

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Tanaman Tembakau (*Nicotiana tabacum L.*)

II.1.1 Deskripsi *Nicotiana tabacum L.*

Tembakau merupakan salah satu jenis tanaman yang sangat dikenal di kalangan masyarakat Indonesia. Kegunaan tembakau dikenal masyarakat terutama sebagai bahan baku dalam pembuatan rokok. Di kalangan ibu-ibu yang ada di pedesaan, tembakau juga sering digunakan sebagai kunyahan. Selain itu, tembakau juga menjadi komoditas perdagangan dari perkebunan dan memiliki peranan yang strategis karena termasuk salah satu sumber bagi pemasukan negara. Namun disamping itu tembakau juga memiliki risiko kesehatan karena mengandung bahan kimia, salah satunya nikotin yang bersifat racun dan dapat menyebabkan ketergantungan (Indriana 2016, hlm.92).



Sumber: Batoro & Ekowati 2017, hlm.28

Gambar 1 Tanaman Tembakau (*Nicotiana tabacum L.*)

II.1.2 Taksonomi *Nicotiana tabacum L.*

Taksonomi *Nicotiana tabacum L.* disusun sebagai berikut (Integrated Taxonomic Information System, US Government, 2017).

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Sub Kingdom	: <i>Viridiplantae</i>
Infra Kingdom	: <i>Streptophyta</i>
Super Divisi	: <i>Embryophyta</i>
Divisi	: <i>Tracheophyta</i>
Sub Divisi	: <i>Spermatophytina</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Super Ordo	: <i>Asteranae</i>
Ordo	: <i>Solanales</i>
Famili	: <i>Solanaceae</i>
Genus	: <i>Nicotiana L.</i>
Spesies	: <i>Nicotiana tabacum L.</i>

II.1.3 Bagian-bagian Tanaman Tembakau

Tanaman tembakau mempunyai bagian-bagian sebagai berikut:

a. Akar

Akar tanaman tembakau termasuk akar tunggang yang memiliki panjang 50-75 cm. Akar tunggang tumbuh ke dalam tanah dan pada sisinya tumbuh akar-akar kecil yang merupakan akar serabut. Tanah yang gembur, subur dan mudah menyerap air mendukung pertumbuhan akar tembakau dengan baik (Puspita 2011, hlm.3).

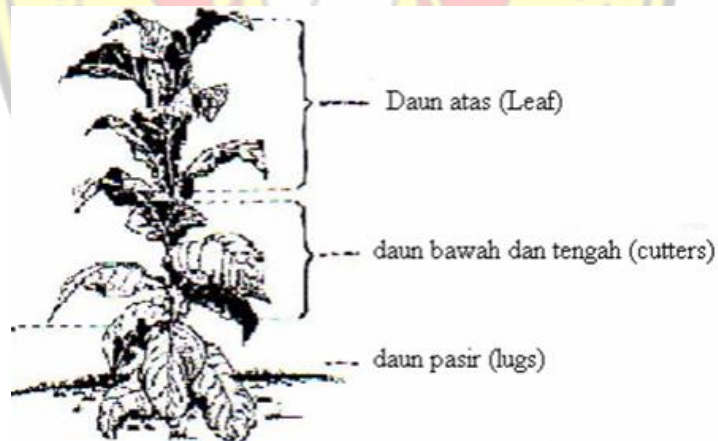
b. Batang

Batang tanaman tembakau agak bulat, lunak, kuat, makin ke ujung makin kecil. Ruas batang mengalami penebalan yang ditumbuhi daun, dan batang tanaman tidak atau sedikit bercabang. Pada setiap ruas batang tumbuh daun dan ketiak daun. Fungsi batang adalah tempat tumbuh daun dan organ lainnya, tempat jalan pengangkutan zat hara dari akar ke daun, dan sebagai jalan menyalurkan zat hasil asimilasi ke seluruh bagian tanaman (Susilowati 2006, hlm.7).

c. Daun

Menurut Susilowati (2006, hlm.8), bentuk daun tembakau adalah bulat lonjong, ujungnya meruncing, tulang daun yang menyirip, bagian tepi daun agak bergelombang dan licin. Daun bertangkai melekat pada batang, kedudukan daun mendatar atau tegak. Daun tembakau tersusun atas lapisan palisade parenkim pada bagian atasnya dan spons parenkim pada bagian bawah. Jumlah daun dalam satu tanaman berkisar 28–32 helai, tumbuh berselang–seling mengelilingi batang tanaman.

- 1) Daun tembakau cerutu diklasifikasikan menurut letaknya pada batang, yang dimulai dari bawah ke atas dibagi menjadi 4 kelas yakni daun pasir, kaki, tengah, atas.
- 2) Daun tembakau Virginia pada dasarnya dibagi menjadi 4 kelas, yakni daun pasir, bawah dan tengah, atas, dan pucuk. Bagian dari daun tembakau Virginia yang mempunyai nilai tertinggi adalah daun bawah dan tengah.



Sumber: Susilowati 2006, hlm.9

Gambar 2 Letak Daun Tembakau *Nicotiana tabacum* L. varietas Virginia

d. Bunga

Bunga bersifat majemuk, terdiri dari beberapa tandan yang masing-masing berisi 15 bunga. Bunga berbentuk terompet, panjang, terletak di

ujung tanaman, berwarna merah di bagian atas dan putih di bagian lainnya (Puspita 2011, hlm.3).

e. Buah

Buah tembakau tumbuh setelah tiga minggu penyerbukan. Buah tembakau berbentuk lonjong, kecil berisi biji yang sangat ringan, biji digunakan untuk perkembangbiakan tanaman (Puspita 2011, hlm.4).

II.1.4 Jenis Tembakau

Menurut Susilowati (2006, hlm.10), terdapat beberapa jenis tembakau seperti tembakau cerutu dan tembakau sigaret. Tembakau cerutu digunakan untuk mengisi rokok cerutu. Tembakau sigaret digunakan untuk mengisi rokok sigaret dan rokok kretek. Tembakau sigaret dibagi menjadi beberapa tipe seperti tembakau Virginia, Oriental dan Burley.

II.1.5 Kandungan Senyawa Tanaman Tembakau

Tembakau mengandung 2.500 zat kimia. Setelah mengalami pembakaran, 1.100 zat akan diturunkan menjadi asap tanpa perubahan dan 1.400 zat lainnya akan terpecah. Komponen yang terpecah tersebut akan mengalami reaksi dan membentuk 4.800 komponen kimia di dalam asap rokok (Tirtosastro & Murdiyati 2010, hlm.33).

Tabel 1 Kandungan Kimia Tembakau

Golongan	Kandungan (%)	Dampak Terhadap Mutu Rokok
Selulosa	7-16	+
Gula	0-22	+
Trigliserida	1	-
Protein	3,5-20	-
Nikotin	0,6-5,5	+
Pati	2-7	-
Abu (Ca, K)	9-25	+
Bahan Organik	7-25	+/-
Lilin	2,5-8	+
Pektinat, Polifenol, Flavonoid, Karotenoid, Minyak Atsiri, Parafin, Sterin, dan lain-lain.	7-12	+/-

Sumber: Tirtosastro & Murdiyati 2010, hlm.35

II.1.6 Mekanisme Kerja Fitokimia Dalam Ekstrak Daun Tembakau Sebagai Antibakteri

Hasil penapisan kandungan kimia yang dilakukan oleh Puspita (2011, hlm.19) menunjukkan bahwa ekstrak daun tembakau mempunyai empat kandungan senyawa kimia, yaitu senyawa nikotin yang tergolong alkaloid, flavonoid, serta terpenoid dan steroid yang tergolong ke dalam minyak atsiri.

a. Alkaloid

Mekanisme kerja alkaloid adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri. Terganggunya pembentukan peptidoglikan sebagai komponen dinding sel bakteri membuat lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh sehingga menyebabkan kematian sel (Permatasari dkk. 2013, hlm.168). Selain itu, senyawa aromatik yang terkandung dalam alkaloid menyebabkan terbentuknya ikatan dengan DNA bakteri sehingga sintesis DNA bakteri terganggu (Ningsih dkk. 2013, hlm.211).

b. Flavonoid

Mekanisme kerja dari flavonoid adalah dengan cara berikatan pada protein membran sel sehingga menimbulkan kerusakan membran sel. Rusaknya membran sel berakibat pada terganggunya integritas membran sel bakteri sehingga menyebabkan terganggunya pertumbuhan sel bakteri dan kematian bakteri (Putri dkk. 2014, hlm.30).

c. Terpenoid

Terpenoid yang merupakan senyawa dari golongan minyak atsiri yang memiliki kemampuan antibakteri. Minyak atsiri menghambat kerja enzim yang terlibat dalam produksi energi dan mengubah komposisi penyusun dinding sel akibat adanya akumulasi komponen lipofilik, sehingga mengganggu pembentukan dinding sel. Di dalam minyak atsiri juga terkandung fenol yang dalam kadar tinggi dapat menyebabkan danutransi protein serta menyebabkan sel bakteri lisis (Puspita 2011, hlm.24).

d. Steroid

Steroid yang merupakan senyawa dari golongan minyak atsiri yang memiliki kemampuan antibakteri. Minyak atsiri menghambat kerja enzim yang terlibat dalam produksi energi dan mengubah komposisi penyusun dinding sel akibat adanya akumulasi komponen lipofilik, sehingga mengganggu pembentukan dinding sel. Di dalam minyak atsiri juga terkandung fenol yang dalam kadar tinggi dapat menyebabkan danutransi protein serta menyebabkan sel bakteri lisis (Puspita 2011, hlm.24).

II.1.7 Manfaat Tanaman Tembakau

Tanaman tembakau kegunaannya selama ini diketahui sebagai bahan baku pembuatan rokok. Namun tembakau juga memiliki beberapa manfaat seperti:

a. Efek Sebagai Antibakteri

Tanaman tembakau mempunyai kandungan kimia yang dapat berfungsi sebagai antibakteri. Aktivitas *in vitro* pada ekstrak daun tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) menunjukkan adanya aktivitas antibakteri

terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Bacillus amyloiquifaciens*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli* (Sharma dkk. 2016, hlm.1166).

b. Efek Sebagai Antifungi

Tanaman tembakau mempunyai kandungan kimia yang dapat berfungsi sebagai antifungi. Aktivitas *in vitro* pada ekstrak daun tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) menunjukkan adanya aktivitas antifungi terhadap jamur *Candida albicans* (Fatimah 2016, hlm.6).

c. Bioinsektisida

Tanaman tembakau mempunyai kandungan kimia yang dapat berfungsi sebagai bioinsektisida. Ekstrak daun tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) menunjukkan adanya aktivitas bioinsektisida terhadap penggerek batang padi *Scirpophaga innotata* (Susilowati 2006, hlm.53).

II.2 Bakteri

Bakteri merupakan mikroorganisme yang tergolong ke dalam prokariota, yang strukturnya lebih sederhana daripada eukariota kecuali dalam hal dinding selnya. Dinding sel prokariota lebih kompleks dibandingkan dengan eukariota. Secara garis besar, struktur bakteri dibagi empat bagian antara lain inti sel atau nukleus, sitoplasma, membran sitoplasma dan dinding sel. Di dalam inti sel terkandung kromosom yang berperan dalam ekspresi gen. Di dalam sitoplasma terdapat granul-granul sitoplasma sebagai tempat cadangan makanannya. Membran sitoplasma terdiri dari fosfolipid dan protein. Membran sitoplasma berfungsi dalam transport makanan serta transport elektron. Selain ketiga struktur tersebut, bakteri juga memiliki kapsul, flagel, pili, serta endospora untuk melindungi bakteri dari keadaan lingkungan yang buruk (Syahrurachman dkk. 2010, hlm.24-27).

Struktur dinding luar bakteri terdiri dari flagella, pili, kapsul dan dinding sel. Flagella merupakan organela pergerakan yang diselubungi oleh membran dengan panjang dan diameter yang sama, dimiliki oleh beberapa bakteri patogen untuk bergerak bebas dan cepat (pergerakan berenang). Pili merupakan tonjolan yang ada pada dinding bakteri yang berfungsi sebagai alat untuk melekat pada

permukaan dan proses konjugasi. Kapsul terdiri dari lapisan mukoid yang berfungsi melindungi bakteri. Dinding sel mempunyai struktur yang terdiri dari lipoprotein, lipopolisakarida dan peptidoglikan (eds Carroll dkk. 2016, hlm.23).

II.2.1 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Bakteri

Pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti (eds Carroll dkk. 2016, hlm.71):

a. Nutrien

Sebagai pengantar semua bahan yang diperlukan sel, bakteri memerlukan air. Karbon dioksida diperlukan dalam reaksi biosintesis. Nitrogen yaitu komponen utama protein dan asam. Sulfur merupakan komponen dari banyak substansi organik sel. Fosfat diperlukan sebagai komponen ATP, asam nukleat dan sejumlah koenzim. Sumber mineral diperlukan untuk fungsi enzim.

b. Aerasi

Banyak organisme merupakan obligat aerob, yang secara spesifik membutuhkan oksigen. Beberapa bersifat fakultatif, mampu hidup secara aerob atau secara anaerob dan memerlukan zat selain oksigen.

c. pH

Sebagian besar organisme memiliki kisaran pH optimal yang sempit dan paling baik tumbuh pada pH 6,0-8,0. Beberapa bentuk asidofil mempunyai pH optimal 3,0 dan alkalifil memiliki pH optimal 10,5.

d. Temperatur

Spesies mikroba yang berbeda membutuhkan suhu optimal yang amat beragam untuk pertumbuhannya. Sebagian besar organisme merupakan mesofilik, 30°C adalah suhu optimal untuk berbagai bentuk mikroba yang hidup bebas.

e. Tekanan Osmotik dan Kekuatan Ionik

Tekanan osmotik dan konsentrasi garam harus dapat dikendalikan. Terdapat organisme yang memerlukan konsentrasi garam tinggi (halofilik) dan organisme yang memerlukan tekanan osmotik tinggi (osmofilik). Sebagian besar mikroorganisme mampu mentoleransi

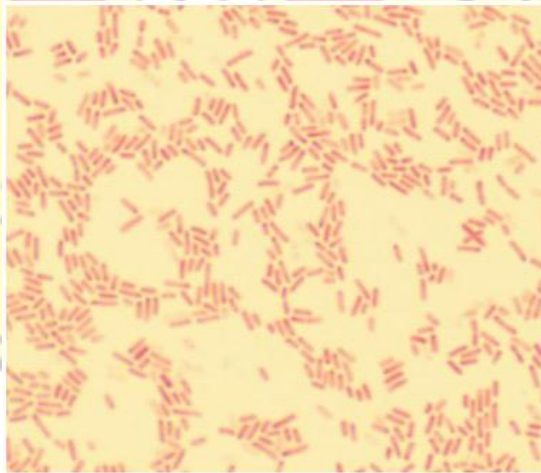
tekanan dan kekuatan ionik eksternal yang sangat bervariasi karena kemampuannya untuk mengatur osmolalitas dan konsentrasi ion internal.

II.3 Bakteri Uji

II.3.1 *Pseudomonas aeruginosa*

II.3.1.1 Deskripsi

Pseudomonasa aeruginosa adalah bakteri Gram negatif yang berbentuk batang, motil dan bersifat aerob. *P.aeruginosa* tersebar luas di tanah dan air. Sering terdapat dalam flora normal usus dan pada kulit manusia dalam jumlah kecil serta merupakan patogen utama dari kelompoknya. Bakteri ini dapat membentuk koloni pada manusia normal dan bertindak sebagai saprofit. *Pseudomonas aeruginosa* bersifat invasif dan toksigenik, menyebabkan infeksi pada pasien dengan daya tahan tubuh yang abnormal dan merupakan patogen nosokomial yang penting (eds Carroll dkk. 2016, hlm.245).



Sumber: eds Carroll dkk.2016, hlm.246

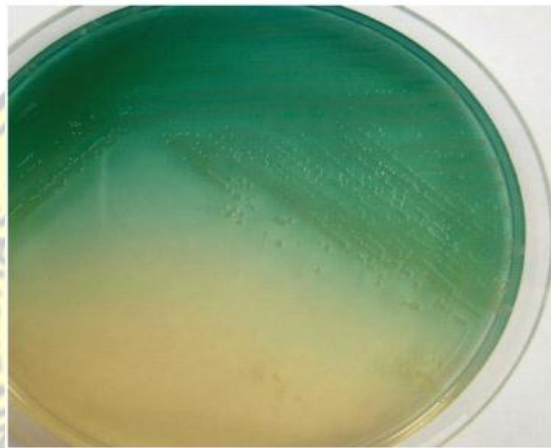
Gambar 3 Identifikasi Mikroskopis *P.aeruginosa* dengan Pewarnaan Gram

II.3.1.2 Morfologi

Pseudomonas aeruginosa adalah bakteri Gram negatif berukuran 0,5 – 1 μm x 3 – 4 μm , memiliki flagel polar, dapat sampai berjumlah 2 hingga 3 flagel. Pada perbenihan sukrosa dapat tumbuh lapisan polisakarida ekstraseluler. Mudah

beradaptasi dengan 80 gugus organik yang berbeda dan amonia sebagai sumber nitrogen. Pertumbuhan optimal *P.aeruginosa* pada suhu 35-42°C. Pigmen yang dihasilkan *P.aeruginosa* antara piosianin, yaitu pigmen yang larut dalam kloroform, dan fluoresen, yaitu pigmen yang larut dalam air (Syahrurachman dkk. 2010, hlm.212).

Pseudomonas aeruginosa bersifat obligat aerob yang dapat tumbuh dengan mudah pada banyak jenis medium biakan, membentuk koloni bulat halus dengan fluoresensi kehijauan. Bersifat oksidase positif dan tidak memfermentasi karbohidrat (eds Carroll dkk. 2016, hlm.245).



Sumber: eds Carroll dkk. 2016, hlm.246

Gambar 4 Koloni *P.aeruginosa* Pada Mueller Hinton Agar

II.3.1.3 Taksonomi

Secara taksonomi, *P.aeruginosa* diklasifikasikan sebagai berikut (Todar, 2008):

Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Filum	: <i>Proteobacteria</i>
Kelas	: <i>Gamma Proteobacteria</i>
Ordo	: <i>Pseudomonadales</i>
Famili	: <i>Pseudomonadaceae</i>
Genus	: <i>Pseudomonas</i>
Spesies	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>

II.3.1.4 Struktur Antigen

Pseudomonas aeruginosa memiliki pili (fimbriae) yang menjulur dari permukaan selnya dan membantu perlekatan pada sel epitel pejamu. *Pseudomonas aeruginosa* memiliki antigen O atau antigen somatik. Lipopolisakarida (LPS) pada dinding sel *P.aeruginosa* memiliki komponen lipid-A yang terhubung dengan antigen O. Antigen O ini bersifat imunogenik. Antigen O pada *P.aeruginosa* terdiri dari 2 bentuk, antara lain pita A yang homopolimer dan pita B yang heteropolimer. Pita B yang terhubung pada LPS memiliki proteksi yang tinggi terhadap neutrofil dibandingkan dengan pita A (Rocchetta dkk. 1999, hlm.525). Peran LPS dan antigen O tersebut penting dalam patogenesis infeksi yang disebabkan *P.aeruginosa*. Selain itu, *P.aeruginosa* juga memiliki lapisan lendir yang bersifat imunogenik dan memproteksi sel kuman (Syahrurachman dkk. 2010, hlm.213).

II.3.1.5 Enzim dan Toksin

Sebagian besar isolat *Pseudomonas aeruginosa* yang berasal dari infeksi klinis menghasilkan enzim ekstraseluler termasuk elastase, protease dan dua hemolisin antara lain fosfolipase C tidak tahan panas dan glikolipid tahan panas. *Pseudomonas aeruginosa* menghasilkan eksotoksin A yang menyebabkan terhambatnya sintesis protein melalui suatu mekanisme kerja. Toksin tersebut memiliki cara kerja yang mirip dengan toksin difteri. Apabila ikatan disulfida terpecah, maka akan terbentuk dua fragmen menjadi fragmen A dan fragmen B. Fragmen A akan menginaktivasi faktor elongasi EF-2 yang diperlukan untuk translokasi RNA transfer polipeptidil pada ribosom, sehingga membuat pemanjangan terhadap rantai polipeptida menjadi terhambat. Fragmen B tidak memiliki aktivitas yang bebas, tetapi dibutuhkan untuk transportasi fragmen A. Sintesis protein yang dapat berhenti secara mendadak dapat menimbulkan nekrosis jaringan (eds Carroll dkk. 2016, hlm.246).

II.3.1.6 Patogenesis dan Infeksi

Pseudomonas aeruginosa bersifat patogenik hanya bila terpajan pada daerah yang tidak terdapat pertahanan tubuh yang normal, misalnya apabila membran

mukosa dan kulit rusak akibat kerusakan jaringan langsung pada penggunaan kateter intravena atau urin. Bakteri ini menempel dan membentuk koloni pada membran mukosa atau kulit, menginvasi secara lokal dan menyebabkan penyakit sistemik. Lipopolisakarida yang dimiliki oleh bakteri ini berperan langsung dalam menyebabkan demam, syok, oliguria, leukositosis dan leukopenia (eds Carroll dkk. 2016, hlm.247).

II.3.2 *Escherichia coli*

II.3.2.1 Deskripsi

Escherichia coli merupakan kelompok batang Gram negatif, bersifat fakultatif aerob atau anaerob. Pada biakan akan membentuk koloni yang sirkular, konveks, dan halus dengan tepi yang tegas. *Escherichia coli* secara khas menunjukkan hasil positif pada tes indol, lisin dekarboksilase, dan fermentasi manitol. Morfologi koloni khas dengan warna pelangi yang berkilau pada medium *Eosin Methylene Blue* atau agar EMB (eds Carroll dkk. 2016, hlm.232).



Sumber: eds Carroll dkk. 2016, hlm.232

Gambar 5 Identifikasi Mikroskopis *E.coli* dengan Pewarnaan Gram

II.3.2.2 Morfologi

Escherichia coli batang Gram negatif yang pendek (kokobasil) berukuran 0,4-0,7 μm x 1,4 μm . *E.coli* bergerak aktif, dan beberapa darinya memiliki kapsul

(Syahrurachman dkk. 2010, hlm.195). Morfologi yang khas terlihat pada pertumbuhan di medium padat *in vitro* membentuk koloni yang sirkular, konveks, dan halus dengan tepi yang tegas. *Escherichia coli* khas menunjukkan hasil positif pada tes indol, lisin dekarboksilase, dan fermentasi manitol, serta menghasilkan gas dari glukosa. Morfologi koloni khas dengan warna pelangi yang berkilau pada agar EMB (eds Carroll dkk. 2016, hlm.232).

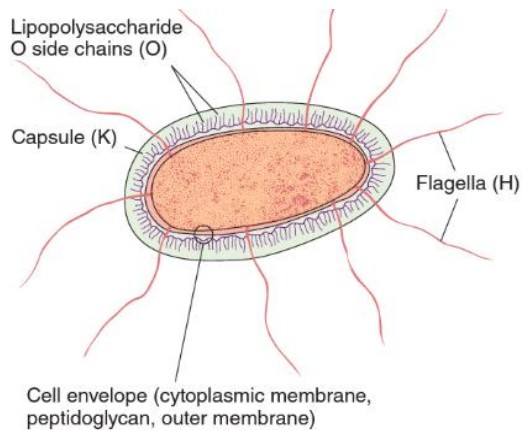
II.3.2.3 Taksonomi

Secara taksonomi, *E.coli* diklasifikasikan sebagai berikut (Todar, 2008):

Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Filum	: <i>Proteobacteria</i>
Kelas	: <i>Gamma Proteobacteria</i>
Ordo	: <i>Enterobacteriales</i>
Famili	: <i>Enterobacteriaceae</i>
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>

II.3.2.4 Struktur Antigen

Escherichia coli memiliki struktur antigen kompleks yaitu, antigen somatik O (liposakarida) yang tahan panas, antigen K (kapsular) yang tidak tahan panas, dan antigen H (flagel). Saat ini telah ditemukan 150 tipe antigen O, 90 tipe antigen K dan 50 tipe antigen H. *Escherichia coli* memiliki dua tipe fimbriae pada antigen permukaannya, antara lain tipe manosa sensitif yaitu pili, dan tipe manosa resisten. Tipe-tipe fimbriae tersebut berfungsi sebagai perlekatan kuman pada sel pejamu (Syahrurachman dkk. 2010, hlm.196).



Sumber: eds Carroll dkk. 2016, hlm.232

Gambar 6 Struktur Antigen Famili *Enterobacteriaceae*

II.3.2.5 Enzim dan Toksin

Escherichia coli memiliki enzim seperti protease sehingga bersifat patogen terhadap manusia (Otto dkk. 2002, hlm.5). Sebagian besar bakteri Gram negatif memiliki lipopolisakarida kompleks di dinding selnya. Zat ini disebut endotoksin (eds Carroll dkk. 2016, hlm.233). Endotoksin yang dimiliki *E.coli* adalah enterotoksin. Terdapat dua macam enterotoksin yang telah berhasil diisolasi dari *E.coli* antara lain toksin LT yang termolabil dan toksin ST yang termostabil (Syahrurachman dkk. 2010, hlm.196).

II.3.2.6 Patogenesis dan Infeksi

Menurut eds Carroll dkk. (2016, hlm.234), *Escherichia coli* adalah flora normal usus, saluran nafas atas dan saluran genital yang ditemukan dalam jumlah kecil. Bakteri menjadi patogen bila berada diluar jaringan yang termasuk dalam flora normalnya. Manifestasi klinis infeksi *E.coli* tergantung pada tempat infeksi, berupa:

a. Infeksi Saluran Kemih

Escherichia coli adalah penyebab utama infeksi saluran kemih pada sekitar 90% kasus. Gejala klinis berupa sering berkemih, disuria, hematuria, dan piuria.

b. Penyakit Diare

Escherichia coli yang menyebabkan diare sangat banyak ditemukan di seluruh dunia. *Escherichia coli* diklasifikasikan berdasarkan karakteristik sifat virulensinya dan masing-masing kelompok menyebabkan penyakit melalui mekanisme yang berbeda.

c. Meningitis

Escherichia coli merupakan penyebab meningitis pada bayi. Kira-kira 75% *E. coli* dari kasus meningitis mempunyai antigen K1. Antigen ini bereaksi silang dengan polisakarida dari *N. meningitidis*. Mekanisme virulensi yang berhubungan dengan antigen K1 belum diketahui.

d. Sepsis

Bila pertahanan pejamu tidak adekuat, *E. coli* dapat masuk ke peredaran darah dan menyebabkan sepsis. Neonatus sangat rentan terhadap sepsis *E. coli* karena sedikitnya kadar antibodi IgM.

II.4 Uji Antibakteri

II.4.1 Antibakteri

Antibakteri adalah suatu zat yang melawan bakteri, sering diungkapkan dengan istilah bakterisid dan bakteristatik. Bakterisid berarti bahwa obat antibakteri dapat menyebabkan kematian sel bakteri, dan bakteristatik berarti bahwa obat antibakteri menyebabkan hambatan terhadap pertumbuhan sel bakteri. Antibakteri yang baik memiliki sifat toksisitas selektif yaitu dapat mengganggu kehidupan bakteri namun tidak mengganggu sel inang (ed. Agoes 1995, hlm.699).

II.4.2 Mekanisme Antibakteri

Antibakteri bekerja dengan empat cara, antara lain melalui toksisitas selektif, inhibisi sintesis dan fungsi membran sel, inhibisi sintesis protein, atau melalui inhibisi sintesis asam nukleat.

a. Toksisitas Selektif

Toksisitas selektif berarti obat antimikroba tersebut berbahaya bagi patogen tetapi tidak terhadap pejamu. Dalam kadar tertentu, obat

tersebut ditoleransi oleh pejamu dan merusak mikroba (eds Carroll dkk. 2016, hlm.363).

b. Inhibisi Sintesis dan Fungsi Membran Sel

Sitoplasma semua sel yang hidup diikat oleh membran sitoplasma, yang bekerja sebagai barrier permeabilitas selektif, berfungsi sebagai transport aktif, sehingga mengontrol komposisi internal sel. Jika fungsional membran sitoplasma terganggu, makromolekul, dan ion dapat keluar dari sel sehingga dapat menyebabkan kerusakan atau kematian sel (eds Carroll dkk. 2016, hlm.363).

c. Inhibisi Sintesis Protein

Sintesis protein bakteri berlangsung di dua subunit ribosom yakni subunit 30S dan 50S dengan bantuan mRNA dan tRNA. Selanjutnya kedua subunit akan bersatu pada pangkal rantai mRNA menjadi ribosom 70S. Beberapa antimikroba berikatan dengan subunit ribosom 30S dan 50S sehingga mengganggu translasi dan transkripsi bahan genetik pada sintesis protein (eds Carroll dkk. 2016, hlm.363).

d. Inhibisi Sintesis Asam Nukleat

Beberapa antimikroba bekerja pada asam nukleat baik melalui ikatan dengan menghambat enzim DNA girase dan enzim topoisomerase IV sehingga replikasi DNA akan terganggu (Kayser dkk. 2005, hlm.198).

II.4.3 Metode Pengukuran Antibakteri

II.4.3.1 Metode Difusi

Menurut Prayoga (2013, hlm.8-9), metode difusi adalah metode yang tujuannya melihat aktivitas antibakteri dengan cara meletakkan zat antimikroba dalam lempeng agar yang telah diinokulasi dengan bakteri uji, sehingga zat antimikroba berdifusi dan menghambat pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan zona bening disekeliling zat antimikroba. Metode difusi dibagi menjadi 3 macam, antara lain:

a. Metode Difusi Cakram (tes Kirby & Bauer)

Metode ini adalah yang paling sering digunakan. Kertas cakram yang mengandung konsentrasi zat antimikroba ditempatkan diatas permukaan

medium padat yang telah diinokulasi dengan bakteri uji. Media tersebut kemudian diinkubasi 37°C selama 24 jam. Selanjutnya diamati adanya zona inhibisi dengan ciri area (zona) jernih di sekitar kertas cakram yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba.

b. Cara Parit (*ditch*)

Metode ini adalah dengan membentuk parit pada lempeng agar yang telah diinokulasi dengan bakteri uji. Parit yang telah terbentuk kemudian diisi dengan zat antimikroba lalu diinkubasi dengan suhu dan waktu yang sesuai dengan bakteri uji. Selanjutnya diamati adanya zona inhibisi dengan ciri area (zona) jernih di sekitar parit yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba.

c. Cara Sumuran (*hole/cup*)

Metode ini adalah dengan membentuk lubang pada lempeng agar yang telah diinokulasi dengan bakteri uji. Lubang yang telah terbentuk kemudian diisi dengan zat antimikroba lalu diinkubasi dengan suhu dan waktu yang sesuai dengan bakteri uji. Selanjutnya diamati adanya zona inhibisi dengan ciri area (zona) jernih di sekitar lubang yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba.

II.4.3.2 Metode Dilusi

Sejumlah zat antimikroba dimasukkan ke dalam medium bakteri padat atau cair. Biasanya digunakan pengenceran dua kali lipat zat antimikroba. Medium diinokulasi dengan bakteri yang diuji dan diinkubasi. Tujuan akhirnya untuk mengetahui seberapa banyak jumlah zat antimikroba yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri yang diuji. Uji ini membutuhkan waktu yang lama dan kegunaannya terbatas pada keadaan tertentu (eds Carroll dkk. 2016, hlm.77).

II.5 Ekstraksi

II.5.1 Definisi

Ekstrak adalah suatu larutan kental yang diperoleh dari campuran antara suatu tanaman obat dengan pelarutnya yang kemudian dipekatkan, dengan cara

menguapkan pelarutnya sehingga didapatkan didapatkan senyawa aktif tanaman obat tersebut (Badan POM RI 2005, hlm.5). Suatu proses untuk mendapatkan ekstrak dari tanaman obat tradisional disebut sebagai ekstraksi (Mukhriani 2014, hlm.361).

II.5.2 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Ekstraksi

Faktor –faktor yang dapat mempengaruhi ekstraksi diantaranya sebagai berikut (Prasetyo dkk. 2012, hlm.22-23):

a. Ukuran Bahan

Hasil ekstraksi lebih mudah didapatkan pada bahan dengan luas permukaan yang besar. Jika memiliki luas permukaan yang besar, kontak antara bahan yang akan diekstraksi dengan pelarut menjadi lebih mudah sehingga ekstraksi akan berlangsung dengan baik. Kehalusan bubuk yang sesuai menghasilkan ekstraksi yang sempurna dalam waktu singkat. Makin halus serbuk simplisia, proses ekstraksi makin efektif.

b. Lama dan Suhu Ekstraksi

Ekstraksi biasanya dilakukan pada kisaran suhu 20°C sampai 80°C (suhu yang digunakan di bawah titik didih pelarut). Semakin lama waktu ekstraksi, jumlah hasil ekstraksi semakin bertambah.

c. Jenis Pelarut

Pelarut dapat bersifat murni atau mengandung zat terlarut. Semakin lama proses ekstraksi, kadar pelarut semakin berkurang karena digunakan untuk melarutkan zat-zat terlarut dalam bahan. Ada dua jenis pelarut, antara lain sebagai berikut.

1) Air

Pelarut air relatif mudah didapatkan dan murah. Air bersifat stabil, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar dan tidak toksik. Senyawa dapat mengalami reaksi hidrolisis pada pelarut yang menggunakan air. Titik didihnya yang tinggi (100°C) tidak cocok untuk senyawa yang terurai pada suhu yang tinggi.

2) Pelarut Organik

Senyawa yang dilarutkan menggunakan pelarut organik tidak akan mengalami hidrolisis. Pelarut organik tidak akan ditumbuhi jamur. Titik didih pelarut organik relatif rendah. Harga relatif mahal serta beberapa pelarut organik bersifat toksik dapat terbakar seperti etanol, metanol, CHCl_3 , eter, dan heksan.

II.5.3 Metode Ekstraksi

Jenis-jenis metode ekstraksi yang dapat digunakan adalah sebagai berikut:

a. Metode Ekstraksi Dengan Cara Maserasi

Metode ini dilakukan dengan cara mencampurkan serbuk tanaman dan pelarut kemudian dimasukkan ke dalam wadah tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ini dilakukan hingga mencapai keseimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi zat pada tanaman. Setelah itu, dilakukan penyaringan untuk memisahkan pelarut pada sampel ekstraksi (Prasetyo dkk. 2012, hlm.19).

b. *Ultrasound - Assisted Solvent Extraction*

Metode ini adalah modifikasi dari metode maserasi yang menggunakan bantuan *ultrasound* frekuensi 20 KHz. Wadah yang berisi serbuk sampel ditempatkan dalam wadah *ultrasonic* dan *ultrasound* menyebabkan kerusakan sel. Rusaknya sel menyebabkan peningkatan kelarutan senyawa dalam pelarut dan menghasilkan hasil ekstraksi (Mukhriani 2014, hlm.362).

c. Metode Ekstraksi Dengan Cara Perkolasi

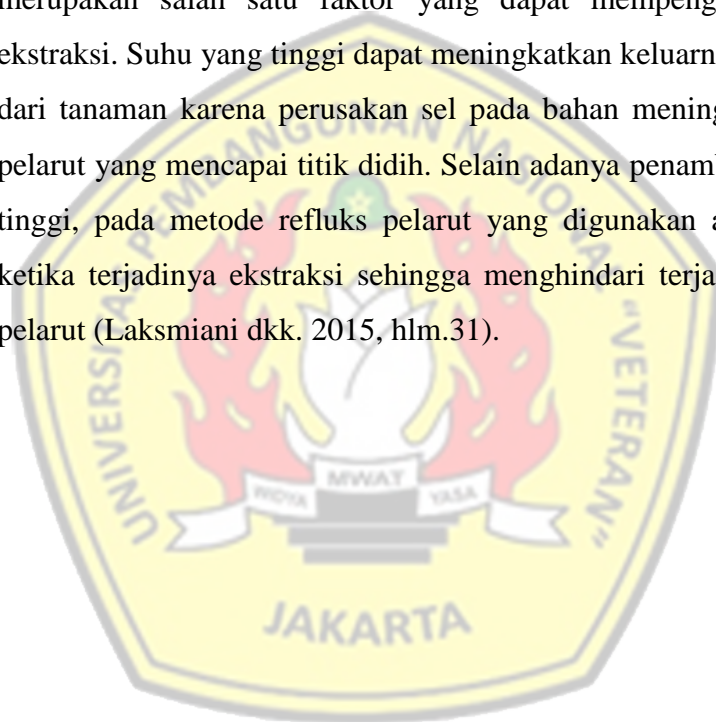
Pada metode ini menggunakan alat perkolator yang akan membasahi serbuk sampel dengan pelarut secara perlahan dan terus-menerus sehingga membutuhkan banyak pelarut (Mukhriani 2014, hlm.363).

d. Metode Ekstraksi Dengan Cara Soxletasi

Metode ini dilakukan dengan cara meletakkan serbuk sampel ekstraksi diatas kertas saring dalam klonsong yang berada di atas labu dan di bawah kondensor. Suhu diatur dibawah suhu refluks (Mukhriani 2014, hlm.363).

e. Metode Ekstraksi Dengan Cara Refluks

Metode ini dilakukan dengan cara memasukkan sampel bersama pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pemanasan dilakukan dengan menggunakan titik didih. Pada metode ini, uap mengalami kondensasi dan akan kembali ke dalam labu, sedangkan destilat terpisah sebagai bagian yang tidak bercampur bersama uap dan akan ditampung dalam wadah yang terhubung dengan kondensor. Pada metode ekstraksi menggunakan refluks, adanya penambahan panas hingga dapat membantu meningkatkan proses ekstraksi karena suhu merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi kecepatan ekstraksi. Suhu yang tinggi dapat meningkatkan keluarnya senyawa aktif dari tanaman karena perusakan sel pada bahan meningkat akibat suhu pelarut yang mencapai titik didih. Selain adanya penambahan suhu yang tinggi, pada metode refluks pelarut yang digunakan akan tetap segar ketika terjadinya ekstraksi sehingga menghindari terjadinya kejenuhan pelarut (Laksmiani dkk. 2015, hlm.31).

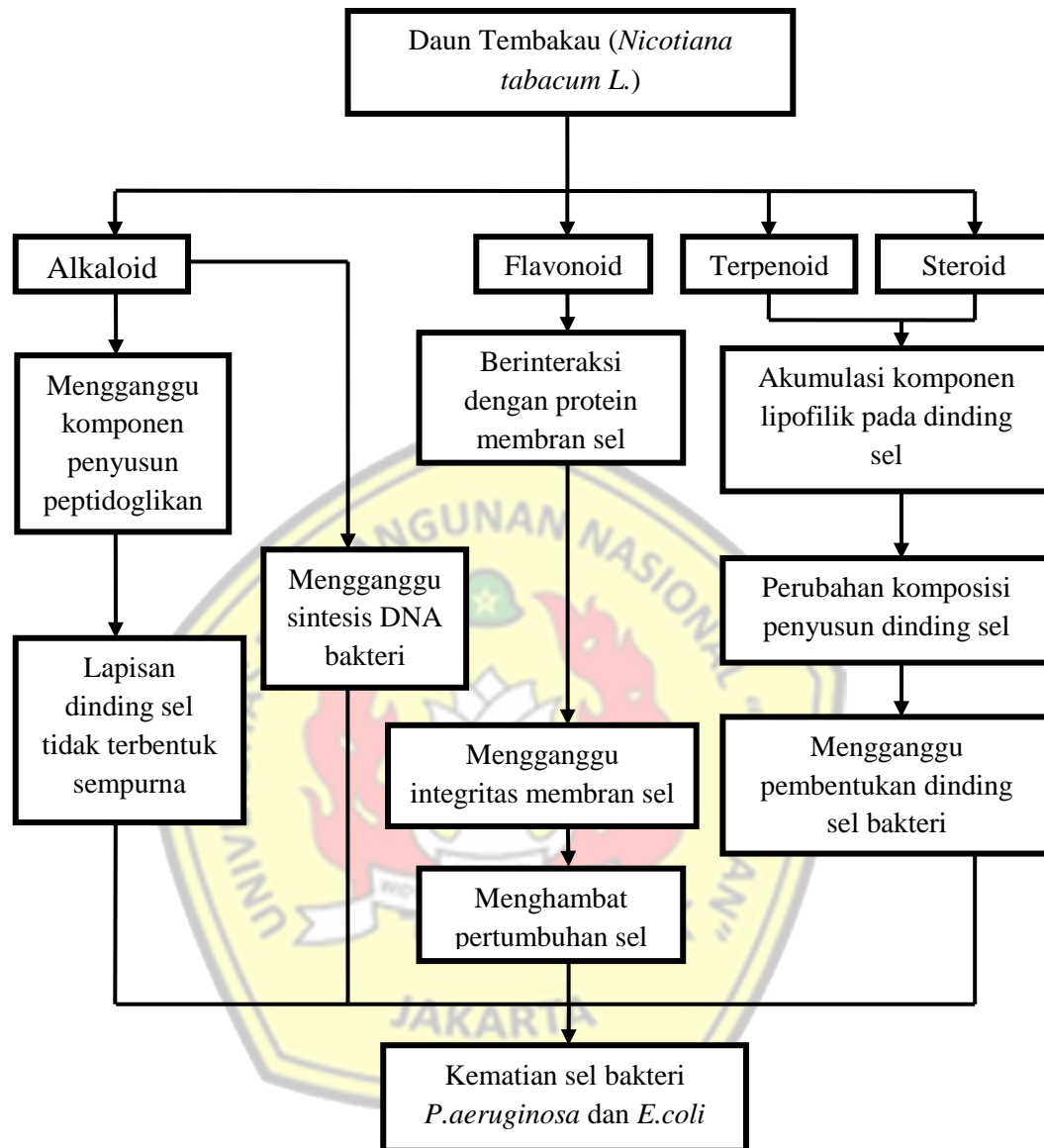


II.6 Penelitian yang Relevan

Tabel 2 Penelitian yang Relevan

No	Judul	Persamaan	Perbedaan
1	Aktivitas Antibakteri Ekstrak Tembakau Temanggung Varietas Genjah Kemloko (Puspita, 2011)	<ol style="list-style-type: none"> Ekstrak daun tembakau (<i>Nicotiana tabacum L.</i>). Mengetahui daya hambat ekstrak daun tembakau (<i>Nicotiana tabacum L.</i>) sebagai antibakteri terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i>. Konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%. 	<ol style="list-style-type: none"> Metode ekstraksi daun tembakau menggunakan metode soxletasi. Bakteri Gram positif <i>Staphylococcus aureus</i>. Daun tembakau diperoleh dari Temanggung.
2	Antibacterial Activity, Phytochemical Screening And Antioxidant Activity of Stem of <i>Nicotiana Tabacum</i> (Sharma dkk. 2016)	<ol style="list-style-type: none"> Mengetahui daya hambat ekstrak tembakau (<i>Nicotiana tabacum L.</i>) sebagai antibakteri terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i>, <i>Escherichia coli</i>. 	<ol style="list-style-type: none"> Bagian yang dijadikan ekstrak yaitu bagian batang tembakau. Bakteri Gram positif yaitu <i>Bacillus amyloquifaciens</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>. Metode soxletasi.
3	Daya Hambat Ekstrak Daun Tembakau terhadap Pertumbuhan Mikroba Rongga Mulut (Putri dkk. 2014)	<ol style="list-style-type: none"> Ekstrak daun tembakau (<i>Nicotiana tabacum L.</i>). Konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%. 	<ol style="list-style-type: none"> Metode ekstraksi dengan metode maserasi. Mikroorganisme uji <i>Streptococcus mutans</i>, <i>Porphyromonas gingivalis</i> dan <i>Candida albicans</i>.

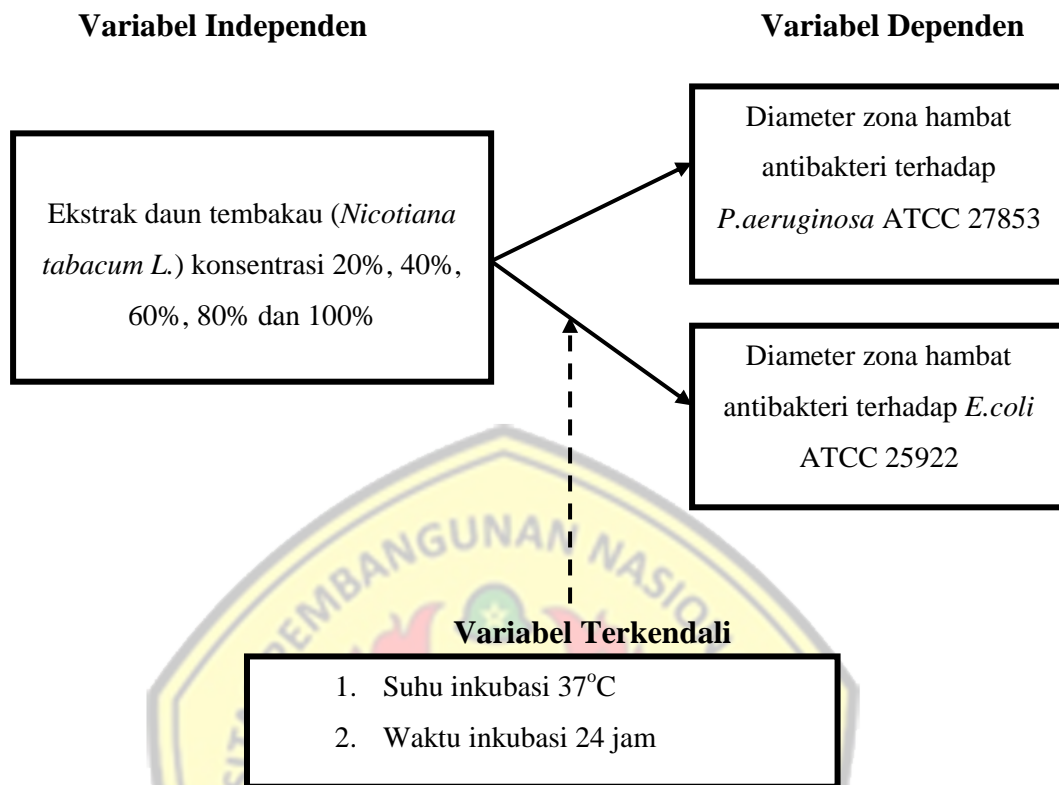
II.7 Kerangka Teori



Sumber : Modifikasi Permatasari dkk. 2013; Ningsih dkk. 2013; Putri dkk. 2014; Puspita, 2011

Bagan 1. Kerangka Teori

II.8 Kerangka Konsep



Bagan 2 Kerangka Konsep

Keterangan:

- >: Variabel mempengaruhi hasil penelitian secara langsung
- ->: Variabel mempengaruhi hasil penelitian secara tidak langsung dan dapat dikendalikan

II.9 Hipotesis Penelitian

Berikut adalah hipotesis penelitian pada masing-masing bakteri uji.

a. Bakteri Uji *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

H1: Ekstrak daun tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) mempunyai pengaruh sebagai antibakteri terhadap *P.aeruginosa* secara *in vitro*.

H2: Ekstrak daun tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) tidak mempunyai pengaruh sebagai antibakteri terhadap *P.aeruginosa* secara *in vitro*.

b. Bakteri Uji *Escherichia coli* ATCC 25922

H1: Ekstrak daun tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) mempunyai pengaruh sebagai antibakteri terhadap *E.coli* secara *in vitro*.

H2: Ekstrak daun tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) tidak mempunyai pengaruh sebagai antibakteri terhadap *E.coli* secara *in vitro*.

