demikian, akurasi hasil dapat dipengaruhi oleh kemampuan senyawa aktif untuk berdifusi melalui medium agar. Senyawa dengan massa molekul besar cenderung menghasilkan zona hambat lebih kecil meskipun memiliki aktivitas antibakteri tinggi (Disk Diffusion Test, 2025).

Pola difusi zat aktif dari cakram mengikuti gradien logaritmik, dengan konsentrasi tertinggi di sekitar cakram dan menurun seiring bertambahnya jarak (ASM Kirby-Bauer Protocol, 2016). Faktor teknis seperti ketebalan agar (± 4 mm) dan jenis pelarut yang digunakan saat peresapan ekstrak juga berkontribusi terhadap hasil. Penggunaan strain kontrol, misalnya *Escherichia coli* ATCC 25922, sangat dianjurkan untuk memastikan validitas serta keterbandingan hasil antar penelitian (Disk Diffusion Test, 2025).

Meskipun efektif sebagai uji awal (*screening*) aktivitas antibakteri karena praktis dan efisien, metode ini hanya memberikan informasi mengenai terbentuknya zona hambat. Oleh sebab itu, untuk memperoleh data lebih mendalam seperti konsentrasi hambat minimum (*Minimum Inhibitory Concentration*/MIC) atau konsentrasi bunuh minimum (*Minimum Bactericidal Concentration*/MBC), diperlukan uji lanjutan berbasis metode kuantitatif lainnya (Disk Diffusion Performed on Early Growth, 2020).

G. Media Agar

1. *Nutrient Agar* (NA)

Nutrient Agar atau yang sering disingkat NA merupakan salah satu medium kultur mikrobiologi yang dirancang untuk bersifat serbaguna, sehingga dapat menunjang pertumbuhan bakteri yang tidak memerlukan kondisi nutrisi khusus atau disebut juga bakteri non-fastidious (Aryal, 2022). Unsur penyusun utama dalam media ini terdiri atas pepton yang berfungsi sebagai sumber nitrogen, ekstrak

daging sapi maupun ekstrak ragi sebagai penyedia faktor pertumbuhan, natrium klorida untuk menjaga keseimbangan osmotik, serta agar yang bertugas memberikan tekstur padat sebagai pemadat medium. Nilai pH yang dimiliki oleh NA berada dalam kisaran netral, yaitu antara 6,8 hingga 7,4. Rentang pH tersebut dianggap ideal untuk mendukung pertumbuhan bakteri pada umumnya, termasuk spesies yang sering dijadikan model penelitian seperti *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, maupun beberapa jenis *Salmonella* (Aryal, 2022).

Dalam pelaksanaan penelitian ini, peran NA tidak sekadar sebagai media pertumbuhan biasa, melainkan digunakan terlebih dahulu pada tahap awal sebagai sarana menumbuhkan dan mengisolasi mikroorganisme uji. Kehadiran media tersebut pada fase pra-uji sangat menentukan karena memungkinkan bakteri berkembang dengan cepat, membentuk koloni yang dapat diamati secara jelas oleh peneliti. Selain itu, pada saat standarisasi inokulum, media NA berperan penting. Bakteri yang telah tumbuh di atas media tersebut kemudian disesuaikan kekeruhannya dengan standar McFarland 0,5 agar menghasilkan suspensi inokulum yang siap diaplikasikan pada pengujian antibakteri berbasis difusi cakram (StatPearls, 2025).

Tidak hanya digunakan untuk tahap awal inokulasi, NA juga kerap dimanfaatkan dalam metode plate count atau penghitungan jumlah koloni bakteri yang muncul di permukaan media. Aktivitas ini membantu memastikan bahwa bakteri uji yang dipakai masih dalam keadaan hidup dan aktif secara metabolik, sehingga hasil percobaan dapat dipertanggungjawabkan. Walaupun NA tidak memiliki fungsi utama untuk menunjukkan adanya aktivitas antibakteri suatu senyawa, keberadaannya tetap krusial. Hal ini karena media tersebut berperan sebagai fondasi yang menjamin keberhasilan transfer bakteri ke dalam media pengujian yang lebih spesifik.

NA sebagai medium dasar memiliki peranan vital dalam berbagai prosedur mikrobiologi. Fungsinya memberikan titik awal yang kuat untuk serangkaian proses yang lebih kompleks, seperti identifikasi mikroorganisme, pemurnian strain, serta standarisasi suspensi bakteri sebelum dilakukan analisis efektivitas zat antimikroba. Media ini memberikan kemudahan bagi peneliti memanipulasi kultur tahap awal dan memastikan keberhasilan penelitian berikutnya.

2. *Mueller-Hinton Agar (MHA)*

Mueller-Hinton Agar, yang lebih dikenal dengan singkatan MHA, merupakan media kultur yang secara internasional telah ditetapkan sebagai standar emas dalam pengujian sensitivitas antimikroba. Rekomendasi resmi untuk penggunaannya diberikan oleh dua lembaga besar, yaitu *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)* serta *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)*, terutama dalam kaitannya dengan prosedur difusi cakram (Henderson, 2024). Media ini secara khusus dirancang agar mampu menunjang pertumbuhan berbagai spesies bakteri patogen, sekaligus memastikan proses difusi zat antibakteri dari cakram ke dalam medium berlangsung dengan konsistensi yang optimal. Komponen utama dalam formulasi MHA terdiri atas ekstrak daging sapi yang berfungsi menyediakan nutrisi penting, kasein terhidrolisis sebagai sumber asam amino, pati yang berperan menyerap senyawa toksik yang mungkin dilepaskan selama metabolisme bakteri, serta agar yang berperan sebagai bahan pematat. Keberadaan pati memiliki arti penting, sebab substansi ini dapat menetralkan atau menyerap metabolit beracun yang diproduksi oleh mikroba ketika tumbuh. Jika tidak dinetralkan, metabolit tersebut dapat menimbulkan distorsi terhadap interpretasi hasil pengamatan zona hambat (Henderson, 2024).

Agar yang ditambahkan dalam jumlah tertentu memiliki peran menjaga stabilitas tekstur medium, sehingga permukaan media tetap konsisten serta memungkinkan penyebaran zat uji dari cakram berlangsung secara merata ke segala arah. Keunggulan lain dari MHA adalah sifatnya yang relatif bebas dari unsur-unsur pengganggu seperti kalsium maupun magnesium dalam konsentrasi signifikan. Kedua ion tersebut diketahui dapat mengubah aktivitas beberapa kelompok antibiotik, misalnya aminoglikosida dan tetrasiklin, sehingga ketiadaannya memberikan jaminan bahwa hasil uji mencerminkan potensi asli senyawa antibakteri yang diuji (Henderson, 2024).

Oleh karena karakteristik-karakteristik tersebut, MHA dipilih sebagai medium pokok dalam penelitian ini. Penggunaannya memastikan bahwa zona hambat yang muncul benar-benar berasal dari interaksi antara senyawa antibakteri yang diuji dengan bakteri target, bukan akibat faktor teknis dari media. Dengan

demikian, validitas hasil percobaan menjadi lebih tinggi.

Lebih jauh, penggunaan MHA tidak hanya penting pada level metodologis, tetapi juga memiliki implikasi dalam konteks ilmiah yang lebih luas. Karena media ini dipakai secara global dalam uji kepekaan antibiotik, data yang dihasilkan dari penelitian ini dapat dibandingkan secara langsung dengan hasil penelitian lain yang menggunakan standar serupa. Konsistensi semacam ini memungkinkan adanya replikasi hasil dan memperkuat reliabilitas temuan ilmiah, sekaligus menjadikan MHA sebagai sarana penting dalam harmonisasi metode pengujian di bidang mikrobiologi klinis.

3. Salmonella-Shigella Agar (SSA)

Salmonella-Shigella Agar, yang sering disingkat SSA, merupakan media kultur mikrobiologis yang dikembangkan secara khusus untuk memfasilitasi isolasi sekaligus identifikasi awal bakteri patogen genus *Salmonella* dan *Shigella*, baik dari bahan klinis maupun dari sampel pangan yang berpotensi terkontaminasi (Aryal, 2022). Media ini termasuk dalam kategori selektif sekaligus diferensial, sebab selain membatasi pertumbuhan mikroorganisme non-target, media ini juga mampu membedakan karakteristik fisiologis tertentu yang digunakan sebagai dasar identifikasi bakteri.

Formulasi SSA terdiri dari sejumlah komponen penting, antara lain pepton dan ekstrak daging sebagai sumber nutrisi, garam empedu serta zat pewarna brilliant green yang berfungsi menghambat mikroba non-patogen terutama kelompok Gram-positif dan bakteri koliform, sodium thiosulfate serta ferric citrate yang mendukung deteksi produksi hidrogen sulfida, serta neutral red yang digunakan sebagai indikator perubahan pH. Setiap unsur dalam komposisi ini memiliki peran spesifik yang saling melengkapi dalam menciptakan kondisi selektif sekaligus memberikan diferensiasi yang jelas.

Karakter selektivitas SSA diperoleh dari kombinasi garam empedu dengan brilliant green, di mana keduanya secara efektif menekan pertumbuhan bakteri yang tidak menjadi target. Sementara itu, sifat diferensial dari medium ini muncul melalui kemampuan membedakan bakteri berdasarkan fermentasi laktosa serta pembentukan hidrogen sulfida. Bakteri koliform yang mampu memfermentasi laktosa akan menghasilkan koloni dengan warna merah, akibat reaksi indikator

neutral red terhadap perubahan pH. Sebaliknya, *Salmonella* umumnya menampilkan koloni pucat atau tidak berwarna dengan pusat hitam, yang terbentuk dari endapan besi sulfida hasil interaksi thiosulfate dengan ferric citrate (TM Media, 2023).

Dalam kerangka penelitian ini, SSA berperan pada tahap awal sebagai media konfirmasi untuk memastikan bahwa kultur yang digunakan benar-benar adalah *Salmonella typhi*. Tahap verifikasi tersebut sangat esensial karena menjamin bahwa analisis zona hambat antibakteri yang diperoleh nantinya berasal dari bakteri target murni, bukan dari mikroorganisme lain yang mungkin ikut tumbuh sebagai kontaminan.

Secara praktis, fungsi selektif dan diferensial SSA memberikan keuntungan metodologis yang besar. Media ini memungkinkan peneliti memperoleh isolat murni dari patogen tertentu seperti *Salmonella typhi* dengan tingkat kepastian yang tinggi. Dengan demikian, pemanfaatannya tidak hanya menjamin validitas hasil uji antibakteri, tetapi juga memperkuat integritas proses penelitian mikrobiologi terapan secara keseluruhan.

H. Metode Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu teknik pemisahan senyawa aktif dari suatu campuran dengan memanfaatkan pelarut yang sesuai sifat kimia dan polaritasnya. Proses ini banyak digunakan dalam penelitian bahan alam untuk memperoleh zat berkhasiat dari simplisia atau bahan mentah. Dalam praktiknya, terdapat berbagai metode ekstraksi yang dapat dipilih berdasarkan karakteristik bahan serta sifat senyawa yang hendak diisolasi.

1. Ekstrak Dingin

a. Maserasi

Maserasi termasuk ke dalam metode ekstraksi padat-cair yang dilakukan secara bertahap. Teknik ini dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia di dalam pelarut pada suhu ruang, sehingga prosesnya berlangsung tanpa adanya pemanasan (Kristanti, 2019). Tahapan maserasi diawali dengan memasukkan serbuk simplisia ke dalam wadah khusus atau maserator, kemudian ditambahkan pelarut pertama sebanyak 75% dari total volume yang diperlukan. Perendaman dilakukan selama enam jam awal dengan pengadukan berkala, lalu campuran

tersebut dibiarkan selama lima hari sambil sesekali diaduk untuk mempercepat difusi zat aktif ke dalam pelarut. Setelah lima hari, cairan maserasi dipisahkan dengan penyaringan dan pengepresan residu. Proses penyarian diulangi kembali menggunakan sisa pelarut sebesar 25% dari total, lalu hasilnya kembali didiamkan selama dua hari sebelum disaring. Akhir dari prosedur ini adalah penggabungan seluruh hasil maserat agar diperoleh ekstrak yang lebih lengkap.

b. Perkolasi

Perkolasi merupakan metode ekstraksi lain yang juga sering dipakai dalam isolasi senyawa dari simplisia. Teknik ini menggunakan pelarut yang dialirkan secara perlahan melewati serbuk simplisia halus yang ditempatkan dalam bejana berbentuk silinder. Pada bagian dasar silinder terdapat sekat berpori yang berfungsi menahan simplisia tetap di tempat, sementara pelarut bergerak menembus massa serbuk dari atas ke bawah. Proses ini biasanya dilakukan pada suhu ruang, tanpa pemanasan tambahan (Hujjatusnaini *et al.*, 2021). Dibandingkan dengan maserasi, perkolasi umumnya membutuhkan waktu yang lebih panjang serta jumlah pelarut yang relatif lebih banyak. Meskipun demikian, teknik ini memiliki kelebihan karena memungkinkan kontak yang lebih konsisten antara pelarut dengan simplisia, sehingga zat aktif dapat terekstraksi secara maksimal.

2. Ekstrak Panas

a. Refluks

Refluks merupakan salah satu teknik ekstraksi yang dilakukan dengan memanaskan sampel bersama pelarut hingga mencapai titik didihnya dalam jangka waktu tertentu. Keunikan metode ini terletak pada adanya sistem pendingin balik (kondensor) yang memungkinkan uap pelarut terkondensasi kembali menjadi cairan dan turun kembali ke dalam labu tempat sampel berada (Hujjatusnaini *et al.*, 2021). Dengan demikian, jumlah pelarut tetap konstan meskipun proses dilakukan pada suhu tinggi, dan senyawa aktif dapat terlarut secara optimal. Prosedur ini dimulai dengan memasukkan simplisia bersama pelarut ke dalam labu refluks, kemudian pemanasan dilakukan hingga titik didih tercapai. Selama pemanasan, uap pelarut yang terbentuk diarahkan ke kondensor, mengalami pendinginan, lalu menetes kembali ke dalam labu sehingga ekstraksi berlangsung berulang-ulang tanpa kehilangan pelarut.

b. Soxhletasi

Soxhletasi merupakan metode ekstraksi berkesinambungan yang menggunakan peralatan khusus bernama alat soxhlet. Teknik ini memungkinkan sampel selalu diekstraksi dengan pelarut segar meskipun jumlah pelarut yang digunakan relatif konstan (Hujjatusnaini *et al.*, 2021). Pada praktiknya, serbuk simplisia dibungkus dengan sarung selulosa atau kertas saring, lalu ditempatkan dalam selongsong ekstraktor. Selongsong ini dihubungkan di antara labu berisi pelarut dan kondensor pendingin. Saat pelarut dalam labu dipanaskan, uapnya naik ke kondensor, kemudian terkondensasi dan menetes ke dalam selongsong berisi sampel. Setelah volume larutan dalam selongsong mencapai batas tertentu, cairan tersebut otomatis mengalir kembali ke dalam labu. Proses ini berlangsung berulang-ulang, sehingga zat aktif dalam simplisia dapat larut secara maksimal meski dengan jumlah pelarut yang tetap.

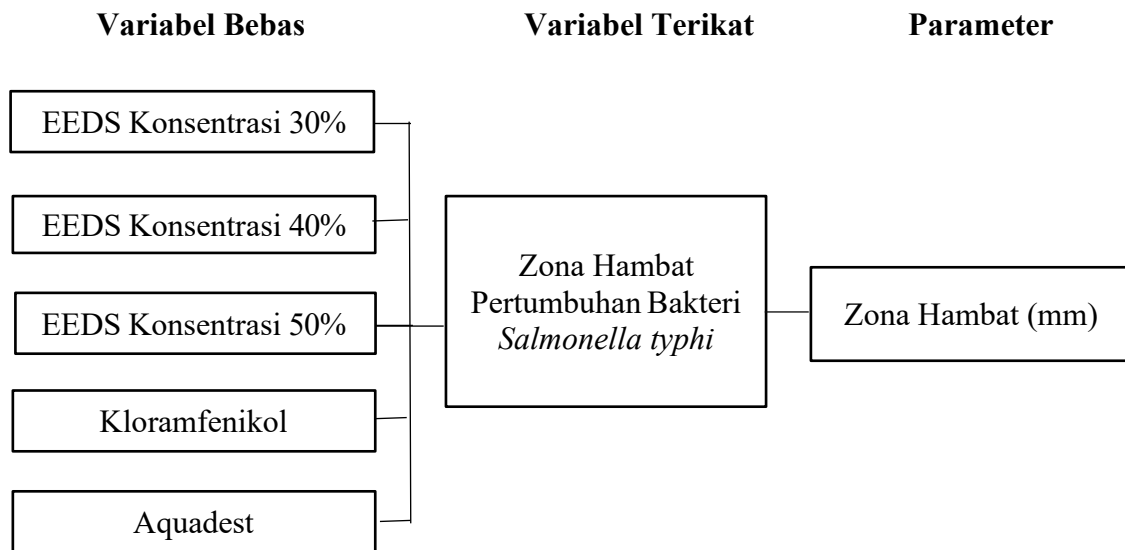
c. Infusa

Infusa adalah bentuk sediaan cair yang diperoleh dengan mengekstraksi simplisia nabati menggunakan air panas. Proses ini dilakukan dengan cara merendam simplisia pada suhu sekitar 90°C selama kurang lebih 15 menit (Ambarwati, 2018). Metode ini lazim dipakai untuk bahan dengan tekstur jaringan lunak, seperti bunga dan daun, karena kedua jenis jaringan tersebut mengandung minyak atsiri serta senyawa lain yang mudah rusak jika terkena pemanasan terlalu lama. Dengan demikian, infusa dipandang sesuai untuk simplisia yang sensitif terhadap suhu tinggi dan hanya memerlukan waktu ekstraksi yang relatif singkat.

d. Destilasi

Destilasi merupakan suatu teknik pemisahan komponen dalam campuran cair berdasarkan perbedaan titik didih antar-zat penyusunnya. Prinsip kerja metode ini adalah bahwa cairan dengan titik didih lebih rendah akan menguap terlebih dahulu ketika dipanaskan. Uap yang terbentuk kemudian diarahkan menuju sistem pendingin, sehingga mengalami kondensasi dan terkumpul sebagai destilat terpisah dari fraksi yang memiliki titik didih lebih tinggi (Tania, 2018). Dalam bidang farmasi dan bahan alam, destilasi paling sering dimanfaatkan untuk memperoleh minyak atsiri dari berbagai tumbuhan. Proses ini memungkinkan pemisahan senyawa volatil secara efektif tanpa banyak mengubah struktur kimianya.

I. Kerangka Konsep



Gambar 5. Kerangka Konsep

Keterangan:

EEDS = Ekstrak Etanol Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.)

J. Defenisi Operasional

Adapun definisi oprasional dari kerangka konsep pada penelitian ini adalah:

1. **Ekstrak etanol daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.)** dalam penelitian ini didefinisikan sebagai sediaan hasil proses ekstraksi simplisia dengan pelarut etanol, yang berfungsi sebagai bahan uji dengan potensi aktivitas antibakteri.
2. Bakteri *Salmonella typhi* yang digunakan merupakan mikroorganisme target uji, sehingga seluruh pengujian difokuskan untuk menilai respons bakteri tersebut terhadap perlakuan ekstrak maupun kontrol.
3. Zona hambat diartikan sebagai area bening yang terbentuk di sekeliling cakram kertas yang telah diberi ekstrak atau kontrol, yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri melalui penghambatan pertumbuhan koloni bakteri pada media.
4. Daya hambat merujuk pada tingkat kemampuan suatu zat antibakteri untuk menekan atau menghentikan perkembangan bakteri target, yang dalam penelitian ini ditentukan berdasarkan ukuran diameter zona hambat.
5. Kloramfenikol berfungsi sebagai kontrol positif, yaitu pembanding standar

yang digunakan untuk memastikan validitas pengujian, karena antibiotik ini sudah terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi*.

6. Aquadest dipakai sebagai kontrol negatif, dengan tujuan untuk menunjukkan bahwa pelarut murni tanpa kandungan bahan aktif tidak memberikan efek penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri.

K. Hipotesis

Ekstrak etanol daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.) memiliki potensi aktivitas antibakteri yang mampu menekan pertumbuhan bakteri patogen, khususnya *Salmonella typhi*, melalui mekanisme penghambatan perkembangan koloni pada media kultur.