

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Penelitian Terdahulu

Tabel 2. 1 Penelitian Terdahulu

| Peneliti | Bakteri | Bagian tumbuhan/ekstrak | Hasil |
|----------------------------------|--|----------------------------|---|
| Novi Fajar U, <i>et al.</i> 2019 | <i>Shigella dysenteriae</i> | Daun, Maserasi dan refluks | Ekstrak daun jeruk bali yang dihasilkan dari refluks tidak hanya memiliki kadar flavonoid yang lebih tinggi tetapi juga menunjukkan daya hambat yang lebih baik (dengan diameter daya hambat yang lebih besar) dibandingkan dengan ekstrak hasil maserasi. Kedua metode ekstraksi ini mulai menunjukkan daya hambat pada konsentrasi 35%, dengan rendemen ekstrak masing-masing 17,98±0,39% untuk refluks dan 19,09±0,49% untuk maserasi. |
| Ifandari dan Nuryandani, 2022 | <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Daun, Maserasi etanol | Ekstrak daun <i>C. nobilis</i> dengan konsentrasi 50% memiliki aktivitas antibakteri <i>S. aureus</i> relatif lebih tinggi dibandingkan kedua ekstrak daun jeruk yang lain, sedangkan pada bakteri <i>P. aeruginosa</i> aktivitas antibakteri ekstrak daun <i>C. maxima</i> relatif lebih tinggi daripada ekstrak daun jeruk yang lain. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak daun jeruk dari <i>C. nobilis</i> , <i>C. sinensis</i> , dan <i>C. maxima</i> memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan <i>S. aureus</i> dan <i>P. aeruginosa</i> . |
| Raharjo Dewi, 2018 | <i>S. aureus</i> dan <i>E. coli</i> | Daun, maserasi etanol | Ekstrak daun jeruk bali memiliki daya hambat terhadap <i>S. aureus</i> dan <i>E. coli</i> . Daya hambat antar keduanya memiliki perbedaan bermakna. <i>E. coli</i> mampu berdaya hambat lebih kuat dibandingkan dengan <i>S. aureus</i> |
| Arfadil Khair Kautsar | <i>E. coli</i> | Maserasi etanol, daun | Ekstrak etanol daun jeruk bali tidak memiliki efektifitas untuk menghambat pertumbuhan bakteri <i>E. coli</i> |

Persamaan penelitian ini dengan penelitian terdahulu yang terdapat pada tabel diatas adalah sama menggunakan ekstrak etanol dari daun jeruk bali. Sedangkan perbedaan penelitian ini dengan penelitian sebelumnya yaitu pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jeruk bali terhadap bakteri *Staphylococcus* seperti *S. aureus*, *S. hominis* dan *S. epidermidis* dengan menggunakan metode makrodilusi. Lalu pada penelitian ini dilakukan skrinning fitokimia menggunakan metode reagen dan analisis kuantitatif kadar flavonoid fenolik total dalam daun jeruk bali.

B. Landasan Teori

1. Klasifikasi Tumbuhan Jeruk Bali

Kingdom : Plantae
Phylum : Streptophyta
Class : Equisetopsida
Subclass : Magnoliida
Order : Sapindales
Family : *Rutaceae*
Genus : *Citrus*
Species : *Citrus maxima* (Kew Science, 2023)



Gambar 2. 1 Jeruk Bali (*Citrus maxima* Merr) (Kew Science, 2023)

2. Morfologi Jeruk Bali

Pohon jeruk bali (*Citrus maxima* Merr.) merupakan tanaman yang dapat tumbuh tinggi hingga 15 meter dengan batang kokoh berdiameter hingga 30 cm. Kulit batang bagian luar berwarna coklat kekuningan, sedangkan bagian dalamnya berwarna kuning. Cabang-cabang pohon ini cenderung merunduk, terutama pada bagian ujungnya. Daun jeruk bali berukuran besar dan berbentuk oval, dengan tepi yang sedikit bergelombang. Tangkai daunnya lebat dan berwarna kekuningan. Buah jeruk bali berbentuk bulat atau sedikit lonjong, memiliki kulit yang tebal, dan terbagi menjadi beberapa segmen. Daging buahnya berwarna merah muda, memiliki tekstur yang bervariasi dari keras hingga lunak, serta rasa manis yang sedikit asam (Kautsar, 2021).

3. Nama Lokal dan Sinonim Jeruk Bali

Jeruk bali dikenal juga dengan beberapa nama lain, seperti jeruk besar, jeruk cikoneng, jeruk limau makan, jeruk limau besar, dan jeruk pamelu (Kautsar, 2021).

4. Kandungan Kimia dan Manfaat Jeruk Bali

Jeruk bali (*C. maxima*) termasuk salah satu jenis jeruk yang berasal dari Indonesia. Buah ini telah lama dikenal dan dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia karena kandungan nutrisi dan senyawa bioaktif yang terkandung di dalamnya. Dalam beberapa tahun terakhir, telah banyak penelitian yang dilakukan untuk mengkaji secara lebih mendalam mengenai komposisi kimia dan potensi manfaat jeruk bali bagi kesehatan.

Jeruk bali tidak hanya mengandung vitamin B, provitamin A, vitamin B2, dan asam folat, tapi juga memiliki komposisi nutrisi yang mengesankan. Dalam setiap 100 gramnya, terdapat 53 kkal energi, 0,6 gram protein, 0,2 gram lemak, 12,2 gram karbohidrat, 125 mcg retinol, 23 mg kalsium, dan 27 mg fosfor. Kandungan penting lainnya adalah flavonoid, pektin, dan *lycopene* (Kautsar, 2021).

Jeruk bali kaya akan beragam senyawa, termasuk beberapa asam amino (*alanine, asparagine, asam aspartat, coline, asam glutamat, glycine, proline, n-methylantranilate*), empat jenis karbohidrat (*phytol, fructose, glucose*), serta berbagai flavonoid (*acacetin, cosmosiin, luteolin, naringenin, naringin, narirutin, neoriocitrin, neohesperidin, poncirin, rhoifolin, rutin*). Buah ini juga mengandung monoterpen (*-pinene, -pinene, citral, citronellal, geraniol acetate, limonene, linalool, linalyl acetate, myrcene, neral*), sesquiterpen (*-caryophyllene*), triterpen (*limonin, nomilin, obacunone*), dan asam-asam organik seperti asam fumarat, asam malonat, asam oksalat, asam suksinat, dan asam tartrat (Qonitah, 2017). Daun jeruk bali mengandung berbagai senyawa bioaktif, terutama senyawa fenolik yang berperan penting dalam aktivitas antibakteri (Susanto et al., 2018). Mekanisme kerja senyawa fenolik sebagai antibakteri meliputi gangguan pada membran sel bakteri, inaktivasi enzim esensial, dan gangguan sintesis protein bakteri (Kumar dan Pandey, 2013). Senyawa fenolik utama yang

telah teridentifikasi dalam daun jeruk bali meliputi flavonoid, tanin, dan asam fenolik. Kandungan flavonoid dalam kulit jeruk bali mempunyai efek sebagai antioksidan sedangkan pektin pada jeruk bali memiliki fungsi sebagai antimikroba. Jeruk bali juga mengandung senyawa limonen yang dapat memberikan rasa pahit (Bhuiyan et al., 2019).

Berbagai kandungan senyawa bioaktif yang terdapat dalam jeruk bali memberikan potensi manfaat yang luas bagi kesehatan. Studi epidemiologi menunjukkan bahwa konsumsi jeruk bali dapat menurunkan risiko penyakit kardiovaskular, diabetes, dan beberapa jenis kanker (WHO, 2021). Selain itu, jeruk bali juga dapat berperan dalam menjaga kesehatan saluran pencernaan, meningkatkan sistem kekebalan tubuh, dan mengurangi risiko penuaan dini.

5. Senyawa Fenolik

Senyawa fenolik merupakan salah satu kelompok metabolit sekunder yang memiliki peran penting dalam aktivitas antibakteri. Struktur dasar senyawa fenolik ditandai dengan adanya cincin aromatik yang mengikat satu atau lebih gugus hidroksil (-OH), yang berperan dalam mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri (Hassan *et al.* 2021). Kompleksitas struktur dan variasi gugus fungsional pada senyawa fenolik memberikan spektrum aktivitas antibakteri yang luas, mencakup bakteri gram positif maupun gram negatif.

Mekanisme aktivitas antibakteri senyawa fenolik terjadi melalui beberapa jalur. Pertama, senyawa fenolik dapat berinteraksi dengan membran sel bakteri melalui ikatan hidrogen antara gugus hidroksil dengan fosfolipid dan protein membran, yang mengakibatkan perubahan permeabilitas membran dan gangguan transport ion esensial (Zhang *et al.* 2020). Kedua, senyawa fenolik dapat menginaktivasi enzim-enzim penting dalam metabolisme bakteri dengan cara berikatan pada sisi aktif enzim atau mengubah konformasi protein enzim (Wang *et al.* 2023).

Efektivitas senyawa fenolik sebagai antibakteri dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk struktur kimia, konsentrasi, dan kondisi lingkungan. Penelitian terkini menunjukkan bahwa jumlah dan posisi gugus

hidroksil pada cincin aromatik berkorelasi positif dengan aktivitas antibakteri, dimana semakin banyak gugus hidroksil umumnya menghasilkan aktivitas yang lebih kuat (Li *et al.* 2022). Selain itu, substituen lain seperti gugus alkil atau metoksi juga dapat mempengaruhi lipofilisitas molekul, yang berperan dalam penetrasi senyawa fenolik ke dalam sel bakteri.

Senyawa fenolik dari berbagai sumber alami telah menunjukkan potensi yang menjanjikan sebagai agen antibakteri. Ekstrak tumbuhan yang kaya akan senyawa fenolik seperti flavonoid, tanin, dan asam fenolat menunjukkan aktivitas antibakteri yang signifikan terhadap berbagai patogen. Studi terbaru mengungkapkan bahwa kombinasi berbagai senyawa fenolik dapat menghasilkan efek sinergis dalam penghambatan pertumbuhan bakteri (Chen *et al.* 2024). Hal ini membuka peluang pengembangan antibakteri alami yang lebih efektif dengan memanfaatkan kompleksitas senyawa fenolik dari ekstrak tumbuhan.

6. Senyawa Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa polifenol alami yang paling banyak ditemukan di alam, terutama dalam tanaman. Senyawa-senyawa ini telah menarik banyak perhatian dari para peneliti dan ilmuwan di seluruh dunia karena potensi manfaatnya yang beragam bagi kesehatan manusia. Flavonoid dapat ditemukan dalam berbagai jenis tanaman pangan, termasuk buah-buahan, sayuran, dan tanaman rempah . Beberapa sumber utama flavonoid yang kaya adalah jeruk, apel, teh, bawang, dan kakao. Struktur kimia flavonoid terdiri dari dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh tiga atom karbon, membentuk inti dasar C₆-C₃-C₆ (Kautsar, 2021).

Flavonoid merupakan senyawa alami yang memiliki beragam khasiat untuk meningkatkan Kesehatan secara menyeluruh. Selain berperan sebagai antioksidan yang kuat, flavonoid juga memiliki sifat anti-inflamasi yang dapat mengurangi peradangan dalam tubuh. Kemampuannya untuk mencegah mutase sel dan pertumbuhan sel kanker membuatnya menjadi senyawa sangat potensial dalam pencegahan penyakit. Selain itu, flavonoid juga dapat mengatur aktivitas enzim-enzim penting dalam tubuh, seperti

xanthine oxidase, cyclooxygenase, lipoxygenase, dan phosphoinositide 3-kinase. Oleh karena beragam manfaatnya tersebut, flavonoid menjadi komponen utama dalam berbagai produk Kesehatan, farmasi dan kosmetik (Khoirunnisa dan Sumiwi, 2019).

Selain itu, flavonoid juga diketahui memiliki aktivitas anti-inflamasi, antimikroba, antidiabetes, dan kardioprotektif. Menurut Arifin dan Ibrahim, (2018). Flavonoid merupakan senyawa dengan potensi farmakologis yang luas. Kemampuan antioksidannya yang kuat menjadikan flavonoid efektif dalam pencegahan dan pengobatan berbagai penyakit, termasuk kanker, infeksi, peradangan, dan gangguan jantung. Proses metilasi pada gugus hidroksil flavonoid meningkatkan stabilitas metabolik dan bioavailabilitas senyawa ini. Aktivitas antioksidan flavonoid sangat dipengaruhi oleh struktur kimianya, terutama jumlah dan posisi gugus hidroksil.

7. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan salah satu teknik pemisahan dan pemurnian yang penting dalam bidang kimia, farmasi, dan bioteknologi. Proses ekstraksi melibatkan pemindahan suatu komponen atau senyawa dari suatu matriks atau medium ke dalam pelarut yang sesuai, sehingga komponen tersebut terpisah dari komponen lain yang ada dalam matriks. Berbagai penelitian terbaru, baik di Indonesia maupun di luar negeri, telah mengeksplorasi dan mengembangkan metode-metode ekstraksi yang efektif dan efisien untuk berbagai aplikasi.

Penelitian yang dilakukan oleh Qonitah, (2017), pemilihan metode ekstraksi yang tepat sangat penting untuk memaksimalkan perolehan senyawa target dan meminimalkan kontaminasi. Beberapa faktor yang perlu dipertimbangkan dalam memilih metode ekstraksi meliputi sifat fisikokimia senyawa target, karakteristik matriks, ketersediaan pelarut, serta efisiensi dan selektivitas proses. Metode ekstraksi konvensional yang sering digunakan antara lain maserasi, perkolasi, dan soxhlet, sedangkan metode modern yang telah berkembang termasuk ekstraksi dengan bantuan gelombang ultrasonik, gelombang mikro, dan cairan superkritik. Tinjauan

sistematis oleh Arrofiqi *et al.*, (2024) Metode-metode seperti maserasi, perkolasi, refluks, soxhlet, digesti, infusa, dan dekokta telah terbukti efektif dalam memisahkan senyawa bioaktif dari bahan alam dengan kelebihan dan kekurangan masing-masing. Meskipun metode konvensional ini menawarkan keuntungan dalam hal kemudahan penggunaan dan biaya yang relatif rendah, metode ekstraksi konvensional juga memiliki keterbatasan, terutama terkait dengan waktu proses yang lebih lama dan potensi degradasi senyawa akibat paparan suhu tinggi. Sehingga, optimalisasi lebih lanjut diperlukan untuk meningkatkan efisiensi dan kualitas ekstraksi, terutama dalam aplikasi skala besar di industri.

Selain jenis pelarut, parameter lain yang mempengaruhi efisiensi ekstraksi adalah rasio bahan baku dengan pelarut, ukuran partikel, suhu, dan waktu ekstraksi. Sebuah studi oleh Latifah *et al.*, (2018) menunjukkan bahwa optimasi parameter-parameter ini dapat meningkatkan perolehan senyawa aktif dari berbagai tanaman obat. Misalnya, penggunaan suhu yang lebih tinggi cenderung meningkatkan laju perpindahan massa senyawa dari matriks ke pelarut, namun dapat menyebabkan dekomposisi termal senyawa yang termosensitif.

Selain mengekstraksi senyawa-senyawa dari bahan alam, teknik ekstraksi juga dimanfaatkan untuk memurnikan dan memisahkan berbagai biomolekul penting, seperti protein, enzim, dan asam nukleat, dari sampel biologis. Metode ekstraksi cair-cair dan kromatografi afinitas telah banyak digunakan untuk memurnikan protein rekombinan dari bakteri dan sel mamalia. Sedangkan ekstraksi asam nukleat dari sampel klinis atau lingkungan biasanya melibatkan lisis sel, pengikatan asam nukleat pada matriks padat, dan elusi.

8. Maserasi

Maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi senyawa dari bahan alam yang paling umum digunakan, terutama dalam industri farmasi dan kosmetik. Proses maserasi melibatkan perendaman bahan dalam pelarut yang sesuai pada suhu ruang selama periode waktu tertentu, sehingga senyawa-senyawa yang terkandung dalam bahan dapat larut dan tertarik ke

dalam pelarut. Berbagai penelitian terbaru, baik dari Indonesia maupun luar negeri, telah mengkaji secara mendalam mengenai prinsip, parameter, dan aplikasi maserasi untuk memaksimalkan hasil ekstraksi.

Menurut studi yang dilakukan oleh Asworo dan Widwiasuti, (2023), prinsip utama maserasi adalah perbedaan konsentrasi senyawa antara bahan dan pelarut, yang menyebabkan perpindahan massa senyawa dari dalam sel bahan ke dalam pelarut. Faktor-faktor yang mempengaruhi efisiensi maserasi antara lain jenis dan polaritas pelarut, rasio bahan:pelarut, ukuran partikel bahan, suhu, dan waktu perendaman. Pemilihan pelarut yang tepat sangat penting karena akan menentukan senyawa-senyawa apa saja yang dapat terekstrak. Pelarut polar seperti etanol, metanol, dan air umumnya digunakan dalam proses maserasi untuk mengekstrak senyawa-senyawa polar seperti flavonoid, alkaloid, dan glikosida. Sementara itu, pelarut nonpolar seperti heksana dan diklorometana lebih sesuai untuk mengekstrak senyawa-senyawa nonpolar seperti terpenoid dan lipid. Perbandingan bahan dan pelarut juga harus dioptimalkan agar diperoleh rendemen ekstrak yang tinggi.

Selain itu, ukuran partikel bahan juga mempengaruhi luas permukaan kontak antara bahan dan pelarut, sehingga semakin kecil ukuran partikel maka semakin besar luas permukaan dan semakin efektif proses perpindahan massa senyawa. Menurut penelitian Asworo dan Widwiasuti, (2023), penggunaan ukuran partikel 200 mesh menghasilkan perolehan rendemen yang tinggi dari kulit sirsak. Lebih lanjut, suhu dan waktu maserasi juga perlu diperhatikan. Umumnya, suhu ruang (20-25°C) digunakan agar senyawa target tidak rusak akibat pemanasan. Sedangkan untuk waktu maserasi, studi oleh Asworo dan Widwiasuti, (2023) menemukan bahwa lama perendaman 24 jam cukup efektif untuk mengekstrak senyawa bioaktif dari berbagai bahan alam. Waktu yang terlalu singkat dapat menyebabkan rendemen rendah, sedangkan waktu yang terlalu lama berisiko merusak senyawa target.

Maserasi telah banyak diaplikasikan untuk mengekstrak senyawa-senyawa bernilai tinggi dari berbagai tanaman obat, rempah, dan sayuran.

Contohnya, penelitian Latifah *et al.*, (2018) menunjukkan bahwa maserasi daun sirsak dengan etanol dapat menghasilkan ekstrak kaya senyawa antioksidan seperti flavonoid dan alkaloid. Hasil ekstraksi maserasi juga dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku industri farmasi, kosmetik, dan pangan fungsional.

9. Bau badan dan Bakteri Penyebab Bau Badan

Bau badan merupakan masalah umum yang dialami banyak orang dan dapat mempengaruhi kualitas hidup seseorang. Beberapa bakteri utama yang bertanggung jawab atas timbulnya bau badan adalah *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus hominis* dan *Staphylococcus epidermidis*. Berbagai penelitian terbaru, baik dari Indonesia maupun luar negeri, telah mengkaji secara mendalam mengenai karakteristik, mekanisme, dan pengendalian ketiga jenis bakteri ini. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Lailiyah *et al.*, (2019) di Indonesia, *S. aureus* merupakan salah satu bakteri penyebab bau badan yang paling umum ditemukan. Bakteri ini mampu memproduksi enzim lipase dan protease yang dapat memecah senyawa-senyawa organik pada keringat menjadi asam lemak berantai pendek dan senyawa belerang yang menimbulkan bau tidak sedap. Selain itu, *S. aureus* juga dapat menyebabkan infeksi kulit seperti jerawat dan bisul.

Sementara itu, *Staphylococcus epidermidis* merupakan bakteri komensal yang secara alami ditemukan pada kulit manusia. Meskipun tidak selalu menyebabkan bau badan, studi oleh Masrijal *et al.*, (2022) menunjukkan bahwa *S. epidermidis* mampu mengubah asam amino tertentu menjadi asam lemak volatil rantai pendek yang sangat berbau, yaitu asam *isovaleric* yang berperan pada bau ketiak. Populasi bakteri ini umumnya meningkat pada area tubuh yang lembap dan hangat, seperti ketiak dan lipatan kulit.

Selain kedua spesies di atas, *Staphylococcus hominis* juga diidentifikasi sebagai kontributor penting dalam pembentukan bau badan. Menurut Bawdon *et al.*, (2015) *S. hominis* mampu menghasilkan senyawa organosulfur dan asam lemak rantai pendek yang memiliki aroma tidak

sedap. Bakteri ini sering ditemukan pada kulit manusia, terutama di daerah lipatan dan area yang hangat dan lembap.

Faktor-faktor yang dapat memengaruhi pertumbuhan dan aktivitas ketiga bakteri penyebab bau badan ini antara lain *higiene personal*, suhu dan kelembapan lingkungan, stres, dan kondisi kesehatan kulit. Menjaga kebersihan dan kekeringan area tubuh yang rawan, serta penggunaan antibakteri alami dapat membantu mengendalikan populasi bakteri penyebab bau badan. Berbagai upaya penanganan bau badan yang telah diteliti mencakup penggunaan antiseptik, deodoran, dan probiotik. Menurut Masrijal *et al.*, (2022), senyawa-senyawa alami seperti minyak atsiri dan asam-asam organik juga berpotensi untuk menghambat pertumbuhan bakteri penyebab bau badan secara efektif dan aman. Edukasi mengenai *hygiene* yang baik serta manajemen faktor risiko juga memegang peranan penting dalam mencegah dan mengatasi masalah bau badan.



Gambar 2. 2 *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus hominis* (Bacdiva, 2023)

10. Uji Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri merupakan salah satu metode penting dalam mengevaluasi potensi suatu senyawa, ekstrak, atau agen antimikroba terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri. Metode ini sering diaplikasikan dalam pengembangan obat-obatan, bahan pengawet, dan produk-produk yang membutuhkan aktivitas antibakteri, baik untuk penggunaan medis, pangan, maupun industri lainnya.

Uji antibakteri menggunakan metode dilusi merupakan teknik yang umum digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} dari ekstrak sampel. Metode ini melibatkan pengenceran bertahap dari ekstrak atau senyawa yang diuji dalam media cair, diikuti dengan inokulasi bakteri dan inkubasi untuk mengamati perubahan pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan

perubahan nilai absorbansi atau jumlah koloni yang terbentuk pada media agar (Assauqi *et al.*, 2023).

Dalam penelitian, metode dilusi terdiri dari makrodilusi dan mikrodilusi, biasanya digunakan untuk mengukur konsentrasi inhibitor 50% (*IC*₅₀) dari senyawa antimikroba. Makrodilusi melibatkan pembuatan pengenceran dua kali lipat dalam volume yang lebih besar, biasanya dalam tabung reaksi dengan volume minimal 2 mL. Proses ini dimulai dengan menyiapkan serangkaian konsentrasi senyawa antimikroba yang diuji, kemudian diinokulasi ke setiap tabung reaksi. Setelah mikroba diinkubasi pada kondisi yang sesuai, pertumbuhannya diukur untuk menemukan konsentrasi terendah yang dapat menghambat perkembangan, yang disebut konsentrasi hambat minimum (KHM) dan *IC*₅₀ (Rollando, 2019). Namun, metode ini memiliki kelemahan, termasuk volume media yang lebih besar dan kemungkinan kesalahan dalam larutan uji.

Sebaliknya, mikrodilusi adalah evolusi dari metode makrodilusi yang menggunakan plat mikro 96 sumuran. Ini memungkinkan penggunaan volume yang lebih kecil, biasanya 100 µL per sumur. Metode ini lebih sensitif dan efisien karena dapat menggunakan lebih sedikit reagen dan ruang laboratorium. Dalam mikrodilusi, densitas optik (densitas optik/OD) digunakan untuk mengukur pertumbuhan mikroba setelah perlakuan dengan senyawa uji (Savitri *et al.*, 2020). Nilai *IC*₅₀ dihitung dari persentase penghambatan pertumbuhan mikroba pada berbagai konsentrasi. Nilai *IC*₅₀ dapat dihitung secara akurat dengan menggunakan analisis probit. Dengan nilai *IC*₅₀ yang lebih rendah, senyawa tersebut lebih efektif dalam menghentikan perkembangan mikroba (Rollando, 2019).

Kedua teknik ini sangat berguna dalam penelitian farmasi dan biomedis untuk menilai kekuatan antimikroba berbagai bahan, termasuk ekstrak tumbuhan dan senyawa sintetis. Penentuan nilai *IC*₅₀ tidak hanya memberikan informasi tentang efektivitas suatu agen antimikroba tetapi juga membantu dalam pengembangan terapi baru dan pemahaman interaksi antara senyawa aktif dan mikroorganisme patogen.

11. Spektrofotometri UV-Vis

Salah satu instrumen yang paling sering digunakan dalam analisis kimia adalah spektrofotometer *UV-Vis*, yang digunakan untuk mendeteksi senyawa (padat atau cair) berdasarkan absorbansi foton. Agar sampel dapat menyerap foton dalam daerah *UV-Vis* (panjang gelombang foton antara 200 nm dan 700 nm), sampel biasanya harus diperlakukan atau derivatisasi, misalnya dengan menambah reagen untuk menghasilkan garam kompleks. Senyawa kompleks unsur memungkinkan identifikasinya. Kualitas dan validitas kinerja hasil pengukuran spektrofotometer dalam analisis kimia didasarkan pada standar ISO 17025, *Good Laboratory Practice (GLP)* atau saran *Pharmacopeia* (Irawan, 2019). Adapun kekurangan penggunaan dari instrumen spektrofotometer *UV-Vis* ini adalah bahwa senyawa yang akan dianalisis harus memiliki gugus kromofor atau gugus pembawa warna, ikatan rangkap terkonjugasi dan panjang gelombang berada di daerah *ultraviolet* atau *visible*. Selain itu juga dari pH larutan, suhu, adanya zat pengganggu, dan kebersihan kuvet dapat memengaruhi hasil absorbansi yang diukur (Tetha E.S dan Sugiarto K. S, 2016).

Sinar *ultraviolet (UV)* memiliki panjang gelombang dengan rentang 200 sampai 400 nm. Sedangkan pada sinar tampak (*Vis*) memiliki panjang gelombang dalam rentang 400-750 nm. Spektrofotometer *UV-Vis* banyak digunakan dalam analisis secara kuantitatif karena pada pengukuran spektrofotometri mengandung jumlah energi besar yang dianalisis. Pada pengukuran kuantitatif dilihat berdasarkan nilai absorbansi yang dihasilkan dari spektrum dengan adanya senyawa pengompleks yang dianalisisnya. Hukum *LambertBeer* digunakan sebagai acuan untuk spektrofotometri *UV-Vis* yaitu apabila sumber cahaya monokromatis dilewatkan melalui media transparan, intensitas cahaya yang dipancarkan sebanding dengan ketebalan dan kepekaan media pelarut yang digunakan.

C. Kerangka Konsep

