

## BAB 2

### LANDASAN TEORI

#### 2.1 Tinjauan pustaka

##### 2.1.1 Daun Pala (*Myristica Fragrans*)



Gambar 2. 1 Daun Pala (*Myristica Fragrans*)

Sumber: Habib, 2021

Tanaman pala (*Myristica fragrans*) adalah salah satu dari lebih dari 1000 jenis tanaman obat yang ditemukan di Indonesia, wilayah tropis yang kaya akan tumbuh-tumbuhan dengan berbagai bentuk dan kegunaannya. Pala adalah tanaman asli Indonesia, terutama di wilayah Banda dan sekitarnya, serta di Irian Jaya (Agaus & Agaus, 2019). Pala dikenal sebagai tanaman rempah karena setiap bagian tanaman dapat digunakan untuk berbagai tujuan. Salah satu bagian tanaman yang belum banyak digunakan adalah daun pala (Fawwaz et al., 2019).

Salah satu bagian dari tanaman pala yang belum banyak digunakan adalah daun pala. Tidak banyak penelitian yang dilakukan tentang daun pala. Daun pala adalah salah satu bahan alam yang dapat digunakan karena masyarakat lebih suka menggunakannya. Hasil penelitian terdahulu tentang

fitokimia menunjukkan bahwa daun pala mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, dan triterpenoid yang bersifat antibakteri (Moningka et al., 2020).

#### a. Klasifikasi

Pala adalah tanaman tahunan yang berasal dari hutan tropik. Genus *Myristica* memiliki banyak spesies yang tersebar di seluruh Nusantara, dengan tingkat keragaman yang paling tinggi ditemukan di kepulauan Maluku, terutama di Pulau Bangka, Siau, dan Irian. Menurut posisi tanaman pala dalam sistem tumbuhan, mereka termasuk ke dalam klasifikasi berikut (Unung, 2021) :

Kingdom	: <i>Plantae</i> (tumbuhan)
Divisi	: <i>Spermatophyta</i> ( tumbuhan berbiji)
Subdivisi	: <i>Angiospermae</i> (ber biji tertutup)
Kelas	: <i>Dicotyledonae</i> (biji berkeping dua)
Ordo	: <i>Myristicales</i>
Famili	: <i>Myristicaceae</i>
Genus	: <i>Myristica</i>
Spesies	: <i>Myristica fragrans Houtt.</i>

#### b. Morfologi

Tanaman pala adalah salah satu tanaman keras yang bertahan hingga lebih dari seratus tahun. Daunnya tidak gugur sepanjang tahun, sehingga baik untuk dijadikan tanaman penghijauan. Morfologi tanaman pala memiliki karakteristik berikut.

### 1. Batang

Batang pokok tanaman ini dapat mencapai lebih dari 18-20 meter. Tumbuhnya tegak, berbentuk bulat agak berbonggol-bonggol. Cabang primernya membentuk kran (karangan) melingkari batang pokok, dan mulai cabang relatif rendah. Warna kulit batang berwarna hijau tua atau arang arang kelam. Mahkota pohon berbentuk piramida.

### 2. Daun

Daun pala berbentuk bulat telur, pangkal dan pucuknya meruncing. Warna pada bagian bawah hijau kebiru-biruan muda, bagian atas hijau tua. Daun pala betina ukurannya lebih besar dari pada daun pala jantan.

### 3. Bunga

Tanaman pala termasuk dalam tanaman berumah dua (dioecus) yang berarti ada pohon pala yang berbunga jantan saja dan ada pohon pala yang berbunga betina saja

### 4. Buah

Jangka waktu pertumbuhan buah dari mulai persarian/penyerbukan tidak lebih dari 9 bulan. Buah berbentuk peer, lebar, ujungnya meruncing. Kuit buah licin, berdaging, cukup banyak mengandung udara. Jika sudah masak petik tampak kuning pucat warnanya dan membelah dua walaupun hanya sebagian. Biji tanaman pala berbiji tunggal, berkeping dua, dilindungi oleh tempurung, meski tidak tebal, namun cukup keras. Bentuk biji pala berbentuk bulat telur lonjong.

## 5. Akar

Tanaman pala membentuk akar tunggang yang dalam. Akar lateralnya tertanam serabut cukup tebal, dangkal letaknya di bawah permukaan tanah (Rahmadini, 2021).

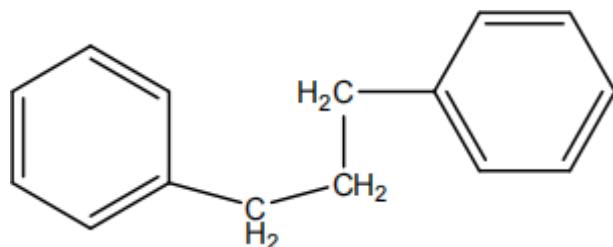
### C. Kandungan Kimia Daun pala

Daun pala (*Myristica fragrans Houtt*) adalah salah satu bagian dari tumbuhan pala yang masih kurang digunakan. Tidak banyak penelitian yang dilakukan tentang daun pala, tetapi dibandingkan dengan jenis tumbuhan lainnya, daun pala sangat mudah ditemukan. Salah satu produk pertanian yang paling banyak dihasilkan di Indonesia adalah pala. Namun, hanya daging, biji, dan fuli buah pala yang dimanfaatkan dari tanaman pala, dan daunnya hanya dibuang sebagai limbah (Mirna et al., 2024). Berikut merupakan kandungan kimia yang ada dalam daun pala.

#### 1. Flavonoid

Sebagai antimikroba, senyawa flavonoid dapat menghambat sintesis asam nukleat, fungsi membran sel, dan metabolisme energi (Ernawati, 2019). Sebagai antibiofilm juga senyawa flavonoid memiliki kemampuan untuk menghambat gen *Intracellular Adhesion icaA* dan *icaD*. Adanya gen *icaA* dan *icaD* pada bakteri yang menjadi salah satu faktor pembentukan biofilm. Disebutkan juga bahwa gugus hidroksil yang dimiliki struktur senyawa flavonoid dapat menyebabkan pembentukan senyawa kompleks dengan protein yang dapat mengakibatkan terdenaturasi biofilm (Winarsih et al., 2019). Karena telah terbukti memiliki aktivitas antimikroba yang

kuat, golongan flavonoid dapat berfungsi sebagai obat antibakteri untuk MRSA. Selain itu, karena mereka mudah diperoleh dan ditemukan dalam banyak tanaman, flavonoid dapat menjadi alternatif yang lebih murah dan mudah diperoleh daripada senyawa sintetik yang mahal dan sulit diperoleh (Sodik & Deden Indra Dinata, 2023).



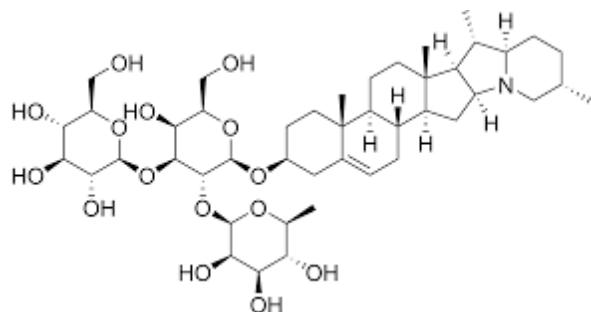
Gambar 2. 2 Struktur senyawa Flavonoid

Sumber: (Ningsih & Chatri, 2020)

## 2. Saponin

Saponin merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman. Saponin merupakan senyawa fitokimia yang mempunyai karakteristik berupa kemampuan membentuk busa dan mengandung aglikon polisiklik yang berikatan dengan satu atau lebih gula (Suleman et al., 2022). Senyawa saponin dapat berfungsi sebagai antibakteri dengan cara menyebabkan kebocoran enzim dan protein dari dalam sel (Wulansari et al., 2020). Senyawa saponin dapat membentuk senyawa kompleks dengan membran sel melalui ikatan hidrogen yang mengakibatkan rusaknya struktur protein sehingga permeabilitas membran

sel menjadi tidak seimbang dan menyebabkan lisis pada sel (Febrianti et al., 2022).

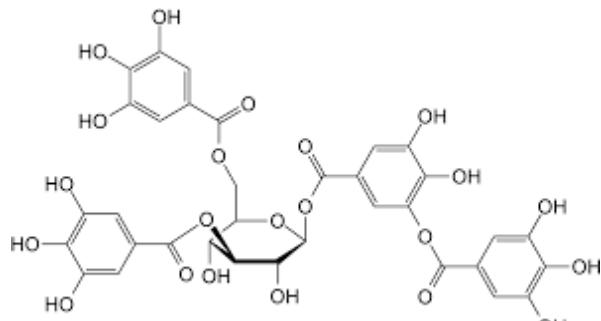


Gambar 2. 3 Struktur senyawa Saponin

Sumber: (Ningsih & Chatri, 2020)

### 3. Tanin

Tanin memiliki efek antibakteri karena sifatnya sebagai spasmolitik, yang dapat mengurangi gerakan peristaltik usus. Selain itu, tanin memiliki kemampuan untuk menghancurkan bagian dinding sel bakteri. Tanin memiliki aktivitas antibakteri secara *in vitro* dengan menghentikan DNA topoisomerase dan suatu enzim, enzim reverse transkriptase, yang menghentikan pembentukan sel. Selain itu, aktivitasnya sebagai antibakteri dikaitkan dengan kemampuan untuk menghentikan transportasi protein pada lapisan sel, menginaktifkan enzim, dan menginaktifkan adhesin sel pada mikroba (Sunani & Hendriani, 2023).

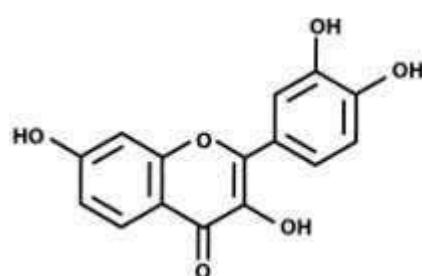


Gambar 2. 4 Struktur senyawa Tanin

Sumber: (Hersila & Chatri, 2023)

#### 4. Triterpenoid

Mekanisme kerja triterpenoid sebagai senyawa antibakteri adalah menyebabkan penurunan permeabilitas membran sel bakteri yang disebabkan oleh senyawa triterpenoid yang akan bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga terjadi kerusakan pada porin yang merupakan pintu masuk dan keluarnya senyawa, sehingga menurunkan permeabilitas membran sel bakteri (Hidayatullah & Mourisa, 2023).



Gambar 2. 5 Struktur senyawa Triterpenoid

Sumber: (Azalia et al., 2023)

#### 2.1.2 Bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)

MRSA adalah jenis *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap penisilin isoksazol, seperti flukoksasilin, metisilin, oksasilin, dan sefoksitin,

yang masih menjadi bakteri patogen nosokomial terkemuka di dunia. *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap metisilin juga resisten terhadap semua antibiotik beta-laktam (Turbawaty et al., 2021).

*Staphylococcus aureus* adalah bakteri kokus gram positif yang tidak bergerak, yang sel-selnya membentuk kelompok seperti anggur. Bakteri ini merupakan patogen utama yang berperan dalam infeksi piogenik. *S. aureus* ditemukan di masyarakat dan selalu ada di lingkungan rumah sakit. Keberadaan *S. aureus* di lingkungan rumah sakit merupakan penyebab umum infeksi nosokomial. Infeksi ini dapat diperoleh secara endogen dari flora normal pasien sendiri, atau secara eksogen ketika bakteri ini diperoleh dari orang lain atau benda-benda di lingkungan. Bakteri *S. aureus* telah lama menjadi masalah infeksi serius di rumah sakit (infeksi nosokomial) dan tempat perawatan kesehatan lainnya. *S. aureus* yang resisten terhadap antibiotik metisilin juga telah terbukti resisten terhadap beberapa antibiotik lainnya. *S. aureus* ini disebut *Meticillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) (Erlin et al., 2020).

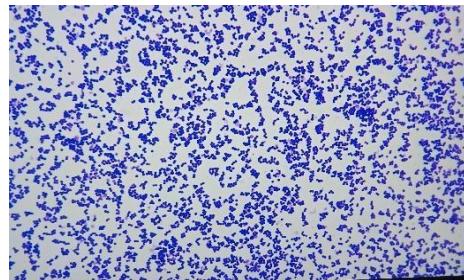
MRSA pertama kali diamati sebagai isolat klinis dari pasien yang dirawat di rumah sakit pada tahun 1960-an, tetapi sejak tahun 1990-an, MRSA telah menyebar dengan cepat di masyarakat. Meskipun infeksi MRSA terjadi secara global, belum ada pandemi yang disebabkan oleh bakteri ini. Sebaliknya, MRSA cenderung terjadi dalam gelombang infeksi, yang sering kali ditandai dengan kemunculan strain yang dominan. Contoh terbaru dari strain MRSA yang muncul termasuk *health-care associated*

MRSA (HA-MRSA) *clonal complex* 30 (CC30) di Amerika Utara dan Eropa, *community-associated* MRSA (CA-MRSA) USA300 di Amerika Utara, serta *livestock-associated* MRSA (termasuk ST398) dan ST93 di Australia. Tingkat CA-MRSA dan HA-MRSA tampaknya menurun di beberapa wilayah, sebuah tren yang pertama kali dicatat dengan HA-MRSA di Inggris. Alasan naik turunnya jenis-jenis strain tertentu secara berantai masih belum dipahami dengan baik (Turner et al., 2019).

*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) telah muncul sebagai patogen yang sangat tangguh di zaman sekarang, menyebabkan tingkat penyakit dan kematian yang signifikan karena kemampuannya untuk menangkal pertahanan kekebalan tubuh melalui berbagai mekanisme. Pertama kali diidentifikasi pada tahun 1960-an, MRSA telah berevolusi untuk mengembangkan berbagai mekanisme resistensi antimikroba dan penghindaran sistem kekebalan tubuh inang. Hal ini memungkinkan MRSA menyebabkan penyakit invasif, termasuk yang melibatkan pembentukan biofilm (Gherardi, 2023).

#### a. Klasifikasi

Berikut merupakan klasifikasi bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) (Dipta, 2020).



Gambar 2. 6 Bakteri MRSA pada perbesaran 100x

Sumber: Dokumentasi pribadi

Domain	: <i>Bacteria</i>
Kingdom	: <i>Eubacteria</i>
Phylum	: <i>Firmicutes</i>
Class	: <i>Bacilli</i>
Ordo	: <i>Bacillales</i>
Family	: <i>Staphylococcaceae</i>
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

### b. Karakteristik MRSA

*Staphylococcus aureus* adalah salah satu jenis bakteri gram positif, berbentuk bulat (kokus) bergerombol seperti buah anggur, bersifat aerobik fakultatif, dengan diameter sekitar 0,8-1,0  $\mu\text{m}$  dan ketebalan dinding sel 20-80 nm. Lapisan penyusun dinding sel bakteri *Staphylococcus aureus* terdiri atas lapisan makromolekul peptidoglikan yang tebal dan membran sel yang tersusun atas protein dan lipid serta asam teikoat. Asam teikoat berfungsi untuk mengatur elastisitas, porositas, kekuatan tarik, dan sifat elektrostatik dinding sel (Sihombing & Mantiri, 2022).

Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa MRSA resisten terhadap beberapa antibiotik. Menurut hasil penelitian (Erlin et al., 2020) menunjukkan bahwa semua isolat *Meticillin Resistant Staphylococcus aureus* yang ditemukan resisten terhadap penisilin (100%), kotrimoksazol (47,0%) dan rimfampisin (27,7%). MRSA umumnya bersifat multiresisten. Namun, gambaran resistensi tidak sama di setiap rumah sakit. MRSA 100% resisten terhadap penisilin G, amoksisilin-klavulanat dan tetrasiklin, 80% resisten terhadap eritromisin, 73% resisten terhadap kloramfenikol, gentamisin, tobramisin, 53% resisten terhadap sefotaksim, 27% resisten terhadap oksasilin, 20% resisten terhadap kotrimoksasol, tidak ada yang resisten terhadap vankomisin.

#### c. Patogenitas

Risiko infeksi MRSA meningkat di antara anak-anak, orang lanjut usia, atlet, personel militer, orang yang menyuntikkan narkoba, orang dengan latar belakang penduduk asli atau di daerah perkotaan, daerah yang kurang terlayani, orang dengan HIV atau fibrosis kistik, mereka yang sering melakukan kontak dengan layanan kesehatan, dan mereka yang berada di populasi yang dilembagakan, termasuk tahanan. Tingkat infeksi MRSA meningkat dengan cepat antara tahun 1990-an dan awal tahun 2000-an. Sejak tahun 2005, penurunan paralel dalam infeksi MRSA telah dikonfirmasi di beberapa populasi AS dan Eropa, terutama di antara infeksi aliran darah dan jaringan lunak. Tren pediatrik mencerminkan tren yang terlihat pada orang dewasa di Amerika Serikat. Meskipun faktor spesifik

yang bertanggung jawab atas perubahan tingkat infeksi MRSA masih belum pasti, kemajuan dalam epidemiologi molekuler menginformasikan pemahaman yang semakin kompleks tentang dinamika populasi MRSA (Turner et al., 2019)

MRSA dianggap sebagai patogen zoonosis yang muncul secara historis dan memiliki dampak yang besar bagi kesehatan masyarakat dan hewan. *S. aureus* menyebabkan masalah serius pada manusia dan hewan dan dapat bertahan dalam kondisi lingkungan yang merugikan seperti sinar matahari dan pengeringan. Bakteri ini dapat menyerang kulit, selaput lendir, dan organ dalam yang menyebabkan penyakit serius pada hewan dan manusia, termasuk infeksi supuratif pada kulit, jerawat, osteomielitis, endokarditis, infeksi saluran pernafasan, dan septikemia. Selain itu, *S. aureus* merupakan salah satu penyebab utama mastitis pada sapi.

### 2.1.3 Biofilm

Anton Van Leuwenhoek mendeskripsikan biofilm untuk pertama kalinya pada akhir abad ketujuh belas. Dia mendefinisikannya sebagai kelompok bakteri yang dapat berkumpul pada suatu permukaan dalam matriks polimer anion terhidrasi yang disintesis oleh mereka. Banyak spesies bakteri, seperti *Staphylococcus aureus*. dan *Pseudomonas aeruginosa* telah mengadopsi biofilm sebagai cara hidup alami mereka, seperti pada kasus pasien fibrosis kistik stadium lanjut; *Pseudomonas aeruginosa* adalah bakteri utama di paru-paru. Pembentukan biofilm dapat dilakukan dengan spesies bakteri gram positif atau gram negatif.

Perkembangan bakteri biofilm pada permukaan eksterior dan/atau interior benda asing merupakan ciri khas infeksi benda asing. Pertumbuhan biofilm dapat terjadi pada permukaan alami apa pun seperti katup jantung, gigi, paru-paru pasien fibrosis kistik, infeksi di telinga tengah, dan biofilm juga dapat terbentuk pada kateter intravena dan stent pada osteomielitis persisten dan infeksi sendi prostetik (Shree et al., 2023).

Substrat atau permukaan, serta lingkungan yang tepat, diperlukan untuk pembentukan biofilm. Sebagai contoh, karena luas permukaan yang lebih besar dan sifat fisikokimia yang menguntungkan, kolonisasi dan produksi biofilm selanjutnya lebih sering terjadi pada permukaan kasar. Ini menunjukkan bahwa biomaterial atau bahan perangkat medis yang ditanamkan dapat menjadi target yang ideal untuk pengembangan biofilm dalam berbagai cara. Dengan cara yang sama, tingkat dan tingkat kepatuhan berbeda-beda tergantung pada komposisi bahan kimia yang melapisi biofilm. Infeksi yang terkait dengan biofilm terutama disebabkan oleh stafilokokus, termasuk MRSA (Kaushik et al., 2024).

#### A. Pembentukan Biofilm

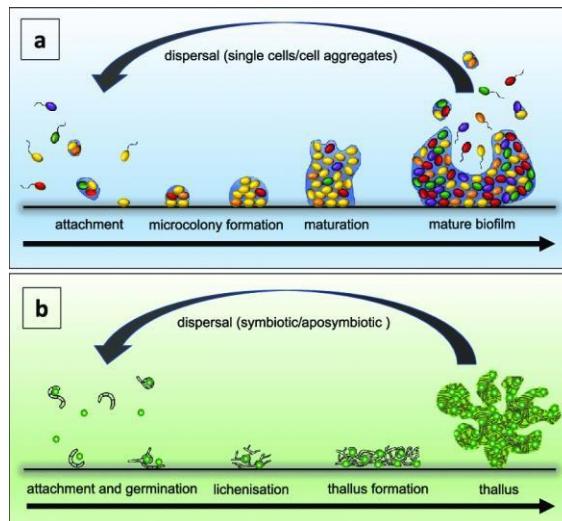
Perkembangan biofilm adalah proses dinamis yang kompleks, terdapat lima tahap dalam pembentukan biofilm: perlekatan awal, produksi EPS yang mengarah pada perlekatan “*ireversibel*”, pengembangan awal arsitektur biofilm, pematangan arsitektur biofilm, dan penyebaran sel tunggal. Diperkirakan bahwa biofilm terkait dengan 65-80% penyakit menular. Memahami mekanisme biologis yang terkait dengan proses

pengembangan biofilm sangat penting untuk pengembangan agen antibiofilm baru. Telah diketahui bahwa mikroba dalam biofilm kurang rentan terhadap agen antimikroba dibandingkan dengan mikroba planktonik, dan akibatnya, penyakit yang berhubungan dengan biofilm sangat sulit untuk dicegah dan disembuhkan. Sebagian besar agen antibiofilm yang tersedia hingga saat ini adalah agen antimikroba dengan efek bakterisida, yang tidak efektif untuk mengobati infeksi terkait biofilm dan dapat menyebabkan resistensi mikroba ketika digunakan untuk waktu yang lama.

#### B. Struktur Biofilm

*Extracellular Polymeric Substance* (EPS) adalah dasar dari struktur biofilm, menyebabkan mekanisme pertahanan seperti penginderaan kuorum, resistensi mikroba, dan membantu dalam interaksi fisiologis mikrokoloni biofilm yang sudah matang. Biofilm bakteri terdiri dari matriks (85% dari total volume) dan sel bakteri (15% sisanya). Struktur utama EPS adalah polisakarida dan memiliki sifat hidrofilik yang mampu menyerap air dalam jumlah besar dan kelarutan yang berbeda (Khoiriah, 2021).

### C. Siklus Hidup Biofilm



Gambar 2. 7 Siklus hidup Biofilm

Sumber: (Penesyan et al., 2021)

Panel a menggambarkan tahap utama pengembangan biofilm, yaitu penempelan sel/agregat sel pada substrat, pembentukan mikrokoloni dan pematangannya, diikuti dengan penyebaran sel motil tunggal dan agregat sel dari biofilm. Panel b menunjukkan tahap-tahap utama yang terlibat dalam reproduksi vegetatif lumut, termasuk perlekatan dan pertumbuhan agregat simbiosis (terdiri dari sel jamur dan alga) yang terlepas dari thallus lumut utama, atau melalui penyebaran aposimbiotik dan perkembangan jamur yang diikuti oleh keterlibatan kembali mitra alga dan lichenisasi (Penesyan et al., 2021).

### D. Resistensi Antibiotik Biofilm

Resistensi biofilm dan toleransi terhadap antibiotik yang diciptakan oleh sifat anti-penetrasi matriks, keberadaan polisakarida, enzim pengubah

antibiotik, eDNA, dan bakteriofag telah dipelajari dengan baik oleh Hall dan Mah. Mereka juga menyebutkan bahwa heterogenitas fisiologis dan kondisi hipoksia meningkatkan resistensi antibakteri. Heterogenitas menciptakan kekurangan nutrisi untuk populasi bakteri tertentu, yang mendukung resistensi yang lebih besar. Heterogenitas biofilm, baik genotipe maupun fenotipe, merupakan salah satu faktor terpenting yang memberikan resistensi terhadap banyak obat antibakteri pada komunitas bakteri dalam biofilm. Resistensi antibiotik dalam biofilm dapat ditransfer antara organisme biofilm dengan mekanisme eksternal seperti QS dan EPS. Mereka dapat mengatur perilaku bakteri melalui kaskade sinyal dan ekspresi gen (Mirghani et al., 2022).

### 2.1.1 Simplisia

Simplisia bisa juga disebut sebagai bahan baku pembuatan obat yang berasal dari tanaman obat yang belum diolah dengan segala macam cara apapun kecuali dengan proses pengeringan (Kusuma et al., 2023). Suhu pengeringan harus disesuaikan dengan jenis bahan yang akan dikeringkan karena setiap jenis bahan memiliki kandungan kimia dengan sifat yang berbeda-beda. Untuk itu perlu ditentukan batas suhu pengeringan maksimum agar tidak menurunkan kualitas simplisia. Secara umum suhu pengeringan simplisia berkisar antara 40-60 °C (Wandira et al., 2023).

Kadar air yang ditetapkan untuk menjaga mutu simplisia adalah  $\leq$  10%. Adanya perbedaan nilai dari masing-masing perlakuan dapat disebabkan karena panas matahari tidak konstan dan panas buatan stabil dan

merata. Berat kering konstan lebih cepat diperoleh pada pengeringan menggunakan oven dari sinar matahari hal tersebut menunjukkan semakin tinggi suhu yang digunakan semakin tinggi pula proses transpirasi (Wandira et al., 2023).

#### 2.1.4 Ekstraksi

Ekstraksi adalah pemisahan antara zat target dan zat yang tidak berguna. Teknik ini didasarkan pada perbedaan distribusi zat terlarut antara dua atau lebih pelarut yang saling bercampur. Dalam kebanyakan kasus, zat terlarut yang diekstrak tidak larut atau sedikit larut dalam pelarut tertentu tetapi mudah larut dalam pelarut lain. (Sudarwati, 2019). Berikut merupakan beberapa metode ekstraksi.

##### a) Infusa

Infusa merupakan metode ekstraksi yang menggunakan pelarut udara. Selama proses infusa, suhu air pelarut harus mencapai 90 °C selama 15 menit. Rasio berat bahan terhadap udara adalah 1:10, yang berarti jika berat bahan adalah 100 gram, maka volume udara yang digunakan adalah 1000 ml. Serbuk akan dipanaskan dalam panci dengan air secukupnya atau menggunakan *waterbath* (Sudarwati, 2019).

Infusa adalah cara penyarian simplisia nabati dengan air pada suhu 90°C. Prinsip pemeriksaan infusa mirip dengan perebusan tujuannya dapat menyari simplisia dengan pelarut air dalam waktu singkat. Metode penyiapan bahan yang umum dilakukan masyarakat dengan pertimbangan kepraktisan serta biaya yang rendah (Faizal et al., 2019).

b) Perlokasi

Perlokasi merupakan proses ekstraksi simplisia dengan melewatkkan pelarut yang sesuai secara perlahan melalui simplisia dalam sebuah perkulator. Tujuan dari perlakuan adalah untuk menarik seluruh zat berhakiat, baik yang tahan maupun tidak tahan terhadap pemanasan. Cairan penyari dialirkan dari atas ke bawah melalui serbuk simplisia, melarutkan zat aktif dari sel-sel yang dilalui sehingga mencapai keadaan jenuh. Kekuatan yang berperan dalam perlakuan meliputi gaya gravitasi, kekentalan, daya larut, tegangan permukaan, difusi, osmosis, adhesi, daya layar, dan pembekuan (friksi) (Sudarwati, 2019).

c) Refluks

Salah satu metode sintesis senyawa anorganik adalah refluks yang digunakan Ketika pelarut volatile terlibat dalam sintesis. Jika pemanasan bisa digunakan, pelarut akan menguap sebelum reaksi selesai. Prinsip metode refluks adalah pelarut volatile akan menguap pada suhu tinggi, tetapi kemudian diserahkan oleh kondensor sehingga uap akan mengembun dan kembali ke wadah reaksi (Sudarwati, 2019)

d) Soxhlet

Soxhlet merupakan metode pemisahan komponen dalam zat padat melalui penyaringan berulang menggunakan pelarut tertentu, sehingga semua komponen yang diinginkan akan terlindungi. Metode ini menggunakan pelarut organik dan melibatkan pemanasan, sehingga uap

yang terbentuk akan mendingin dan sampel terus-menerus basah. Pelarut yang telah mengandung senyawa kimia diuapkan menggunakan rotary evaporator sehingga pelarut dapat dipisahkan kembali (Sudarwati, 2019).

Metode soxhletasi memiliki beberapa keuntungan seperti lebih sedikit pelarut yang digunakan dan langsung diperoleh hasil yang lebih pekat. Keterbatasan metode soxhletasi adalah proses ekstraksi dapat memakan waktu yang lama, senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus-menerus berada pada titik didih (Alifah et al., 2023).

#### e) Maserasi

Maserasi merupakan metode ekstraksi yang paling sederhana, dengan cara melakukan perendaman serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut karena perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan di luar sel, larutan yang lebih pekat akan ter dorong keluar. Proses ini akan terus berulang hingga tercapai keseimbangan konsentrasi antara larutan di dalam dan di luar sel (Puspita, 2024).

Metode maserasi merupakan ekstraksi yang paling sederhana, paling efektif dan dapat mencegah kerusakan ekstrak yang biasanya dapat terjadi pada ekstraksi dengan metode panas. Metode ini juga memiliki kekurangan, yaitu waktu ekstraksi yang cukup lama dan kebutuhan pelarut yang tinggi (Alifah et al., 2023).

e) Dekokta

Dekokta mempunyai prinsip kerja yang hamper sama dengan infusa. Hanya saja terdapat perbedaan pada waktu ekstraksi. Metode ini membutuhkan waktu sekitar 30 menit dengan suhu mencapai titik didih air (Puspita, 2024).

f) Destilasi

Destilasi merupakan salah satu metode ekstraksi yang menggunakan panas. Prinsip kerja metode ini adalah mengestraksi senyawa yang menguap bersama air sebagai pelarut. Saat proses pendinginan, uap udara dan senyawa akan terkondensasi dan terpisah menjadi distilat udara dan senyawa yang diekstraksi (Puspita, 2024).

g) Lawan arah (*counter current*)

Metode lawan arah (*counter current*) sama dengan perkolasian tetapi simplisia bergerak berlawanan arah dengan pelarut yang digunakan. Cara ini dimanfaatkan untuk ekstraksi bahan herbal skala besar (Puspita, 2024).

h) Ultrasonik

Metode ultrasonik melibatkan penggunaan gelombang ultrasonic dengan frekuensi 20-2000 kHz sehingga permeabilitas dinding sel meningkat dan isi sel keluar (Puspita, 2024).

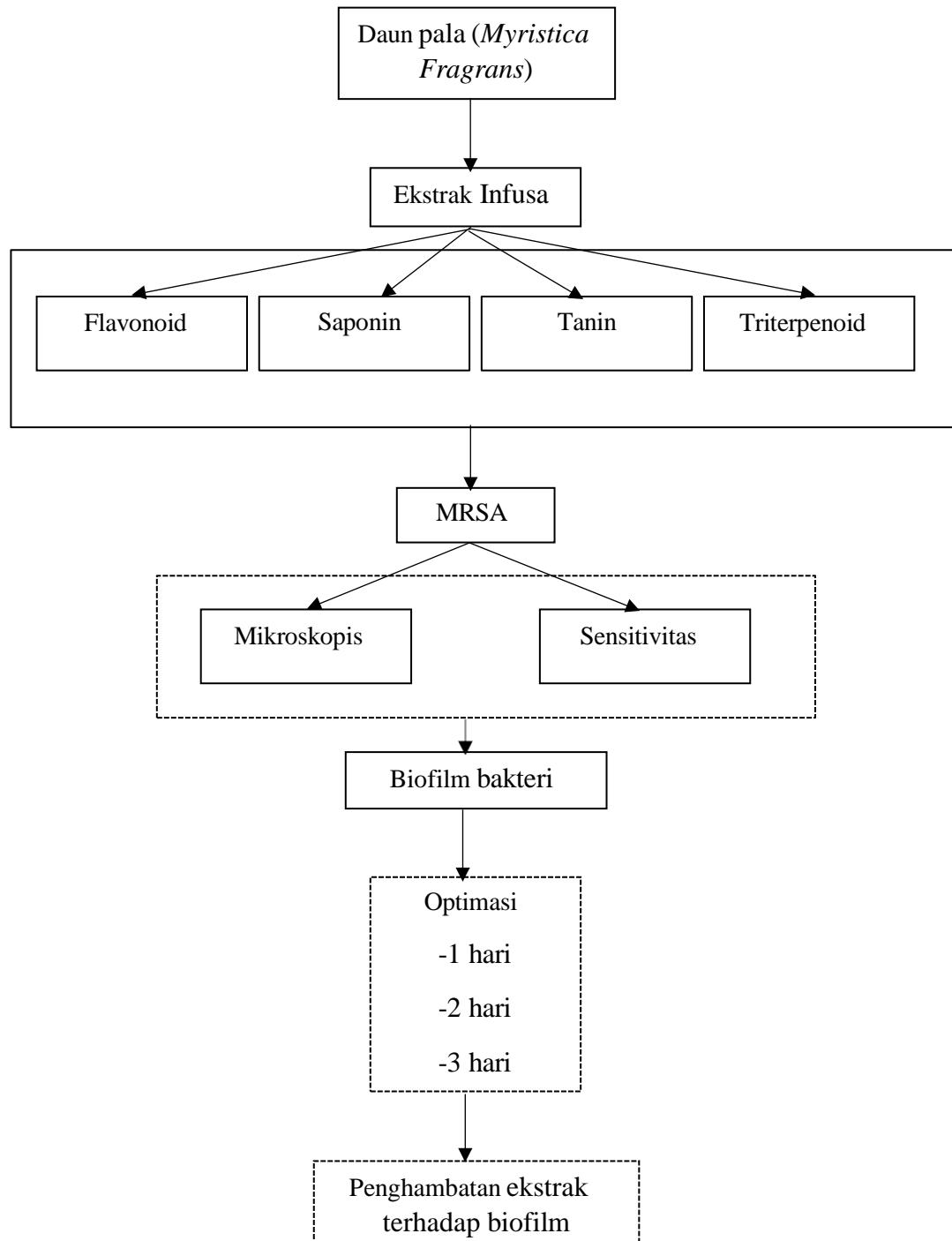
i) Gelombang mikro (*microwave assisted extraction*, MAE)

Metode ini menggunakan gelombang mikro dengan frekuensi 2450 MHz merupakan teknik ekstraksi spektrum untuk senyawa yang memiliki dipol/dipole polar (Puspita, 2024).

j) Ekstraksi gas superkritis (*supercritical gas extraction, SGE*)

Metode ini menggunakan CO<sup>2</sup> dengan tekanan tinggi, dan banyak digunakan untuk ekstraksi minyak atsiri atau senyawa yang bersifat mudah menguap atau termolabil. Metode ini disukai karena bersifat inert, toksitasnya rendah, aman bagi lingkungan, harga relatif murah, dan tidak mudah terbakar pada kondisi superkritisnya (Puspita, 2024).

## 2.2 Kerangka Pemikiran



### Keterangan

----- : Diteliti

\_\_\_\_\_ : Tidak Diteliti

### 2.3 Hipotesis

H0 : Ekstrak daun pala (*Myristica Fragrans*) dapat menghambat pembentukan biofilm bakteri MRSA.

H1 : Ekstrak daun pala (*Myristica Fragrans*) tidak dapat menghambat pembentukan biofilm bakteri MRSA.