

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Landasan Teori

2.1.1 *Escherichia coli*

2.1.1.1 Morfologi



Gambar 1 *Escherichia coli*.⁽¹²⁾

Escherichia coli merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang dengan ukuran berkisar antara 1.0-1.5 μm x 2.0-6.0 μm , tidak motil atau motil dengan flagela serta dapat tumbuh dengan atau tanpa oksigen, bersifat fakultatif anaerobik dan dapat tahan pada media yang miskin nutrisi. Karakteristik biokimia *Escherichia coli* lainnya adalah kemampuannya untuk memproduksi indol, kurang mampu memfermentasi sitrat, bersifat negatif pada analisis urease.⁽¹²⁾⁽¹³⁾

Bakteri *Escherichia coli* umum hidup di dalam saluran pencernaan manusia atau hewan. Secara fisiologi, *Escherichia coli* memiliki kemampuan untuk bertahan hidup pada kondisi lingkungan yang sulit. *Escherichia coli* tumbuh dengan baik di air tawar, air laut, atau di tanah.⁽¹³⁾

Escherichia coli memiliki waktu generasi sekitar 30 sampai 87 menit bergantung pada suhu. Waktu generasi merupakan waktu yang dibutuhkan bagi sel *Escherichia coli* untuk membelah diri menjadi dua kali lipat. Suhu optimum

bagi pertumbuhan *Escherichia coli* adalah 37°C dengan waktu generasi tersingkat, yaitu selama 30 menit.⁽¹³⁾

2.1.1.2 Taksonomi

Divisi : *Bacteria*
Filum : *Pro bacteria*
Kelas : *Gamma Pro bacteria*
Ordo : *Enterobacteriales*
Famili : *Enterobacteriaceae*
Genus : *Escherichia*
Spesies : *Escherichia coli*

2.1.1.3 Patogenesis

Patogenitas *Escherichia coli* patogen ditentukan berdasarkan faktor atau gen virulensi spesifik yang dimiliki bakteri tersebut. Gen virulensi ini terdapat pada kromosom atau plasmid indigenus atau pun berasal dari mikroorganisme lainnya. Dari enam jenis *Escherichia coli* patogen, masing-masing memiliki gen virulensi yang spesifik, tetapi beberapa diantaranya juga dapat memiliki faktor virulensi yang sama, seperti EPEC dan EHEC yang sama-sama memiliki intimin (suatu protein yang memungkinkan bakteri patogen untuk menempel pada usus dan menimbulkan luka). Maka mekanisme patogenesis yaitu:⁽¹³⁾

a. Enterotoksigenik *Escherichia coli* (ETEC)

Enterotoksigenik *Escherichia coli* merupakan penyebab diare tidak hanya pada manusia tetapi juga pada hewan. Setelah masuk ke dalam sistem pencernaan, ETEC akan menempel pada sel-sel yang melapisi mukosa usus kecil melalui interaksi yang dimediasi oleh faktor kolonisasi (*colonization factor* = CFs). Setelah itu, ETEC akan memproduksi enterotoksin.⁽¹³⁾

Selama berkolonisasi dalam sel mukosa usus, ETEC mengeluarkan toksin yang terdiri dari dua jenis, yaitu yang tidak tahan panas (*heat labile toxin* = LT) dan yang tahan panas (*heat stabile toxin* = ST). Enterotoksin LT dibagi menjadi dua tipe, yaitu LT-I dan LT-II. Enterotoksin LT-I umumnya ditemukan/menginfeksi baik manusia (LTh) maupun hewan babi (LTp), sementara itu enterotoksin LT-II umumnya hanya ditemukan pada hewan. Enterotoksin ST juga dibagi menjadi dua tipe, STa dan STb. STa sering ditemukan pada isolat ETEC yang menginfeksi manusia (STh) maupun hewan (STp). Sementara STb hanya ditemukan pada isolat ETEC yang menginfeksi hewan.⁽¹³⁾

Proses infeksi dimulai dengan kolonisasi ETEC pada usus halus dengan adanya CFs. Ketika sudah melekat, ETEC akan mengeluarkan enterotoksin LT dan atau ST. Enterotoksin LT berikatan dengan GM1, yaitu sejenis glikoprotein yang berfungsi sebagai reseptor. Toksin LT kemudian akan bergerak ke retikulum endoplasma. Enterotoksin LT akan mengikat ribosa adenosin difosfat (ADP) sehingga menghambat kegiatan GTPase (pemecah protein G). Akibatnya, protein G ini mengikat dan merangsang adenilil siklase sel epitel sehingga menyebabkan peningkatan jumlah adenil monofosfat (AMP). Peningkatan AMP akan menyebabkan peningkatan sekresi sel-sel kelenjar di dalam usus, yaitu merangsang sekresi Cl⁻ (hipersekreksi) dengan membuka saluran klorida pada sel kriptal dan menghambat absorpsi Na⁺ dari lumen ke dalam sel epitel usus.⁽¹³⁾

Sementara itu enterotoksin ST bekerja mengaktivasi guanilat siklase C (GC-C) yang akan meningkatkan cGMP dan kemudian mengaktivasi protein kinase sehingga menyebabkan akumulasi cairan dan elektrolit di dalam lumen usus serta menghalangi proses penyerapan (absorpsi). Peningkatan kadar elektrolit dan air di dalam lumen usus inilah yang dapat menyebabkan diare.⁽¹³⁾

b. Enteropatogenik *Escherichia coli* (EPEC)

Enteropatogenik *Escherichia coli* di bagi menjadi dua subgrup, yaitu EPEC tipikal (tEPEC) dan EPEC atipikal (aEPEC). Intimin (*eae*) merupakan sejenis protein integral membran dan merupakan faktor virulensi yang dimiliki oleh EPEC sehingga keberadaannya pada EPEC sering dijadikan sebagai target gen untuk proses deteksi dan identifikasi. Sementara itu, efektor EspF memiliki beberapa peran dengan target utama adalah mitokondria serta dapat merusak sambungan sel (*tight junction/Tj*), mikrovili, dan menghambat pengangkutan air serta menghambat fagositosis.⁽¹³⁾

Peningkatan permeabilitas yang disebabkan karena rusaknya penyangga sel (Tj) akan mengubah mekanisme pengangkutan ion. Hasil uji in vitro menunjukkan bahwa keberadaan bakteri EPEC pada sel epitel hasil kultur dapat meningkatkan jumlah kalsium yang berakibat pada penghambatan absorpsi Na⁺ dan Cl⁻ dan menstimulasi sekresi klorida oleh enterosit. Efek cepat pada sekresi ion, seperti Cl⁻ atau HCO₃, memicu onset awal diare.⁽¹³⁾

c. Enterohemoragik *Escherichia coli* (EHEC)

Enterohemoragik *Escherichia coli* merupakan kelompok *E. coli* yang dapat menyebabkan diare atau kolitis berdarah pada manusia yang dapat berujung pada sindrom hemolitik uremik (Hemolytic Uremic Syndrom/HUS).⁽¹³⁾

Mekanisme patogenesis dari EHEC menyerupai dengan yang terjadi di EPEC. Bakteri EHEC juga memiliki kemampuan untuk menyebabkan luka pada usus dengan mengikis atau menghancurkan mikrovili karena sama-sama memiliki komponen genetik lokus pemindah enterosit (LEE) yang mengekspresikan intinya dan Tir melalui sistem sekresi tipe III (T3SS). Bakteri EHEC yang sudah menempel pada membran inang menyebabkan polimerisasi aktin dan akan merusak sitoskeleton yang berperan dalam menyokong dan mempertahankan bentuk sel.⁽¹³⁾

Toksin yang telah menempel pada membran kemudian melakukan endositosis dan kemudian dipindahkan dari endosom ke jaringan trans golgi. Pada jaringan ini, sub unit A dari toksin pecah menjadi 2 bagian, yaitu A1 dan A2 oleh enzim furin. Sub unit A1 pada toksin berperan dalam menghambat sintesis protein dan menyebabkan kematian sel (apoptosis). Toksin shiga mampu menembus monolayer epitel usus kemudian menyebar melalui aliran darah. Infeksi yang lebih parah yang ditimbulkan oleh EHEC seperti hemolitik uremik (HUS) menunjukkan bahwa toksin shiga telah menyerang ginjal atau sistem syaraf pusat.⁽¹³⁾

d. Enteroinvasif *Escherichia coli* (EIEC)

Tahap pertama dari patogenesis EIEC adalah dimulai dengan terjadinya penetrasi sel EIEC ke dalam sel epitelia, diikuti oleh lisis vakuola. Ketika di dalam sel, EIEC menggandakan diri kemudian bergerak menuju sitoplasma dan menginvasi sel di sampingnya. Pergerakan dari EIEC di dalam sel dibantu oleh aktin yang terbentuk pada EIEC. Bakteri EIEC juga mampu menginfeksi makrofag dan menginduksi kematian sel melalui apoptosis.⁽¹³⁾

e. Enteroagregatif *Escherichia coli* (EAEC)

Mekanisme patogenesis EAEC meliputi 5 tahap, yaitu (1) bakteri EAEC yang ada pada saluran pencernaan, (2) penempelan bakteri ke mukosa usus oleh suatu faktor penempelan AAFs, (3) kenaikan produksi lendir (mucus) oleh EAEC menyebabkan pembentukan biofilm di atas permukaan sel mukosa, (4) pelepasan toksin dari EAEC yang menginduksi kerusakan sel dan meningkatkan sekresi, (5) pembentukan biofilm tambahan.⁽¹³⁾

f. Difusi Adheren *Escherichia coli* (DAEC)

Ada dua kategori DAEC yang telah teridentifikasi, pertama, DAEC yang mengekspresikan adhesin Afa/Dr, yaitu kelompok DAEC yang mempunyai struktur fimbriae yang langsung menempel pada sisi spesifik sel inang atau disebut fimbriae F1845. Mekanisme patogenesis DAEC dimulai dengan menempelnya Afa dan Dr dengan suatu faktor yang disebut DAF, yang ditemukan dipermukaan usus. Menempelnya Afa-Dr dan DAF menyebabkan agregasi dari molekul DAF di bawah bakteri. Penempelan tersebut juga memicu sinyal

pengatur Ca^{2+} , sehingga dapat menyebabkan kerusakan mikrovili dan mengakibatkan penurunan aktivitas enzim yang terlibat dalam proses sekresi dan absorpsi usus, dan akhirnya memicu terjadinya diare.⁽¹³⁾

2.1.1.4 Terapi untuk *Escherichia coli*

Bakteri *Escherichia coli* resisten terhadap antibiotik golongan β -laktam, fosfomisin dan golongan kuinolon.⁽¹⁴⁾ Antibiotika golongan β -laktam harus digunakan secara hati-hati karena saat ini telah banyak ditemukan *Escherichia coli* yang memiliki mekanisme resistensi pada gen *extended-spectrum betalactamase* (ESBL).⁽¹⁵⁾ Berdasarkan spektrum atau kisaran kerjanya antibiotik dapat dibedakan menjadi antibiotik berspektrum sempit (narrow spectrum) dan antibiotik berspektrum luas (broad spectrum). Antibiotik berspektrum sempit hanya mampu menghambat segolongan jenis bakteri saja, contohnya hanya mampu menghambat atau membunuh bakteri Gram negative saja atau Gram positif saja. Sedangkan antibiotik berspektrum luas dapat menghambat atau membunuh bakteri dari golongan Gram positif maupun Gram negatif. Kloramfenikol merupakan antibiotik dengan struktur sederhana sehingga mudah dibuat secara sintetik dibandingkan dengan mengisolasinya dari *Streptomyces*. Ukurannya sangat kecil sehingga mudah berdifusi ke dalam tubuh.⁽¹⁶⁾

Resistensi kloramfenikol mayoritas disebabkan oleh adanya enzim yang menambahkan gugus asetil ke dalam antibiotik. Kloramfenikol yang terasetilasi tidak akan dapat terlihat pada subunit 50S ribosom bakteri, sehingga tidak mampu menghambat sintesis protein. Mayoritas bakteri yang resisten terhadap kloramfenikol memiliki plasmid

dengan sebuah gen yang mengode kloramfenikol asetiltransferase. Enzim ini menginaktivasi kloramfenikol yang telah melewati membran plasma dan memasuki sel. Kloramfenikol asetiltransferase diproduksi secara terus-menerus oleh mayoritas bakteri Gram negative, namun pada *Staphylococcus aureus*, sintesis enzim ini diinduksi oleh kloramfenikol.⁽¹⁶⁾

2.1.2 Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)



Gambar 2 Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)⁽¹⁷⁾

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) termasuk dalam suku temu-temuan (*Zingiberaceae*) yang banyak ditemukan daerah tropis. Temulawak juga berkembang biak terutama pada tanah yang gembur agar menjadi besar. Secara morfologi, temulawak merupakan tanaman berbatang semu dengan bunga yang eksotis berwarna putih kemerahan dan memiliki rimpang relatif besar dengan warna irisan rimpang kuning cerah. Temulawak dapat tumbuh di daerah tanah gembur hutan tropis dengan ketinggian 5-1500 meter dpl, tanah kering, perkarangan, ladang, dan padang alang-alang.⁽¹⁷⁾

Tinggi tanaman temulawak dapat mencapai 2 meter. Temulawak memiliki daun 2-9 helai, berwarna hijau, berbentuk bulat memanjang, panjang 31- 84 cm, dan lebar 10-18 cm. Bunga temulawak termasuk tipe majemuk berbentuk bulir, bulat panjang, panjang 9-23 cm, lebar 4-6 cm, perbungaan termasuk tipe exantha (bunga keluar langsung dari rimpang), mahkota bunga berwarna merah, dan bunga mekar pada pagi hari dan pada sore hari layu.⁽¹⁷⁾

Rimpang temulawak merupakan rimpang yang terbesar pada rimpang curcuma. Rimpang temulawak terdiri atas 2 jenis, yaitu rimpang induk (empu) dan rimpang cabang. Rimpang induk berwarna kuning tua, coklat kemerahan, dan bagian dalamnya berwarna jingga coklat. Rimpang cabang tumbuh keluar dari rimpang induk, berukuran lebih kecil, dan memiliki warna lebih muda. Akar temulawak memiliki ujung akar yang melebar.⁽¹⁷⁾

2.1.2.1 Taksonomi

Divisio : *Tracheophyta*
 Class : *Magnoliopsida*
 SuperOrdo : *Liliana*
 Ordo : *Zingiberales*
 Family : *Zingiberaceae*
 Genus : *Curcuma*
 Spesies : *Curcuma xanthorrhiza* Roxb.
 Vern. name : Temulawak atau *Javanese ginger*, *Javanese turmeric*

2.1.2.2 Habitat

Di Indonesia, dikenal 6 jenis dari temulawak yakni temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb), temu putih (*Curcuma Zedoaria*), temu mangga (*Curcuma amada*), temu hitam (*Curcuma aeruginosa*), temu giring (*Curcuma heyneana*), dan kunyit (*Curcuma longa*). Keenam jenis temulawak tersebut memiliki perbedaan morfologi pada ukuran dan warna kulit rimpang, akar, batang, kadar minyak atsiri, kadar pati dan kadar serat. Temulawak memiliki nama daerah yang beragam antara lain: temulawak (Indonesia, Madura), koneng gede (Sunda), *Javanese tumeric* (Inggris), dan temu lawas (Malaysia). Oleh karena itu, temulawak banyak ditemukan di daerah tropis. Selain di dataran rendah, temulawak dapat juga

tumbuh sampai pada ketinggian tanah 1.500 meter di atas permukaan laut.⁽¹⁸⁾

2.1.2.3 Metabolit Sekunder Temulawak

Metabolit sekunder beraksi sebagai mekanisme pertahanan alternatif sehingga organisme yang kekurangan sistem imun akan menghasilkan metabolit sekunder yang banyak dan bermacam-macam.⁽¹⁹⁾ *Curcuma xanthorrhiza* mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti xanthorrhizol, curcumin, dan senyawa yang mudah menguap atau sering juga dikenal dengan volatil substances. Rhizoma *Curcuma xanthorrhiza* juga mengandung gula, saponins, flavonoids, glikosida jantung (cardiac glycosides), terpenoids, anthraquinones dan tidak memiliki alkaloids, steroids, tannins, dan phlobatannin.⁽¹⁹⁾

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya bahwa tanaman temulawak mengandung beberapa komposisi terdiri dari pati 48,59%, air 9,80%, lemak 2,84%, kurkumin 2,02%, dan protein 3,30%. Kurkumin merupakan senyawa aktif yang termasuk ke dalam golongan kurkuminoid sedangkan senyawanya tersebut merupakan senyawa polifenol yang memiliki warna kuning seperti pada kunyit, temulawak, dan tanaman zingiberaceae lainnya.⁽²⁰⁾⁽²¹⁾

Selain itu, temulawak juga kaya akan minyak atsiri yang mengandung senyawa caryophyllene oksida, α -pinen, α -terpineol, linalool, 1,8-cineol dan geraniol yang membantu melawan parasit dan infeksi karena mengandung anti-bakteri, anti-jamur, dan anti-parasit.⁽²⁰⁾

2.1.2.4 Kegunaan Tanaman

Temulawak banyak digunakan dalam ramuan obat tradisional yang dapat digunakan untuk mengatasi ambeien, sembelit, diare, obat kejang-kejang, obat pegal linu, radang

sendi, dan kurang nafsu makan. Sedangkan untuk rimpangnya digunakan dalam ramuan untuk penambah darah, atau untuk mengatasi malaria.⁽¹⁷⁾

Untuk mengobati sariawan dan keputihan bisa digunakan dalam bentuk segar atau serbuk. Temulawak di cuci terlebih dahulu, dimemarkan, baru direbus dengan dua gelas air sampai air nya tinggal setengah. Hasil air rebusan bisa diminum sekaligus.⁽²¹⁾

2.1.2.5 Metode Uji Aktivitas Bakteri

Penentuan setiap kepekaan kuman terhadap suatu obat adalah dengan menentukan kadar obat terkecil yang dapat menghambat pertumbuhan kuman in vitro. Beberapa cara pengujian antibakteri adalah sebagai berikut :

a. Metode Difusi

Pada metode ini, penentuan aktivitas didasarkan pada kemampuan difusi dari zat antimikroba dalam lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan mikroba uji. Hasil pengamatan akan diperoleh berupa ada atau tidaknya zona hambatan yang terbentuk disekeliling zat antimikroba pada waktu tertentu masa inkubasi. Pada metode ini dapat dilakukan 3 cara yaitu: ⁽²²⁾

1) Cara Cakram (*Disc*)

Cara ini merupakan cara yang paling sering digunakan untuk menentukan kepekaan kuman terhadap berbagai macam obat-obatan. Pada cara ini, digunakan suatu cakram kertas saring (*paper disc*) yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antimikroba. Kertas saring tersebut kemudian diletakkan pada lempeng agar yang telah diinokulasi mikroba uji, kemudian diinkubasi pada waktu tertentu dan suhu tertentu, sesuai dengan kondisi

optimum dari mikroba uji. Pada umumnya, hasil yang di dapat bisa diamati setelah inkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37°C. Hasil pengamatan yang diperoleh berupa ada atau tidaknya daerah bening yang terbentuk disekeliling kertas cakram yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri.⁽¹²⁾

Metode cakram *disc* atau cakram kertas ini memiliki kelebihan dan kekurangan. Kelebihannya adalah mudah dilakukan, tidak memerlukan peralatan khusus dan relatif murah. Sedangkan kelemahannya adalah ukuran zona bening yang terbentuk tergantung oleh kondisi inkubasi, inokulum, predifusi dan preinkubasi serta ketebalan medium.⁽¹²⁾

2) Cara Parit (*ditch*)

Suatu lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji dibuat sebidang parit. Parit tersebut berisi zat antimikroba, kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu optimum yang sesuai untuk mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa ada tidaknya zona hambat yang akan terbentuk di sekitar parit.⁽²²⁾

3) Cara Sumuran (*hole/cup*)

Pada lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji dibuat suatu lubang yang selanjutnya diisi dengan zat antimikroba uji. Kemudian setiap lubang itu diisi dengan zat uji. Setelah diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan mikroba uji, dilakukan pengamatan dengan melihat ada atau tidaknya zona hambatan di sekeliling lubang.⁽¹²⁾

b. Metode Dilusi

Pada metode ini dilakukan dengan mencampurkan zat antimikroba dan media agar, yang kemudian diinokulasikan dengan mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa tumbuh atau tidaknya mikroba didalam media. Aktivitas zat antimikroba ditentukan dengan melihat Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) yang merupakan konsentrasi terkecil dari zat antimikroba uji yang masih memberikan efek penghambatan terhadap pertumbuhan mikroba uji.⁽¹²⁾

Metode ini terdiri dari dua cara, yaitu:

1) Pengenceran Serial dalam tabung

Pengujian dilakukan dengan menggunakan sederetan tabung reaksi yang diisi dengan inoculum kuman dan larutan antibakteri dalam berbagai konsentrasi. Zat yang akan diuji aktivitas bakterinya diencerkan sesuai serial dalam media cair, kemudian diinokulasikan dengan kuman dan diinkubasi pada waktu dan suhu yang sesuai dengan mikroba uji. Aktivitas zat ditentukan sebagai Kadar Hambat Minimum (KHM).⁽¹²⁾

2) Penipisan Lempeng Agar

Zat antibakteri diencerkan dalam media agar dan kemudian dituangkan kedalam cawan petri. Setelah agar membeku, diinokulasikan kuman kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu tertentu. Konsentrasi terendah dari larutan zat antibakteri yang masih memberikan hambatan terhadap pertumbuhan kuman ditetapkan sebagai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM).⁽²²⁾

2.1.2.6 Metode Ekstraksi

Ekstraksi secara umum merupakan suatu proses pemisahan zat aktif dari suatu padatan maupun cairan dengan menggunakan bantuan pelarut. Pemilihan pelarut diperlukan dalam proses ekstraksi, karena pelarut yang digunakan harus dapat memisahkan atau mengekstrak substansi yang diinginkan tanpa melarutkan zat-zat lainnya yang tidak diinginkan.⁽²³⁾

Pemilihan metode didasarkan pada karakteristik bahan dan senyawa metabolit yang akan diekstrak, rendemen ekstrak yang ingin diperoleh, kecepatan ekstraksi, dan juga biaya. Beberapa metode ekstraksi antara lain: maserasi, perkolasi, ekstraksi dengan reflux, dan ekstraksi dengan soxhlet.⁽²⁴⁾

a) Maserasi

Salah satu metode ekstraksi yang paling umum dan paling sederhana. Prosedurnya dengan merendam bahan baku yang telah disiapkan (dikeringkan dan digiling) ke dalam pelarut yang sesuai dan ditempatkan pada suhu ruang dan ditunggu untuk beberapa waktu. Namun kelemahan dari metode maserasi ini, yaitu dapat memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa dapat hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja akan sulit diekstraksi pada suhu kamar.⁽²⁴⁾

b) Perkolasi

Proses perkolasi sendiri dilakukan dengan melarutkan senyawa metabolit pada suatu bahan yang akan diekstrak dengan cara mengalirkan pelarut yang sesuai pada matriks bahan atau sampel yang telah dipak atau ditata pada perkolator sehingga senyawa metabolit

terikut dengan pelarut dan mengalir keluar dari bejana untuk ditampung. Selain itu, ada juga kelemahan berupa volume pelarut yang dibutuhkan tentu lebih banyak, karena dilakukan secara kontinyu dan tanpa adanya waktu kontak yang lama. Selain itu, karena sampel bahan dipak pada bejana perkolator, maka ada kemungkinan packing tersebut tidak homogen, ada bagian yang padat tetapi ada juga yang kurang padat.⁽²⁴⁾

c) Ekstraksi dengan reflux

Reflux berarti pelarut yang diputar kembali atau di-*recycle* secara kontinyu melalui pengkondensasian berulang pada sebuah alat kondensor. Metode ini akan menghemat penggunaan pelarut, karena proses ekstraksi dilakukan secara berkelanjutan. Kelemahan metode ini yaitu pada penggunaan suhu tinggi yang berpotensi mendegradasi beberapa senyawa yang tidak stabil pada temperatur tinggi. Selain itu, tentu saja biaya energi yang lebih besar karena diperlukan dalam proses pemanasan dan pendinginan pada kondensor.⁽²⁴⁾

d) Ekstraksi dengan Soxhlet

Prinsip ekstraksi ini dengan mengekstrak bahan yang sudah dihaluskan dan dibungkus pada selembar kertas saring kemudian dimasukkan ke dalam alat soxhlet yang sebelumnya telah ditempatkan pelarut pada labu soxhlet. Namun, Kelebihan utama soxhlet adalah sistem kerjanya yang kontinyu. Dengan prinsip seperti itu maka proses ekstraksi dapat dilakukan dengan lebih cepat sedangkan kelemahan yaitu sekali lagi karena prosesnya melibatkan panas yang cukup tinggi, yaitu pemanasan sampai titik didih pelarut maka

resiko kerusakan senyawa metabolit yang sensitif terhadap panas juga cukup tinggi.⁽²⁴⁾

2.1.2.7 Metode Fraksinasi

Fraksinasi merupakan teknik pemisahan ekstrak hasil maserasi yang telah diuapkan sehingga diperoleh ekstrak kental. Fraksinasi ini menggunakan berbagai pelarut dengan kepolaran yang berbeda-beda, sehingga masing-masing pelarut mengandung senyawa dengan kepolaran yang berbeda pula. Pelarut yang umumnya dipakai untuk fraksinasi adalah n-heksan, etil asetat, dan etanol.⁽²⁵⁾

Adapun tujuan dari Fraksinasi juga diperlukan ketika akan melakukan isolasi atau pemisahan satu senyawa metabolit sekunder tunggal, Dengan fraksinasi maka proses pemisahan senyawanya menjadi lebih mudah. Fraksinasi dapat dilakukan dengan beberapa teknik, di antaranya adalah dengan liquid-liquid extraction (ekstraksi cairan-cairan) atau menggunakan kolom kromatografi dengan fase diam dan fase gerak tertentu.⁽²⁴⁾

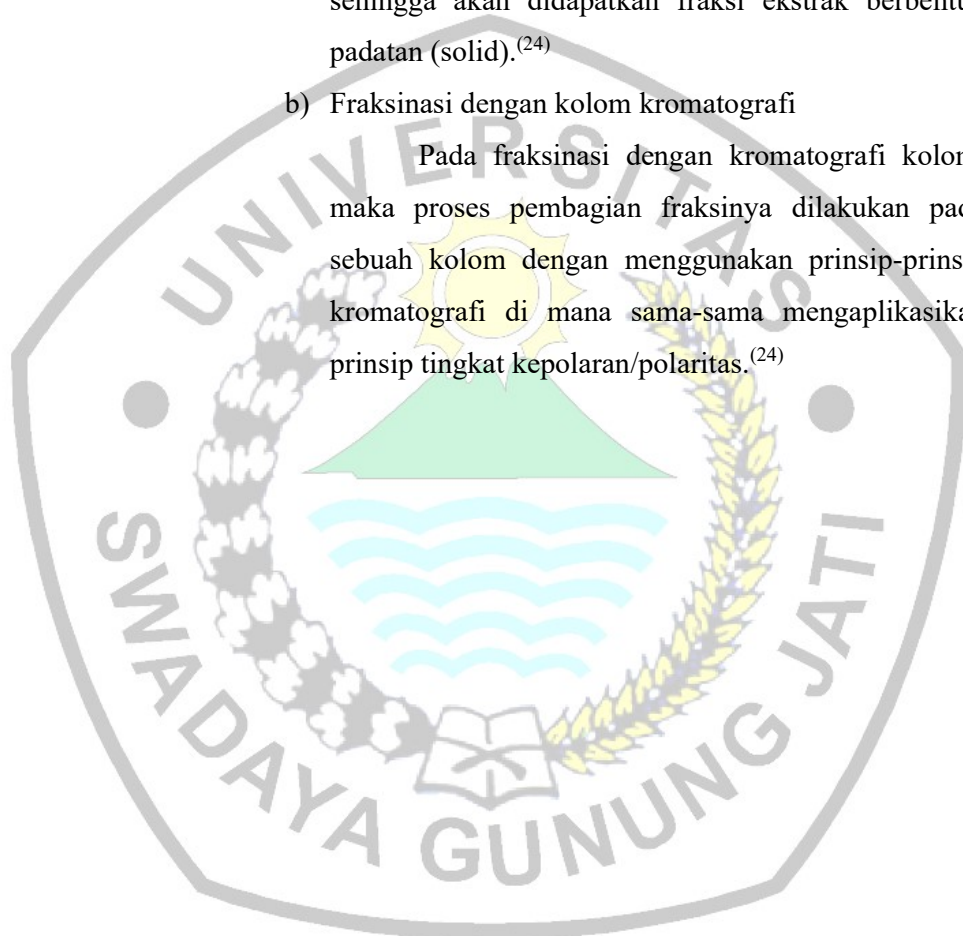
a) Fraksinasi dengan *liquid-liquid extraction*.

Pemisahan sekelompok senyawa dari kumpulan senyawa dalam sebuah ekstrak yang telah dilarutkan pada suatu pelarut dengan cara menambahkan jenis pelarut lain yang memiliki polaritas berbeda dan tidak dapat bercampur antara keduanya (*immiscible*). Pada umumnya fraksinasi dengan metode ini dilakukan dengan menggunakan labu pemisah (*separating funnel*). Dengan demikian akan diperoleh dua fraksi yang berbeda, di mana masing-masing fraksi memiliki anggota senyawa yang berbeda jenisnya.⁽²⁴⁾

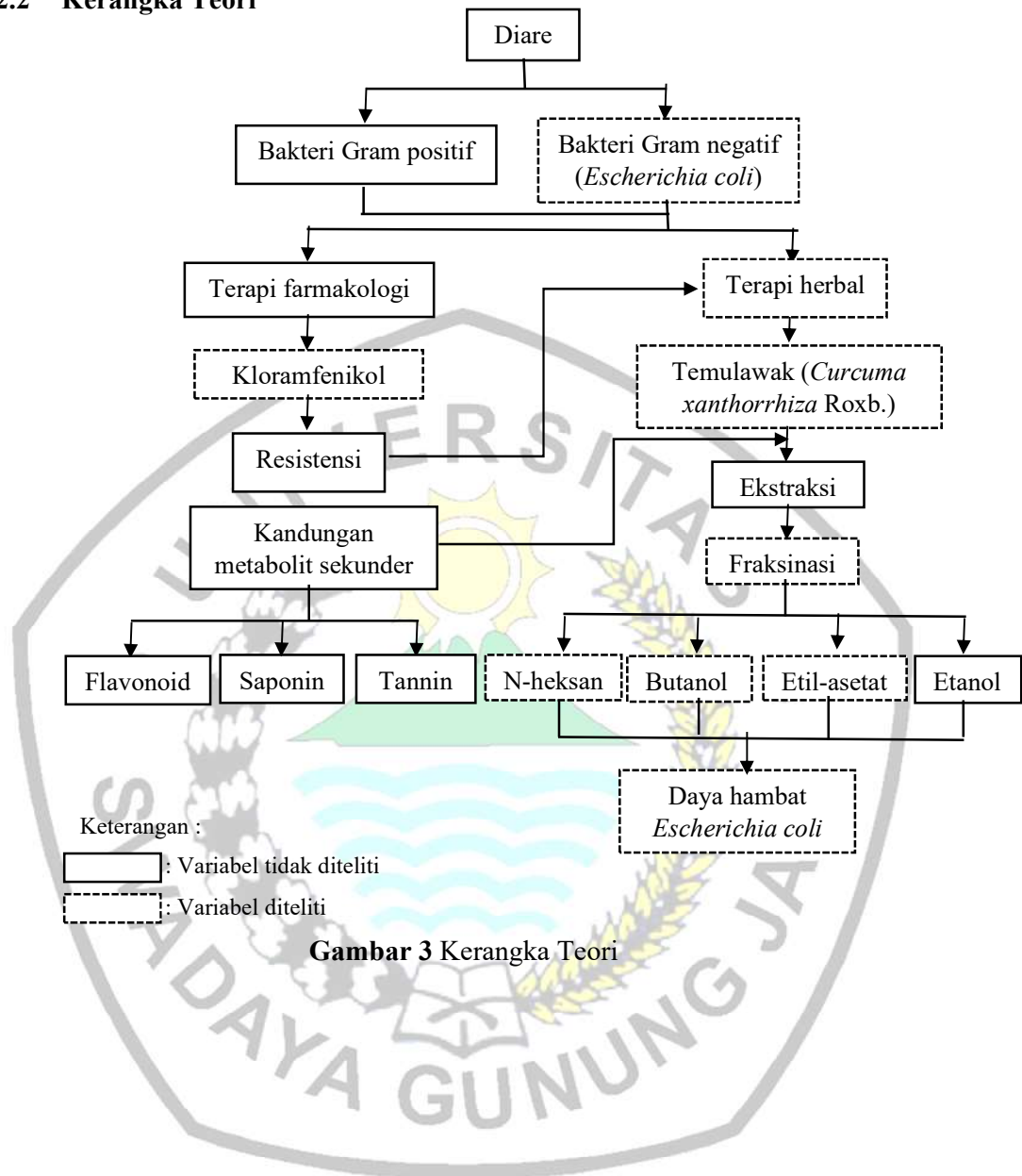
Pengentalan atau pengeringan pada fraksi dengan cara evaporasi menggunakan evaporator untuk memisahkan pelarut dari fraksi ekstraknya. Biasanya hasil proses evaporasi menggunakan *rotary vacuum evaporator* berupa pasta atau cairan kental. Untuk mengeringkannya dapat menggunakan freeze dryer sehingga akan didapatkan fraksi ekstrak berbentuk padatan (solid).⁽²⁴⁾

b) Fraksinasi dengan kolom kromatografi

Pada fraksinasi dengan kromatografi kolom, maka proses pembagian fraksinya dilakukan pada sebuah kolom dengan menggunakan prinsip-prinsip kromatografi di mana sama-sama mengaplikasikan prinsip tingkat kepolaran/polaritas.⁽²⁴⁾

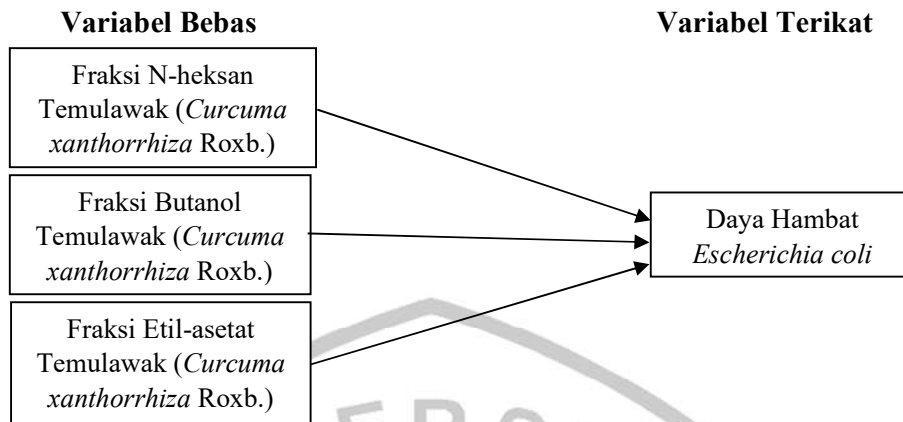


2.2 Kerangka Teori



Gambar 3 Kerangka Teori

2.3 Kerangka Konsep



Gambar 4 Kerangka Konsep

2.4 Hipotesis

Fraksi N-Heksan, Butanol, Etil-asetat Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) memiliki daya hambat pada Pertumbuhan *Escherichia coli* secara *in vitro*.