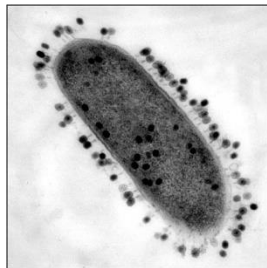


BAB 2 TINJAUAN TEORITIS

2.1 Bakteri *Escherichia coli*

Escherichia coli adalah bakteri Gram-negatif berbentuk batang, silindris, dengan diameter berkisar antara 1,0 hingga 1,5 μm dan panjang 2,0 hingga 6,0 μm , serta memiliki flagel (Gambar 2.1). Ia dapat tumbuh dengan atau tanpa oksigen, bersifat anaerobik fakultatif, dan dapat bertahan pada media yang rendah nutrisi (Rahayu et al., 2018). Dalam (Sumampouw, 2019) bakteri *Escherichia coli* banyak ditemukan pada saluran pencernaan manusia maupun hewan. Dari segi fisiologi, *Escherichia coli* dapat bertahan dalam kondisi lingkungan yang sulit. *Escherichia coli* tumbuh dengan baik pada tanah, air tawar, dan air asin. *Escherichia coli* terpapar pada lingkungan biotik dan abiotik dalam kondisi tersebut.



Gambar 2. 1 Bakteri *Escherichia coli*

Sumber : Academy of Microbiology, 2011

Berikut merupakan klasifikasi bakteri *Escherichia coli* menurut *integrated Taxonomis Information Systems (ITIS)* :

<i>Kingdom</i>	: Bacteria
<i>Subkingdom</i>	: Negibacteria
<i>Filum</i>	: Proteobacteria
<i>Class</i>	: Gammaproteobacteria
<i>Order</i>	: Enterobacterales
<i>Family</i>	: Enterobacteriaceae
<i>Genus</i>	: <i>Escherichia</i>
<i>Species</i>	: <i>Escherichia coli</i>

Di dalam tubuh manusia, *Escherichia coli* mampu bertahan pada tingkat keasaman yang tinggi. Dengan menyebar melalui feses, bakteri ini juga dapat hidup dan berkembang di luar tubuh manusia. Kedua lingkungan ini saling bertentangan satu sama lain. Sistem pencernaan manusia adalah lingkungan yang hangat, anaerobik, kaya nutrisi, dan umumnya stabil. Sebaliknya, lingkungan di luar saluran pencernaan mungkin berbeda secara signifikan atau seringkali jauh lebih dingin, lebih aerobik, dan ketersediaan nutrisi yang sedikit. *Escherichia coli* mungkin memerlukan waktu antara 30 hingga 87 menit untuk beregenerasi dan bergantung pada suhu lingkungannya. Jumlah waktu yang diperlukan sel bakteri ini untuk membelah dua kali dikenal sebagai waktu generasi. Suhu ideal bagi pertumbuhan *Escherichia coli* adalah 37°C dengan periode waktu generasi tersingkat yaitu 30 menit (Rahayu et al., 2018).

Penyakit yang ditimbulkan oleh *Escherichia coli* disebabkan karena bakteri ini dapat beradaptasi dan berkembang dalam berbagai situasi. Akan tetapi sejumlah faktor lingkungan, seperti fluktuasi suhu, tekanan osmotik, dan habitat asam (pH rendah) seperti yang terdapat pada sistem pencernaan manusia, membuat bakteri ini sulit berkembang. Selain itu juga telah dibuktikan bahwa *Escherichia coli* tahan terhadap keadaan kering karena kemampuannya menahan pembekuan dan pendinginan (Rahayu et al., 2018). Beberapa jenis *Escherichia coli* dapat menyebabkan diare, infeksi saluran kemih, penyakit pernafasan dan radang paru - paru, dan penyakit lainnya (Sumampouw, 2019).

Bakteri *Escherichia coli* sering kali hidup dalam sistem pencernaan makhluk hidup. Bakteri *Escherichia coli* mudah menyebar melalui bersentuhan secara langsung atau berjabat tangan, lalu melalui mulut dan masuk ke dalam sistem pencernaan. Selain berada di dalam tubuh, *Escherichia coli* dapat ditemukan dalam makanan, minuman, dan tersebar di dalam tanah (Melliawati, R. 2015). Ada dua cara utama mekanisme infeksi *Escherichia coli* yaitu bakteri menyebar dari saluran pencernaan ke jaringan tubuh lainnya, atau dari strain patogen *Escherichia coli* memasuki tubuh. (Lestari, et, al. 2023).

Escherichia coli merupakan bakteri yang tidak berbahaya dan sering hidup di dalam saluran pencernaan manusia. Namun, bakteri *Escherichia coli* yang

awalnya tidak patogen akan berubah menjadi bakteri patogen jika memperoleh gen virulensi yang lebih banyak dari mikroorganisme lain melalui proses transfer plasmid (konjugasi), transfer gen melalui bakteriofag (transduksi), atau transfer gen dari mikroorganisme lain. Mekanisme virulensi dan patogenesis *Escherichia coli* patogen menentukan penyakit yang ditimbulkannya. Bakteri ini dapat menimbulkan gejala penyakit jika dapat masuk ke dalam tubuh inang, beradaptasi, dan bertahan hidup di sana sebelum menyerang sistem imun dan akhirnya menyebabkan penyakit. Seperti mikroorganisme patogen lainnya, proses patogenesis ini terjadi dalam beberapa fase. Fase-fase ini meliputi proliferasi sel, kematian sel usus, kolonisasi di lokasi tertentu di sel permukaan usus (sel mukosa), melintasi sel usus dan memasuki sirkulasi, menempel pada organ target, dan akhirnya menyebabkan kerusakan organ (Rahayu et al., 2018).

Berdasarkan patogenesisnya, bakteri *Escherichia coli* terbagi menjadi, Enterotoksigenik *Escherichia coli* (ETEC), Enteropatogenik *Escherichia coli* (EPEC), Enterohemoragik *Escherichia coli* (EHEC), Enteroinvasif *Escherichia coli* (EIEC), dan Enteroagregatif *Escherichia coli* (EAEC). Pada ETEC, setelah masuk ke dalam sistem pencernaan, ETEC akan menghasilkan enterotoksin setelah menempel pada sel-sel yang melapisi mukosa usus halus melalui interaksi yang difasilitasi oleh faktor kolonisasi. ETEC menghasilkan dua jenis toksin selama kolonisasi dalam sel-sel mukosa usus yaitu toksin stabil panas (ST) dan toksin labil panas (LT). Strain ETEC memiliki kemampuan untuk menyebabkan diare dan menghasilkan satu atau kedua toksin ini. Menurut dosis infeksius ETEC pada manusia, dosis sekitar 1×10^6 hingga 1×10^{10} CFU dapat menyebabkan diare. Sedangkan pada EPEC, sel-sel mukosa usus kemudian dapat ditembus oleh EPEC, yang mengakibatkan gejala infeksi seperti demam, menggigil, pusing, dan diare encer. Penyakit ini mulai muncul dalam waktu 17 hingga 72 jam, dan berlangsung selama 6 hingga 3 hari. Ketika EPEC menyebar melalui air yang terkontaminasi tinja, penyakit ini dapat berkembang pada pencernaan manusia (Rahayu et al., 2018).

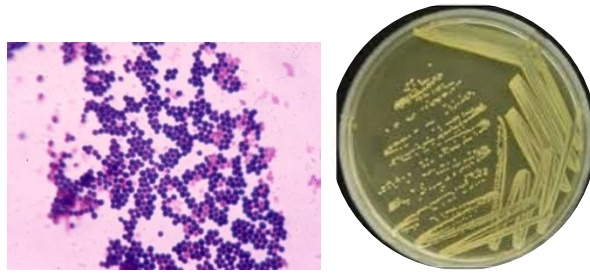
Kemudian pada EHEC bakteri ini dapat menyebabkan luka pada usus dengan mengikis atau menghancurkan mikrovili sehingga mengakibatkan diare

berdarah. Kemudian, penelitian menunjukkan bahwa setidaknya 106 sel EIEC dapat menyebabkan penyakit pada orang dewasa. Penularan EIEC biasanya berasosiasi dengan air atau pangan yang terkontaminasi feses serta penularan antar individu. Kemudian pada EAEC diketahui dapat menyebabkan inflamasi karena infeksi, akan tetapi mekanisme yang lebih detail dari patogenesis EAEC ini masih terbatas. Dosis infeksi EAEC bergantung pada jenis patogenesis yang dimiliki oleh bakteri tersebut. Umumnya individu yang terinfeksi EAEC, akan mengalami diare yang disertai dengan darah dan lendir (Rahayu et al., 2018).

2.2 Bakteri *Staphylococcus aureus*

Pasteur dan Koch merupakan orang pertama yang mengamati dan membudidayakan bakteri ini. Kemudian pada tahun 1880-an, Ogston dan Rosenbach melakukan penyelidikan yang lebih menyeluruh terhadap bakteri ini. Ogston menamai genus *Staphylococcus* karena jika dilihat mikroskop bakterinya menyerupai buah anggur, sedangkan Rosenbach menamakannya *Aureus* karena jika ditanam dalam kultur murni, koloninya tampak berwarna kuning keemasan. Bakteri ini berbentuk bulat, dengan diameter sekitar 0,8 – 1 μm (Gambar 2.2) (Sahli, 2023).

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram-positif dan dibedakan dari spesies lain berdasarkan sifat koagulasi positifnya. Mereka biasanya membentuk koloni berwarna abu-abu hingga kuning keemasan dan berbentuk bulat, halus, mencolok, berkilau, dan membentuk pigmen pada pembenihan padat. Bakteri ini dapat tumbuh dengan cepat pada suhu 37°C, bakteri *Staphylococcus aureus* tumbuh subur pada suhu ruangan, yaitu pada kisaran suhu 20°C hingga 25°C (Yusan et al., 2023). Organisme ini tumbuh subur di lingkungan aerobik dan anaerobik pada suhu berkisar 7°C dan 48°C (optimal 37°C), tetapi akan mati pada suhu di atas 55°C dan nilai pH antara 4,0 dan 9,3 sedangkan nilai pH yang optimal yaitu 7,0 dan 7,5. Bakteri ini dapat ditemukan pada permukaan kulit, saluran pernapasan, serta pada luka atau infeksi kulit (Arisman, 2009).



Gambar 2. 2 Bakteri *Staphylococcus aureus*
Sumber : Tamam, 2016

Berikut merupakan klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* menurut *integrated Taxonomis Information Systems (ITIS)* :

Kingdom : Bacteria
Subkingdom : Posibacteria
Phylum : Firmicutes
Class : Bacilli
Order : Bacillales
Family : Staphylococcaceae
Genus : *Staphylococcus*
Species : *Staphylococcus aureus*

Menurut Soedarto (2009) dalam (Gunawan et al., 2022) pada manusia, *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan keracunan makanan dan masalah pada pencernaan. Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat ditemukan di udara, debu, air limbah, air, susu, makanan, peralatan makan, lingkungan, kulit, rambut, atau bulu manusia dan hewan serta saluran pernapasan. Bakteri ini dapat menyebar melalui udara saat seseorang batuk, meludah, atau bersin. Selain itu, makanan dan minuman yang terkontaminasi dapat menyebarkan *Staphylococcus aureus* saat bersentuhan dengan tangan orang yang terinfeksi. Bakteri ini dapat masuk ke dalam tubuh melalui folikel rambut, kelenjar keringat, dan infeksi pada kulit. Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang menghasilkan toksin yang bersifat tahan panas, seperti enterotoksin yang dapat menyebabkan mual, muntah, dan diare, yang dikenal sebagai kasus keracunan (intoksikasi). Kasus keracunan (intoksikasi) disebabkan oleh mengonsumsi makanan atau minuman

yang mengandung toksin, dan enterotoksin dapat menghasilkan racun dengan konsentrasi 1 µg jika terdapat dalam jumlah 10^6 - 10^8 cfu/ml (Suwito, 2010).

2.3 Antibakteri

Antibakteri merupakan senyawa yang dapat mengganggu pertumbuhan atau bahkan membunuh bakteri dengan cara mengganggu metabolisme kuman atau bakteri berbahaya. Cara kerja senyawa antibakteri antara lain mencegah pembentukan dinding sel, menghambat atau mempengaruhi keutuhan permeabilitas dinding sel bakteri, menghambat fungsi enzim, serta menghambat pembentukan asam nukleat dan protein. Antibakteri dapat diklasifikasikan berdasarkan sifatnya yaitu bakteriostatik (menghentikan pertumbuhan bakteri) atau bakterisida (membunuh kuman) (Heliawati, 2019).

Beberapa senyawa metabolit sekunder yang mungkin memiliki sifat antibakteri seperti alkaloid, flavonoid, steroid, dan zat bioaktif lainnya. Flavonoid dan tanin merupakan dua contoh bahan kimia yang memiliki sifat antibakteri. Karena beberapa senyawa bioaktif dapat merusak membran sel dan menyebabkan membrane sel menjadi kurang selektif dalam mengontrol masuk dan keluarnya molekul ke dalam sel, senyawa tersebut juga dapat memiliki efek antibakteri. Hal ini dapat menyebabkan pelepasan komponen sel penting seperti asam nukleat atau nukleotida (Tarigan & Muadifah, 2020). Pada tanaman kapulaga hijau terdapat senyawa antibakteri diantaranya flavonoid, alkaloid, terpenoid, antosianin, dan senyawa fenolik (Souissi et al., 2020). Selain itu, minyak atsiri yang terkandung dalam kapulaga mempunyai aktivitas antimikroba terhadap bakteri patogen (Pratiwi et al., 2023).

2.3.1 Uji Aktivitas Antibakteri

Kegunaan uji antimikroba ini adalah untuk memperoleh suatu sistem pengobatan yang efektif dan efisien. Berikut ini adalah beberapa metode uji antimikroba dalam (Heliawati, 2019):

1) Metode Difusi

a. Difusi cakram (*Disc diffusion*)

Metode difusi cakram (*disc diffusion*) digunakan untuk mengukur aktivitas agen antimikroba. Piringan yang mengandung agen antimikroba diletakkan pada

media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi. Area jernih di permukaan media agar menunjukkan bahwa agen antimikroba menghambat pertumbuhan mikroorganisme tersebut.

b. Metode parit (*Ditch plate technique*)

Dalam metode parit (*ditch plate*), sampel uji yang mengandung agen antimikroba diletakkan pada parit yang dibuat dengan memotong media di bagian tengah cawan petri secara membujur. Mikroba uji, yang dapat mencakup hingga 6 jenis, digoreskan ke arah parit yang berisi agen antimikroba.

c. Metode sumuran (*Cup plate technique*)

Mirip dengan pendekatan difusi cakram, metode sumuran (*cup plate technique*) melibatkan pembuatan lubang / sumuran di media agar yang ditanami mikroorganisme di dalamnya, kemudian menambahkan zat antimikroba yang diuji ke dalam lubang tersebut.

d. Metode lempeng landaian (*Gradient plate technique*)

Pada metode ini, konsentrasi agen antimikroba dalam media secara teoritis dapat berkisar mulai dari nol hingga konsentrasi maksimum. Setelah media dicairkan, kemudian ditambahkan larutan uji. Campuran dituang ke dalam cawan petri dan diletakkan secara miring. Setelah itu, nutrisi kedua ditambahkan ke atasnya dan diinkubasi selama 24 jam, sehingga agen antimikroba dapat berdifusi dan permukaan media mengering. Mikroba uji (maksimal 6 macam), digoreskan dari konsentrasi tinggi ke konsentrasi rendah. Hasilnya dihitung sebagai panjang total pertumbuhan maksimum mikroorganisme yang mungkin dibandingkan dengan panjang pertumbuhan hasil goresan.

e. Metode *E-test*

Metode *E-test* dapat digunakan untuk mengestimasi nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) atau kadar hambat minimum (KHM). MIC adalah konsentrasi minimal agen antimikroba yang mampu menghentikan pertumbuhan mikroorganisme. Metode ini menggunakan strip plastik yang mengandung agen antimikroba dalam konsentrasi rendah hingga tinggi dan ditempelkan pada permukaan media dimana mikroorganisme telah ditanam. Pengamatan dilakukan

pada area jernih yang ditimbulkannya, yang menunjukkan jumlah agen antimikroba yang mencegah mikroorganisme berkembang biak pada media agar.

2) Metode Dilusi

a. Dilusi cair (*broth dilution test*)

Metode dilusi cair digunakan untuk mengevaluasi MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*), atau disebut juga KBM (Kadar Bunuh Minimum), dan MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*), atau juga dikenal sebagai KHM (Kadar Hambat Minimum). Metode ini dilakukan dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada media cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji antimikroba dengan kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa pertumbuhan mikroba uji disebut sebagai KHM. Larutan ini selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa adanya penambahan agen antimikroba, kemudian diinkubasi selama 18 hingga 24 jam. Setelah diinkubasi, media cair yang tetap terlihat jernih merupakan KBM.

b. Dilusi padat (*solid dilution test*)

Metode dilusi padat menggunakan media padat (*solid*), meskipun menggunakan bahan padat, metode dilusi padat serupa dengan metode dilusi cair. Keuntungan dari metode ini yaitu satu konsentrasi agen antimikroba yang diujikan dapat digunakan untuk menguji sejumlah mikroba uji.

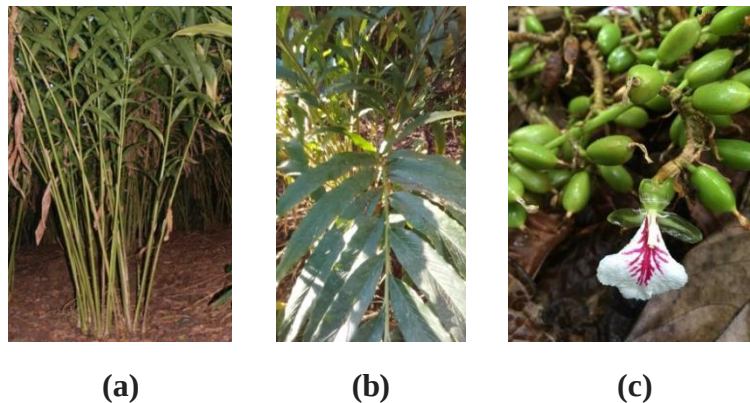
Uji aktivitas antibakteri yang akan dilakukan pada penelitian ini yaitu menggunakan metode difusi cakram (*discs diffusion*). Metode ini digunakan untuk melihat zona hambat yang diperoleh dari setiap konsentrasi yang diujikan. Dalam analisis kualitatif aktivitas antibakteri, difusi cakram digunakan untuk mengukur diameter zona hambat suatu bakteri terhadap pelarut tertentu. Ada atau tidaknya daerah bening yang terbentuk di sekeliling kertas cakram yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri (Putri & Paramita, 2023).

2.4 Tanaman Kapulaga Hijau (*Elettaria cardamomum*)

Kapulaga merupakan salah satu jenis rempah terpenting kedua di dunia yang terkadang disebut sebagai "Ratu Rempah," setelah lada hitam (*Piper nigrum*) yang juga dikenal sebagai "Raja Rempah." Kapulaga telah lama disebut sebagai "Ratu Rempah" karena rasa dan aromanya yang luar biasa. Kapulaga

Hijau atau Kapulaga seberang (*Elettaria cardamomum*) merupakan salah satu jenis tanaman rempah yang berasal dari daerah tropis di Asia Selatan, terutama India, Sri Lanka, dan Nepal (Saras, 2023). Dimana nama “Elettaria” berasal dari kata sehari-hari “Elettari”, yang merujuk pada biji kapulaga dalam bahasa Tamil, salah satu bahasa yang banyak digunakan di India Selatan (Nair, 2006).

Dalam pengobatan tradisional Ayurveda India, biji kapulaga digunakan untuk mengobati masalah pencernaan, pernapasan, dan masalah kesehatan lainnya. Sebagai varietas yang paling populer, kapulaga hijau ini banyak digunakan dalam masakan India, terutama dalam membuat kari, minuman chai, dan manisan. Banyak negara Arab menggunakan biji kapulaga hijau untuk menambah rasa pada kopi dan teh. Kapulaga hijau memiliki kulit yang tipis, berwarna hijau cerah, dan memiliki aroma yang tajam dan manis (Saras, 2023).



Gambar 2. 3 Tumbuhan Kapulaga Hijau (*Elettaria cardamomum*) (a), daun kapulaga hijau (b), buah dan bunga kapulaga hijau (c)

Sumber : Steven, 2011., Duferne, 2021., Permacultura Caimito, 2015.

Berikut merupakan klasifikasi tumbuhan kapulaga hijau (*Elettaria cardamomum*) menurut *integrated Taxonomis Information Systems* (ITIS) :

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Viridiplantae
Division : Tracheophyta
Class : Magnoliopsida
Order : Zingiberales
Family : Zingiberaceae
Genus : *Elettaria*

Species : *Elettaria cardamomum*

Kapulaga hijau merupakan tanaman monokotil rimpang herba tahunan berukuran besar, yang termasuk dalam famili Zingiberaceae (Gambar 2.3 a). Tanaman ini tumbuh secara luas di daerah perbukitan di India selatan pada ketinggian berkisar antara 800 hingga 1500 m. Tanaman ini tumbuh sebagai tanaman bawah karena tumbuh paling baik di tempat teduh seperti di bawah pepohonan dan beriklim dingin di dataran tinggi (Nair, 2006).

Dalam (Rakha, 2021) kapulaga hijau atau kapulaga seberang memiliki batang dengan pelepah daun yang membalut batang dengan tinggi hingga 2-3 meter. Daunnya terletak berselang-seling, dan buahnya berkumpul dalam tandan kecil dan pendek (Gambar 2.3 b). Menurut (Saras, 2023) daun kapulaga hijau berbentuk lebar dan panjang, serta memiliki bunga kecil berwarna putih atau hijau pucat. Kemudian buah kapulaga hijau memiliki kulit yang tipis, berwarna hijau cerah, dan memiliki aroma yang tajam. Buah dari buah kapulaga banyak digunakan untuk penyedap makanan. Selain itu, benihnya digunakan dalam pengobatan batuk, pilek, bronkitis, asma dan gangguan pencernaan. Kapulaga memiliki sifat karminatif, obat perut, diuretik, antibakteri, antivirus dan sifat antijamur (Bhatti et al., 2010).

Kapulaga memiliki buah berbentuk kapsul, lonjong atau lebih atau kurang bulat. Bila sudah matang, buah kapulaga berbentuk bulat atau elips, berdinding tipis, dan halus atau dengan tonjolan memanjang (Gambar 2.3 c). Buahnya berwarna hijau dan berubah menjadi kuning keemasan saat matang. Bijinya berwarna putih saat belum matang, dan menjadi hitam saat matang. Jumlah biji per kapsul buah bervariasi antara 10 dan 20, tergantung pada genotipe. Bijinya diselaputi oleh lendir tipis (ari). Tingkat pembentukan buah paling tinggi yaitu saat kelembaban atmosfer sangat tinggi di wilayah tumbuhnya kapulaga. Pembentukan buah akan lebih sedikit di bulan-bulan musim panas, bahkan saat tanaman diairi. Perbedaan ini jelas menunjukkan bahwa tanaman tumbuh paling baik di tempat yang sejuk dan berawan iklim (Nair, 2006).

Menurut Burt & Smith (1983) dalam (Nair, 2006) pada bunga kapulaga, biasanya bunga tumbuh terpisah pada tangkai yang terlentang, tegak atau setengah

tegak hingga sepanjang 40 cm atau lebih dalam kasus tertentu. Nektar terdapat di tabung mahkota yang panjangnya 23 x 2,08 mm (kisaran 21,48 hingga 30,4 mm) dan dilalui oleh tangkai putik. Kelopak bunga sekitar 2 cm panjangnya, berlobus 2 atau 3. Lobusnya berukuran 1-1,5 cm. Bractioles sekitar 2,5 cm panjangnya, berbentuk tabung. Labellum berwarna putih, bergaris ungu, berukuran 1,5-2,1 cm di bagian terlebar. Kepala sari bertangkai pendek, panjangnya sekitar 1 cm. Ovarium panjangnya sekitar 2-3 mm (Gambar 2.3 c).

2.5 Kandungan Kapulaga Hijau (*Elettaria cardamomum*)

Kapulaga hijau mengandung senyawa terpinena, sabinena, limonena, 1,8-sineol, α -terpineol, α -terpinil asetat, terpinen-4il format, dan asetat serta terpinen-4-ol (Tabel 2.1). Buah kapulaga kering mengandung minyak atsiri, minyak lemak tetap, pigmen, protein, selulosa, pentosan, gula, pati, silika, kalsium oksalat, dan mineral. Kandungan utama bijinya adalah pati, hingga 50%, sedangkan serat kasarnya mencapai 31% di kulit buah. Biji kapulaga hijau memiliki aroma yang menyenangkan dan rasa hangat yang khas, sedikit menyengat. Aroma dan rasa pada kapulaga diperoleh dari minyak atsirinya. Bau dan rasa khas kapulaga ditentukan oleh komposisi relatif bahan-bahan minyak atsirinya. Komposisi minyak kapulaga telah dipelajari oleh berbagai peneliti dan senyawa utama yang ditemukan adalah 1,8 sineol (20-60%) dan α -terpinil asetat (20-55%) (Nair, 2006; Amma, et, al. 2010). Berikut (Tabel 2.1) merupakan komponen utama minyak atsiri dalam kapulaga :

Tabel 2. 1 Komponen utama minyak atsiri kapulaga

Komponen	Minyak total (%)
α -Pinene	1.5
β -Pinene	0.2
Sabinene	2.8
Myrcene	1.6
α -Phellandrene	0.2
Limonene	11.6
1,8-Cineole	36.3
Terpinene	0.7
Cymene	0.1
Terpinolene	0.5
Linalool	3

Komponen	Minyak total (%)
Linalyl acetate	2.5
Terpinen-4-ol	0.9
α -Terpineol	2.6
α -Terpinyl acetate	31.3
Citronellol	0.3
Nerol	0.5
Geraniol	0.5
Methyl eugenol	0.2
Trans-nerolidol	2.7

Sumber : Nair, 2006.

2.6 Ekstrak Kapulaga

2.6.1 Definisi Ekstraksi

Ekstraksi merupakan teknik pemisahan kimia guna memisahkan atau menarik satu atau lebih komponen atau senyawa (analit) dari suatu sampel dengan menggunakan pelarut tertentu yang sesuai (Leba, 2017). Sedangkan menurut (Yulinar & Suharti, 2023) ekstraksi merupakan proses pemisahan satu atau lebih bagian dari suatu campuran homogen melalui penggunaan pelarut cair (solvent). Pelarut yang digunakan harus memiliki kemampuan untuk mengekstrak zat yang diinginkan tanpa melarutkan bahan lain. Hal tersebut selaras dengan pernyataan menurut (Najib, 2018) bahwa ekstraksi merupakan salah satu upaya untuk menarik sari yang terkandung pada sampel. Proses ekstraksi yaitu dilakukan oleh cairan penyari untuk menarik keluar zat aktif yang beberapa terkandung dalam tanaman obat. Untuk mengeluarkan zat aktif dari dalam sel, diperlukan cairan penyari atau pelarut tertentu. Cairan penyari yang dapat digunakan diantaranya, metanol, etanol, kloroform, heksan, eter, aseton, ben zen dan etil asetat.

2.6.2 Metode Ekstraksi

Metode ekstraksi terbagi berdasarkan beberapa kriteria, yaitu berdasarkan cara pelaksanaan dan bentuk substansi yang diekstraksi. Berdasarkan cara pelaksanaannya yaitu cara dingin dan cara panas, sedangkan berdasarkan bentuk substansinya yaitu ekstraksi cair-cair dan ekstraksi padat-cair (Najib, 2018). Pada penelitian ini metode ekstraksi yang akan digunakan yaitu menggunakan

metode maserasi. Maserasi berasal dari bahasa Latin yaitu “*Macerare*” yang memiliki arti rendam (Mun'im & Ahmad, 2023). Proses maserasi melibatkan perendaman sampel dalam pelarut yang melarutkan analit pada suhu kamar. Untuk mempercepat proses pelarutan analit, sampel biasanya direndam selama 3 sampai 5 hari dengan pengadukan berkala. Sampai analit terekstraksi sempurna, ekstraksi dilakukan beberapa kali. Pelarut yang digunakan tidak berwarna, yang menunjukkan bahwa semua analit telah terekstraksi sepenuhnya. Selain dapat diterapkan pada jenis analit yang tahan panas dan tidak tahan panas, kelebihan ekstraksi maserasi adalah memerlukan alat dan teknik yang sangat mendasar. Namun kekurangannya yaitu menggunakan banyak pelarut (Leba, 2017).

Metode maserasi dalam (Najib, 2018) terdapat beberapa modifikasi, diantaranya sebagai berikut :

- 1) Maserasi menggunakan mesin pengaduk. Penggunaan mesin pengaduk yang terus menerus berputar berfungsi untuk mempercepat proses ekstraksi/penyarian.
- 2) Remaserasi, proses ini merupakan ekstraksi yang dilakukan setelah proses ekstraksi pertama selesai, diperas atau disaring kemudian ditambahkan lagi cairan pelarut.
- 3) Maserasi melingkar, proses maserasi dapat diperbaiki dengan mengusahakan agar cairan pelarut selalu bergerak dan menyebar. Melalui cara ini, cairan pelarut akan mengalir kembali secara berkesinambungan melalui serbuk simplisia dan melarutkan senyawa aktifnya.
- 4) Maserasi melingkar bertingkat, merupakan modifikasi dari maserasi melingkar yang digunakan untuk mengatasi keterbatasan proses ekstraksi, karena pada metode awal perpindahan massa berhenti saat tercapai kesetimbangan.

2.7 Hasil Penelitian yang Relevan

Penelitian mengenai komposisi kimia, aktivitas antibakteri, dan potensi antioksidan dari minyak esensial dan ekstrak *Zingiber officinale* (jahe) dan *Elettaria cardamomum* (kapulaga) yang dilakukan oleh (Tarfaoui et al., 2022) menyimpulkan bahwa hasil analisis yang telah dilakukan dengan menggunakan kromatografi gas-spektrometri massa (GC-MS) menemukan 17 senyawa dalam

minyak kapulaga dan 43 senyawa dalam minyak jahe. Komponen utama dari keduanya adalah zingiberen (22,18%) dalam minyak jahe, dan 1,8-cineol terdapat dalam minyak kapulaga. 43,47%. Sembilan jenis bakteri dan jamur diuji pada minyak esensial dan ekstrak. Hasilnya menunjukkan bahwa minyak jahe memiliki zona hambat 24 mm untuk bakteri *Staphylococcus aureus*, sementara minyak kapulaga memiliki sifat antibakteri yang kuat terhadap *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat 20 mm.

Selain itu, penelitian yang telah dilakukan oleh (Poyil & Shamna, 2022) dimana Studi ini melihat sifat antibakteri ekstrak metanol dari polong kapulaga (*Elettaria cardamomum*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Klebsiella pneumoniae*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kapulaga pada konsentrasi 500 dan 1000 mg/mL menciptakan zona hambat pertumbuhan yang lebih besar untuk kedua bakteri tersebut. Dengan konsentrasi minimum inhibisi (MIC) 7,8 mg/mL untuk *Klebsiella pneumoniae* dan 3,9 mg/mL untuk *Staphylococcus aureus*, ekstrak metanol dari kapulaga menunjukkan aktivitas antibakteri yang signifikan terhadap patogen MDR. Ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol dari kapulaga dapat menjadi kandidat untuk pengembangan pengobatan infeksi akibat bakteri resisten.

Kemudian penelitian yang telah dilakukan oleh (Abdullah et al., 2021) menghasilkan bahwa Minyak esensial kapulaga hijau (*Elettaria cardamomum*) memiliki aktivitas antibakteri dan antibiofilm yang melawan bakteri patogen *Escherichia coli* O157:H7 dan *Salmonella Typhimurium* JSG 1748. Hasil analisis GC-MS menunjukkan bahwa komponen utama minyak esensial kapulaga adalah α -terpinyl acetate (34,95%), 1,8-cineole (25,30%), linalool acetate (8,13%), dan sabinene (5,48%). Minyak esensial kapulaga memiliki MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) sebesar 1% terhadap bakteri *Escherichia coli*.

2.8 Kerangka Konseptual

Kapulaga hijau (*Elettaria cardamomum*) merupakan salah satu tanaman biofarmaka yang banyak dimanfaatkan dalam bidang kesehatan karena kandungan metabolit sekundernya yang beragam. Tanaman ini diketahui mengandung berbagai senyawa aktif seperti flavonoid, saponin, tanin, alkaloid, serta minyak

atsiri yang terdiri dari komponen monoterpenoid dan seskuiterpenoid, antara lain 1,8-sineol (eucalyptol), α -terpineol, limonene, dan terpinen-4-ol. Senyawa-senyawa tersebut memiliki aktivitas antibakteri dengan mekanisme yang berbeda-beda, seperti menghambat sintesis dinding sel, merusak membran sel, serta mengganggu proses metabolisme dan sintesis protein bakteri.

Dalam penelitian ini, ekstrak kapulaga hijau digunakan untuk menguji efektivitasnya terhadap pertumbuhan dua jenis bakteri, yaitu *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Kedua bakteri tersebut dipilih karena mewakili dua kelompok bakteri yang berbeda, yaitu Gram negatif dan Gram positif, yang secara struktural memiliki perbedaan mendasar pada dinding selnya. *Escherichia coli* memiliki lapisan peptidoglikan yang tipis namun dilindungi oleh lapisan lipopolisakarida (LPS) pada membran luarnya, sehingga lebih tahan terhadap penetrasi senyawa antibakteri. Sebaliknya, *Staphylococcus aureus* yang merupakan bakteri Gram positif memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal namun tanpa membran luar, sehingga cenderung lebih mudah ditembus oleh senyawa antibakteri.

Proses penghambatan pertumbuhan bakteri oleh ekstrak kapulaga hijau diduga terjadi karena kandungan senyawa aktifnya mampu menembus dinding sel bakteri dan mengganggu kestabilan membran sitoplasma. Seperti senyawa flavonoid diketahui dapat membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan mengganggu integritas membran sel sehingga menyebabkan kebocoran komponen seluler. Senyawa saponin bekerja dengan menurunkan tegangan permukaan membran sel, sedangkan minyak atsiri seperti 1,8-sineol dan α -terpineol dapat menyebabkan denaturasi protein dan kerusakan membran sel bakteri. Akibatnya, proses metabolisme sel terganggu dan bakteri mengalami lisis atau kematian.

Dalam penelitian ini, konsentrasi ekstrak kapulaga hijau dijadikan sebagai variabel bebas yang diujikan pada beberapa tingkat konsentrasi, yaitu 5%, 10%, 15%, dan 20%. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka jumlah senyawa aktif yang terkandung juga semakin besar. Peningkatan konsentrasi ini diharapkan menghasilkan zona hambat yang lebih luas terhadap pertumbuhan bakteri uji. Zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan satuan milimeter (mm) sebagai

variabel terikat untuk menentukan tingkat efektivitas antibakteri dari setiap perlakuan.

Selain itu, beberapa faktor lain seperti jenis media, suhu inkubasi, waktu inkubasi, metode pengujian yang merupakan variable kontrol dijaga tetap agar tidak memengaruhi hasil penelitian dan penting untuk memastikan bahwa perbedaan zona hambat yang muncul benar-benar disebabkan oleh pengaruh ekstrak kapulaga hijau, bukan oleh faktor luar lainnya. Dengan demikian, diharapkan hasil penelitian ini dapat memberikan bukti ilmiah bahwa kapulaga hijau berpotensi sebagai sumber antibakteri alami yang efektif dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

2.9 Hipotesis Penelitian

H_0 : Ekstrak Kapulaga Hijau (*Elettaria cardamomum*) tidak efektif dalam menghambat pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan Bakteri *Staphylococcus aureus*.

H_a : Ekstrak Kapulaga Hijau (*Elettaria cardamomum*) efektif dalam menghambat pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan Bakteri *Staphylococcus aureus*.