

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Teori

1. Definisi Ulkus Diabetik

Ulkus diabetik merupakan salah satu bentuk dari komplikasi kronik penyakit diabetes mellitus berupa luka terbuka pada permukaan kulit yang dapat disertai adanya kematian jaringan setempat (Frykeberb, 2002). Ulkus diabetik merupakan luka terbuka pada permukaan kulit akibat adanya penyumbatan pada pembuluh darah ditungkai dan neuropati perifer akibat kadar gula darah yang tinggi sehingga klien sering tidak merasakan adanya luka, luka terbuka dapat berkembang menjadi infeksi disebabkan oleh bakteri *aerob* maupun *anaerob* (Waspadji, 2009). Ulkus kaki pada klien diabetes mellitus yang telah berlanjut menjadi pembedakan memiliki kemungkinan besar untuk diamputasi.

2. Proses Penyembuhan Luka Pada DM

a. Fase Penyembuhan Luka

Penyembuhan luka adalah proses yang kompleks dan dinamis. Proses penyembuhan luka terdiri dari beberapa fase, yaitu fase hemostasis, inflamasi, proliferasi dan maturasi.

1) Fase hemostasis

Tujuan dari fase hemostasis adalah untuk menghentikan perdarahan. Sel yang sangat berperan dalam proses hemostatis adalah Platelet. Platelet akan membentuk bekuan darah yang akan menghentikan perdarahan. Platelet akan mengalami degranulasi, dan pada akhirnya akan terjadi bekuan darah. Selain itu, Platelet juga akan mengeluarkan faktor-faktor pertumbuhan dan sitokin yaitu epidermal growth factor (EGF), transforming growth factor (TGF), dan platelet derived growth factor (PDGF). Faktor pertumbuhan dan sitokin ini akan menarik sel fibroblast dan leukosit ke daerah luka. Setelah fase hemostasis, luka akan mengalami fase inflamasi.

2) Fase inflamasi (peradangan)

Fase inflamasi terjadi pada hari pertama sampai dengan hari keempat. Fase inflamasi ditandai dengan luka yang kemerahan, bengkak, hangat dan sakit. Pada fase inflamasi, faktor pertumbuhan akan mengawali fase inflamasi dengan cara menarik neutrofil dan makrofag ke daerah luka. Neutrofil akan membersihkan debris pada luka dan melawan bakteri. Monosit akan masuk ke dalam luka, dan berubah menjadi makrofag yang berfungsi untuk mensekresikan enzim-enzim untuk mendegradasi jaringan nekrotik, serta mensekresikan faktor pertumbuhan dan sitokin.

3) Fase proliferasi

Fase proliferasi dimulai pada hari ketiga dan berlangsung sampai dengan minggu kedua. Karakteristik dari fase proliferasi adalah migrasi fibroblast dan desposisi matriks ekstraseluler. Pada fase proliferasi, terjadi pembentukan pembuluh-pembuluh darah baru (angiogenesis), sintesis kolagen, kontraksi luka oleh sel myofibroblas, dan reepitelisasi.

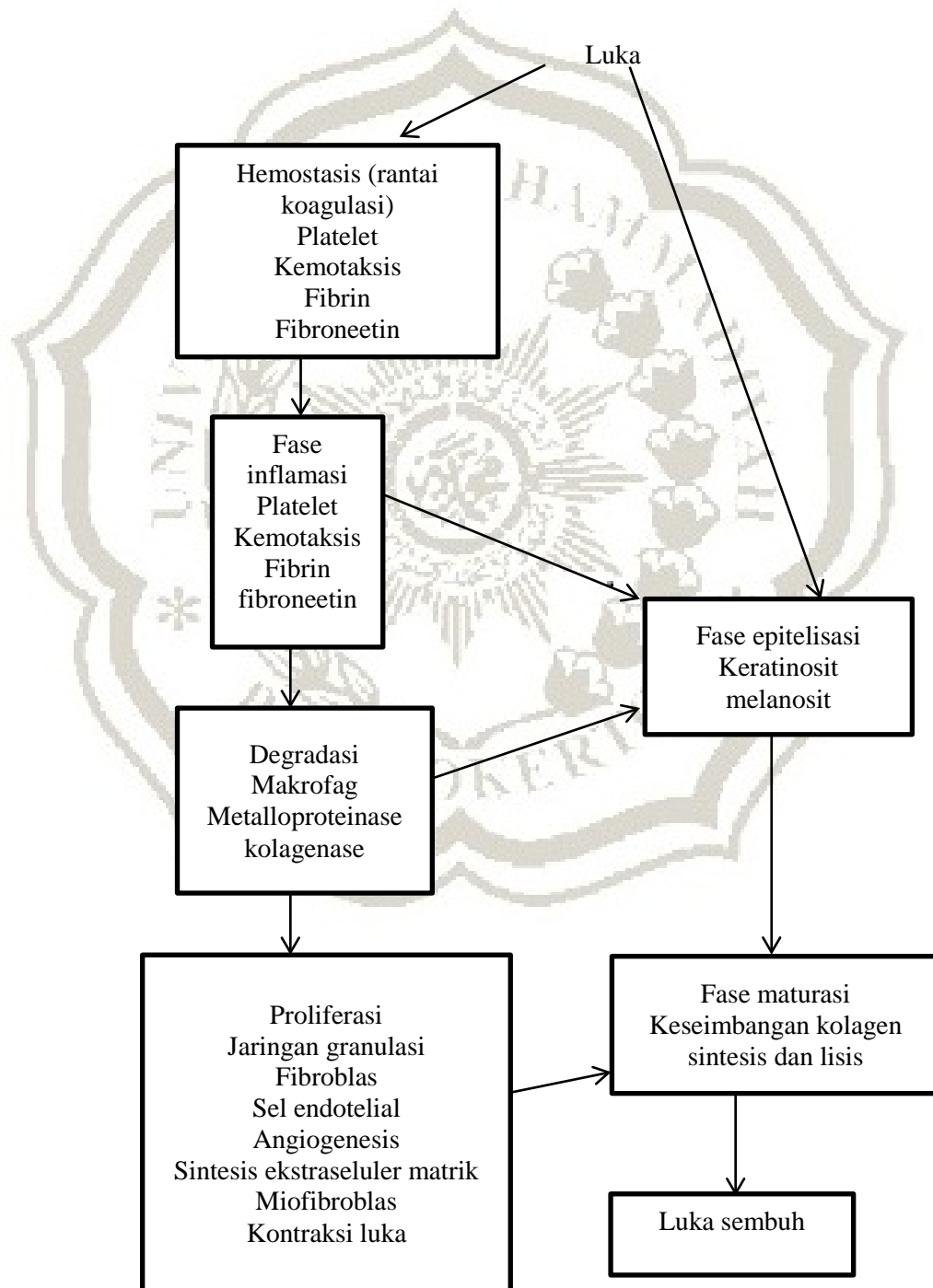
4) Fase maturasi

Fase ini berlangsung selama 1 sampai dengan 2 tahun. Pada penyembuhan luka yang normal, fase maturasi dikontrol oleh mekanisme keseimbangan antara degradasi dan sintesis kolagen. Kekuatan jaringan (tensile strength) luka yang sudah sembuh adalah kira-kira 80% dibandingkan sebelum terjadi luka.

Tabel 2.1 Fase penyembuhan luka dan sel yang berperan

Fase penyembuhan luka	Waktu setelah terjadi luka	Sel yang terlibat	Aktivitas/fungsi
Hemostasis	Segera	Platelet	Pembentukan gumpalan darah
Inflamasi	Hari 1-4	Neutrofil	Fagositosis
Proliferasi	Hari 4-21	Makrofag, limfosit, fibroblast,	Mengisi jaringan yang luka,

			keratinosit	mengembalikan fungsi kulit, penutupan kulit
Maturasi	Hari 21-2 tahun	Fibrosit		Memulihkan kekuatan kulit



Gambar 2.1 Bagan penyembuhan luka pada fase akut (Sussman & Bates-Jensen, 2012)

Tabel 2.2 Sitokin yang berperan dalam penyembuhan luka (Sussman & Bates-Jensen, 2012)

Sel	Sitokin	Fungsi
Platelet	PDGF	Kemotaksis untuk neutrofil
	TGF- β	Ekspresi matriks kolagen pada fase akhir dari penyembuhan luka
Makrofag	PDGF	Kemotaksis untuk neutrofil
	TNF- α	Menginduksi transkripsi matrik <i>metalloproteinase</i> (MMP), pro inflamasi, menstimulasi sintesis <i>nitric oxide</i>
	Interleukin 1 (IL-1)	Pro-inflamasi
	IL-6	Pro-inflamasi
Keratinosit	GM-CSF	Degradasi <i>Extracellular Matrix</i> (ECM)
	G-CSF	Pro inflamasi
	IL-6	Menstimulasi menginduksi keratinosit
	<i>Vascular Endothelial Growth factor</i> (VEGF)	Stimulus angiogenesis
Fibroblast	<i>Keratinocytes Growth Factor 2</i> (KGF-2)	Migrasi sel dari ECM, berperan dalam epitelialisasi
Sel endotelial	IL-1	Pro inflamasi
	TGF β	Mengarahkan ekspresi matrik

(TGF-b)	kolagen
VEGF	Stimulus untuk angiogenesis

b. Gangguan Penyembuhan Luka Pada Luka Diabetes

Luka diabetes memiliki kecenderungan lama untuk sembuh bila dibandingkan dengan luka akut. Hal ini disebabkan oleh faktor-faktor di bawah ini :

- 1) Masa inflamasi yang memanjang. Zat inflamasi dalam luka kronis 100 kali lebih tinggi bila dibandingkan pada luka akut (McLennan, Min, & Yue, 2007). Hal ini kemungkinan dikarenakan adanya invasi bakteri dan jaringan nekrosis pada luka.
- 2) Degradasi yang berlebihan pada jaringan kolagen. Penelitian membuktikan bahwa kadar enzim yang dapat mendegradasi kolagen, yaitu MMP, lebih tinggi pada luka kronis bila dibandingkan pada luka akut. Hasil penelitian peneliti juga membuktikan bahwa luka yang kronis memiliki kadar MMP-2 dan MMP-9 yang lebih tinggi (Sari et al, 2015).
- 3) Adanya penurunan faktor-faktor pertumbuhan seperti VEGF, *basic fibroblast growth factor* (BFGF), dan faktor pertumbuhan lainnya (Kolluru, Bir, & Kevil, 2012). Penurunan

faktor pertumbuhan dapat mengakibatkan lambatnya
peyembuhan luka.

- 4) Gangguan penutupan luka karena adanya perubahan struktural dari keratinosit.
- 5) Adanya peningkatan radikal bebas, yang akhirnya dapat mengakibatkan kerusakan pada dinding pembuluh darah.
- 6) DM akan mengakibatkan perekatan platelet, peningkatan faktor von Wille, dan ketidaknormalan *angiotensin converting enzyme* (ACE). Hal ini mengakibatkan vasokonstriksi kapiler dan memperparah aliran pembuluh darah kecil (King, 2001)
- 7) Terjadi penurunan kontraksi luka, sehingga luka menjadi lebih sulit untuk menutup.

3. Klasifikasi Tanaman Kersen

Tanaman kersen memiliki kedudukan taksonomi sebagai berikut :

Kerajaan	: Plantae (tumbuhan)
Divisi	: Spermatophyta (Tumbuhan Biji)
Anak Divisi	: Angiospermae (Tumbuhan Biji Tertutup)
Kelas	: Dicotyledoneae (Tumbuhan Biji belah)
Anak Kelas	: Dialypetalae
Bangsa	: Malvales / Columniferae
Suku	: Elaeocarpaceae
Genus	: Muntingia

Species : *Muntingiacalabura* L.

Daun Kersen (*Muntingia Calabura* L.) atau biasa disebut cery Indonesia ini adalah nama sejenis pohon yang memiliki buah kecil yang manis. Nama-nama lainnya di beberapa Negara adalah :*datiles*, *aratiles*, *manzanitas* (Filipina), *khoomsomz* (Laos),*krakhobbarang* (Kamboja), *dankerukupsiam* (Malaysia).Jugadikenalsebagaicapulinblonco, *cacaniqua*, *niguito* (bahasaspanyol). *Jamaican cherry*, yang lalu nama tersebut diambil menjadi *kersen* dalam bahasa Indonesia. Ditambahkan oleh Rahman dkk (2010), nama latin buah kersen adalah *Muntingia calabura* L. yang dikenal sebagai *China Cherry*. Disebutkan oleh Soepomo. T. (1991).

4. Deskripsi Tumbuhan Kersen

Daun tanaman ini tunggal, berseling, bulat telur bentuk lanset, panjang 6-10 cm, ujung dan pangkal runcing, tepinya bergerigi, berbulu, system pertulangan menyirip, tidak simetris, hijau, mudah layu. Bunganya berisi 1-3-5 kantung, terletak diketiak agak di sebelah atas tumbuhannya daun, bertangkai panjang, berkelamin dua dan berbilangan 5, kelopak berbagai dalam, taju meruncing bentuk benang, berambut halus, mahkota bertepi rata, bundar telur terbalik dan putih tipis. Benang sari berjumlah banyak, 10 sampai lebih dari 100 helai. Bunga yang mekar menonjol keluar, ke atas helai-helai daun, namun setelah menjadi buah menggantung ke bawah, tersembunyi di bawah

helai daun. Umumnya hanya satu-dua bunga yang menjadi buah dalam tiap berkasnya (Ogata, 1995).

Tanaman ini biasanya tumbuh dengan ukuran kecil namun kadang juga bisa berukuran besar bahkan ada yang bisa mencapai tinggi hingga 12 meter. Daunnya selalu hijau terus menerus, berbunga dan berbuah sepanjang tahun. Cabang-cabang mendatar, menggantung di ujungnya. Membentuk naungan yang rindang. Ranting-ranting berambut halus bercampur dengan rambut kelenjar demikian pula daunnya. Buah memiliki diameter hingga 1,5 cm berbentuk seperti ceri jika matang akan berwarna merah dan berasa manis. Sedangkan bijinya berbentuk bulat, kecil, putih kekuningan, tiap buah mengandung ratusan biji, dan pada akarnya tunggang (Perry, 1980).

5. Khasiat Daun Kersen

Daun kersen berwarna hijau dan berbulu berkhasiat sebagai obat batuk, peluruh dahak, antitumor dan rebusan daun kersen dapat menghambat pertumbuhan mikroba seperti *Corynebacterium diphtheriae*, *Staphylococcus epidermidis* serta dapat digunakan sebagai antiseptic, dan dapat mengatasipenyakit gula darah. Secara tradisional daun kersen telah lama digunakan di Negara Peru dengan pemakaian seperti mengkonsumsi teh untuk menghilangkan rasa sakit seperti sakit kepala dan juga antiradang. Buah kersen dapat dimanfaatkan untuk mengobati sakit kuning, serta jus buah kersen sangat baik dijadikan

sebagai minuman bagi seorang atlet untuk mencegah cedera otot saat beraktivitas. Bagian-bagian tanaman ini telah digunakan sebagai obat-obatan di daerah Asia Tenggara dan di bagian tropis benua Amerika. Akar kersen telah digunakan sebagai abortifacient di Malaysia. Bunga kersen telah biasa digunakan untuk mengobati sakit kepala, antiseptic, antikejang, dan diaporetik. Cairan pada bunga tanaman kersen di minum sebagai obat penenang.

6. Kandungan Kimia Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*)

Kersen (*Muntingia calabura L.*) merupakan salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan yaitu bagian daunnya yang memiliki kandungan minyak atau lemak, apabila dilakukan ekstraksi. Minyak atau lemak (Lipid) pada daun kersen mengandung sebagai antibakteri tidak larut pada pelarut polar, namun larut dalam pelarut non polar seperti Chlorofom (CHCL 3) yang biasanya digunakan sebagai pelarut untuk minyak atau lemak (lipid) dan merupakan pelarut efektif untuk (Karlina, 2015).

Antioksi dan tersebut diduga mampu melindungi sel hati dari kerusakan yang di akibatkan oleh radikal bebas. Pengambilan zat kimia dalam daun kersen dilakukan dengan ekstraksi mirip maserasi dengan pelarut aqua disyillated (Zakaria ZA. 2007). Daun dan kulit batang *Muntingia calabura L.* mengandung alkaloid, tannin, saponin, flavonoida, polifenol, flavonol (kaemferol dan kuersetin) serta

proantosianidin dan sianidin, beberapa mioinositol. Serta setiap 100 gram tanaman ini memiliki kandungan : 76,3 g air, 2,1 g protein, 2,3 g lemak, 17,9 g karbohidrat, 4,6 g serat, 1,4 g abu, 125 mg kalsium, 94 mg fosfor, 0,015 mg vitamin A, 90 mg vitamin C. Nilai energinya 380 kj/100 g.

7. Aktivitas Farmakologi Daun Kersen

Buah kersen memiliki kandungan vitamin C 80,5 mg, kandungan kalium pada buah kersen 124,6 mg. Daun kersen (*Muntingia calabura L.*) mengandung sekelompok senyawa atau lignan antara lain *flavonoid*, *tannin*, *triterpene*, *saponin*, dan *polifenol* yang menunjukan aktivitas antioksidan (Priharyanti dan Zakaria, 2007). Hasil penelitian terdahulu menemukan bahwa kulit batang tumbuhan kersen (*muntingia calabura L.*) berkhasiat sebagai obat yaitu untuk peluruh dahak, dan untuk menurunkan kadar glukosa darah pada tikus putih. Sementara penggunaan tumbuhan kersen secara tradisional digunakan untuk penyembuhan asam urat, antiseptik, antinflamasi, dan antitumor, dimana penggunaannya untuk obat-obatan dilakukan dengan meminum air rebusan dari kulit batang dan daun tumbuhan kersen. Sedikit berbeda penggunaannya untuk penyembuhan antiseptik dari tumbuhan Kersen, yaitu air rebusan daun dan batang tumbuhan Kersen digunakan bukan dengan cara di konsumsi, melainkan dioleskan ke

daerah luka yakni untuk membunuh bakteri *C. Diphtheria*, *S. Aureus*, *P Vulgaris*, *S Epidemidis* dan *K Rizhopil* (Verdhayanti T.E, 2009).

8. Ekstraksi

Ekstraksi adalah metode pemisahan senyawa dari campurannya dengan menggunakan pelarut atau metode penarikan kandungan senyawa kimia metabolit sekunder dari bagian tumbuhan dengan menggunakan pelarut-pelarut yang sesuai. Dalam pemilihan pelarut pengeksraksian berlaku prinsip polar loves polar dan non polar loves non polar, artinya bila kita akan mengekstrasi senyawa polar harus digunakan pelarut polar. contoh pelarut polar adalah air, methanol, dan etanol. pelarut semi polar misalnya aseton, dan etil asetat, serta pelarut non polar yang umum digunakan adalah normal heksana, eter minyak tanah, klorofom, dan diklorometana. Dalam pustaka-pustaka sering dinyatakan ekstraksi dengan benzene atau kloroform atau karbon tetraklorida sebagai pelarut non polar, tetapi kini benzene, kloroform, dan karbon tetraklorida mulai ditinggalkan karena sifat hepatotoksiknya yang tinggi (Harborne, 1987).

9. Deskripsi *Flavonoid*

Flavonoid merupakan suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar di alam, dan berasal dari tumbuhan tinggi. Menurut perkiraan, kira-kira 2 % dari seluruh karbon yang difotosintesis oleh tumbuhan (atau kira-kira 1×10^6 ton/tahun) diubah menjadi flavonoid atau

senyawa yang berkaitan erat dengannya (Markham, 1988). Istilah flavonoid diberikan untuk senyawa-senyawa fenol yang berasal dari kata flavon, yaitu nama dari salah satu jenis flavonoid yang terbesar jumlahnya dalam tumbuhan. Senyawa-senyawa flavon ini mempunyai kerangka 2 fenilpropana, dimana posisi orto dari cincin A dan atom karbon yang terikat pada cincin B dari 1,3-diarilpropana dihubungkan oleh jembatan oksigen sehingga membentuk cincin heterosiklik yang baru (cincin C).

Flavonoid dan senyawa turunannya biasanya terdapat pada tumbuhan sebagai glikosida yang tersusun dari satu atau lebih gugus fenil dan gugus gula. Gugus hidroksi hampir selalu ditemukan pada posisi 5 dan 7 pada cincin A, sedangkan cincin B umumnya mengandung gugus hidroksi dan alkoksil pada posisi 4' atau pada posisi 3' dan 4'. Glikosida dari flavonoid dapat mengandung gugus gula pada setiap gugus hidroksi. Flavonoid merupakan kandungan khas tumbuhan hijau dengan mengecualikan alga. Flavonoid sebenarnya terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, nectar bunga, buah buni dan biji. Hanya sedikit saja catatan yang melaporkan adanya flavonoid pada hewan, misalnya dalam kelenjar bau berang-berang "propolis" (sekresi lebah) dan di dalam sayap kupu-kupu; itupun dengan anggapan bahwa flavonoid

tersebut berasal dari tumbuhan yang menjadi makanan hewan tersebut dan tidak dibiosintesis di dalam tubuh mereka.

10. Golongan *Flavonoid*

Flavonoid terdapat dalam tumbuhan sebagai campuran; jarang sekali dijumpai hanya flavonoid tunggal dalam jaringan tumbuhan. Di samping itu, sering terdapat campuran yang terdiri atas *flavonoid* yang berbeda kelas. Penggolongan jenis *flavonoid* dalam jaringan tumbuhan mula-mula didasarkan kepada telah sifat kelarutan dan reaksi warna. Kemudian diikuti dengan pemeriksaan ekstrak tumbuhan yang telah dihidrolisis, secara kromatografi satu arah, dan pemeriksaan ekstrak etanol secara dua arah. Akhirnya, *flavonoid* dapat dipisahkan dengan cara kromatografi. komponen masing-masing diidentifikasi dengan membandingkan kromatografi dan spectrum, dengan memakai senyawa pembanding yang sudah dikenal (Harborne, 1987).

Tabel 2.3 Sifat berbagai golongan *flavonoid*

Golongan <i>flavonoid</i>	Penyebaran	Cirri khas
<i>Antosianin</i>	Pigmen bunga merah marak, merah, merah senduduk, dan biru; juga dalam daun dan jaringan lainnya.	Larut dalam air, λ_{maks} 515-545 nm, bergerak dengan BAA pada kertas.
<i>Proantosianidin</i>	Terutama tanwarna, dalam galih dan daun tumbuhan berkayu.	Menghasilkan antosianidin (warna dapat diekstraksi dengan amil alcohol) bila jaringan dipanaskan dalam HCl 2M selama setengah jam.
<i>Flavonol</i>	Terutama ko-pigmen	Setelah hidrolisis, berupa

	tanwarna dalam bunga sianik dan asianik;tersebarluas dalam daun.	bercak kuning murup pada kromatogram forestall bila disinari dengan UV; maksimal spectrum pada 350-386 nm.
<i>Flavon</i>	Seperti flavonol.	Setelah dihidrolisis, berupa bercak coklat redup pada kromatogram forestall ; maksimal spectrum 330-350nm.
<i>Glikoflavon</i>	Seperti flavonol.	Mengandung gula yang terikat ikatan C-C; bergerak dengan pengembang air, tidak seperti <i>flavon</i> biasa.
<i>Biflavonil</i>	Tanwarna; hampir seluruhnya terbatas pada gimnospermae.	Pada kromatogram BAA berupa bercak redup dengan R_f tinggi.
<i>Khalkon dan auron</i>	Pigmen bunga kuning,kadang-kadang terdapat juga dalam jaringan lain.	Dengan amoniak berwarna merah (perubahan warna dapat diamati insitu), maksimal spectrum 370-410 nm.
<i>Flavonon</i> *	Tanwarna; dalam daun dan buah (terutama dalam citrus).	Berwarna merah kuat dengan Mg/HCl; kadang-kadang sangat pahit.
<i>Isoflavon</i>	Tanwarna; sering kali dalam akar; hanya terdapat dalam satu suku, lenguminosae.	Bergerak pada kertas dengan pengembang air; tak ada uji warna khas.

(Markham, 1988).

11. Identifikasi *Flavonoid*

a. Identifikasi dengan spektrofotometer UV-Visible

Spektrofotometri ultraviolet merupakan metode analisa suatu senyawa yang menggunakan instrument spektrofotometer, dimana prinsip kerja alat tersebut berdasarkan pengukuran terhadap

transmitan atau absorban suatu sample atau berdasarkan sekampuan atom/molekul mengabsopsi dan memancarkan cahaya (Silverstein, 1991).

Pelarut yang banyak digunakan untuk spektroskopi VV-Visible adalah etanol 95% atau etanol absolute karena kebanyakan golongan senyawa larut dalam pelarut tersebut. Alcohol niaga harus dihindari karena mengandung benzene yang menyerap di daerah UV pendek. Pelarut lain yang sering digunakan adalah air, methanol, heksana, eter minyak bumi, dan eter. Pelarut seperti kloroform dan pridina umumnya harus dihindari karena menyerap kuat di daerah 200-260 nm; tetapi sangat cocok untuk mengukur pigmen tumbuhan, seperti karotenoid, di daerah spectrum tampak (harborne, 1987).

b. Identifikasi dengan Spektrofotometer FTIR

Spectrum inframerah senyawa tumbuhan dapat diukur dengan spektrofotometri inframerah yang merekan secara otomatis dalam bentuk larutan, bentuk gerusan dalam minyak nuyol atau bentuk padat yang dicampur dengan kalium bromide. Jangka pengukuran mulai dari $4000-667\text{cm}^{-1}$ (atau 2,5 sampai $15\ \mu\text{m}$), dan perekaman spectrum memakan waktu kira-kira 3 menit. Kenyataan yang menunjukkan bahwa banyak gugus fungsi dapat diidentifikasi dengan menggunakan frekuensi getaran khasnya mengakibatkan

spektrofotometri IR merupakan cara paling sederhana dan paling sering terandalkan untuk menentukan golongan senyawa (Panji, 2011).

c. Identifikasi dengan KLT

Kromatografi lapis tipis dapat digunakan untuk tujuan kualitatif dan preparatif, KLT kualitatif digunakan untuk menganalisis senyawa-senyawa organik dalam jumlah kecil (misal menentukan jumlah kumpulan dalam campuran), menentukan pelarut yang tepat untuk pemisahan dengan KLT preparatif atau Kromatografi kolom, dan juga untuk mengidentifikasi komponen penyusun campuran melalui perbandingan dengan senyawa yang diketahui strukturnya. Sedangkan KLT preparatifnya digunakan untuk memisahkan campuran senyawa dari sampel dalam jumlah yang besar berdasarkan fraksinya, yang selanjutnya fraksi-fraksi tersebut dikumpulkan dan digunakan untuk menganalisis selanjutnya (Townshend, 1995).

12. Lotion

Lotion adalah sediaan cair berupa suspensi atau dispersi, dipergunakan sebagai obat luar. Dapat berbentuk suspensi zat padat dalam bentuk serbuk halus dengan bahan pensuspensi yang cocok atau emulsi tipe minyak dalam air dengan surfaktan yang cocok. Pada penyimpanan dan zat pewangi yang cocok (Depkes RI, 1979). Lotion

dimaksudkan untuk digunakan pada kulit sebagai pelindung atau untuk obat karena sifat bahan-bahannya. Kecairannya memungkinkan pemakaian yang merata dan cepat pada permukaan kulit yang luas. Lotion dimaksudkan segera kering pada kulit setelah pemakaian dan meninggalkan lapisan tipis dari komponen obat pada permukaan kulit (Ansel, 1989).

Uji sifat fisik yang dapat dilakukan untuk lotion adalah uji pH, daya sebar, dan viskositas. PH kulit mendekati pH netral yaitu berkisar antara 4,5-6,5, kesesuaian nilai pH sediaan topikal dengan pH kulit mempengaruhi penerimaan kulit terhadap sediaan. Sediaan topikal yang ideal adalah tidak mengiritasi kulit (Anief, 1995). Untuk uji daya sebar, lotion yang baik harus mempunyai daya sebar yang cukup sehingga memudahkan aplikasinya pada kulit (Ameliana, 2011). Dan untukuji viskositas, makin tinggi viskositasnya maka semakin tinggi pula tahanannya (Voight, 1995).

13. Klasifikasi Bakteri

Untuk memahami beberapa kelompok organisme, diperlukan klasifikasi. Tes bio kimia, pewarnaan gram, merupakan kriteria yang efektif untuk klasifikasi. Hasil pewarnaan mencerminkan perbedaan dasar dan kompleks pada permukaan sel bakteri (struktur dinding sel) sehingga dapat membagi bakteri menjadi 2 kelompok, yakni gram positif dan gram negatif (Brooks dalam Jawetz, 2004)

a. Bakteri Gram Positif (Brooks dalam Jawetz,2004)

1) Bakteri Gram positif pembentuk spora : spesies *Bacillus* dan *Clostridium*.

2) Basil gram positif pembentuk spora mencakup spesies *bacillus* dan *clostridium*. Kedua spesies ini ada dimana-mana, membentuk spora sehingga dapat hidup dilingkungan selama bertahun-tahun. Spesies *bacillus* bersifat aerob, sedangkan *clostridium* bersifat an aerob obligat.

3) Bakteri gram positif tidak membentuk spora : spesies *Corynebacterium*, *Propionobacterium* *Liseria Erysipelothrix*, *Actinomycetes*.

4) Beberapa anggota genus *Corynebacterium* dan kelompok spesies *propionobacterium* merupakan flora normal pada kulit dan selaput lendir manusia. *Corynebacterium diphtheriae* eksotoksin yang sangat kuat dan menyebabkan difteria pada manusia. *Liseriamonocytogenes* dan *erysipelotheix rhusiophathiae* ditemukan pada binatang dan kadang menyebabkan penyakit yang berat pada manusia. Golongan *listeria* dan *erysipelotheix* tumbuh dengan baik diudara.

5) *Staphylococcus*

Staphylococcus merupakan sel gram positif berbentuk bulat, biasanya tersusun dalam bentuk bergerombol yang tidak teratur seperti anggur. Beberapa spesies merupakan anggota flora normal pada kulit dan selaput lender manusia. Yang lain menyebabkan suporasi dan bahan septikimia fatal. *Staphylococcus* yang pathogen sering menghemolisis darah, mengokagulasi plasma dan menghasilkan berbagai enzim ekstra seluler dan toksil yang stabil terhadap panas. *Staphylococcus* cepat menjadi resisten terhadap beberapa antimikroba.

6) Genus *Staphylococcus*

Genus *staphylococcus* sedikitnya memiliki 30 spesies. Tiga tipe *staphylococcus* yang berkaitan dengan medis adalah *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus saprophyticus*. *Staphylococcus aerus* bersifat koagulasi positif dan merupakan pathogen utama pada manusia. *Staphylococcus* koagulase negative merupakan flora normal manusia kadang-kadang menyebabkan infeksi, missal *Staphylococcus epidermidis*.

7) *Streptococcus*

Streptococcus merupakan bakteri gram positif berbentuk bulat, yang mempunyai karakteristik dapat membentuk

pasangan atau rantai selama pertumbuhannya. Bakteri ini beberapa diantaranya merupakan anggota flora normal manusia, sedangkan streptococcus yang lain berhubungan dengan penyakit pada manusia. Ada 20 jenis *Streptococcus*, diantaranya *Streptococcus pyogenes* (group a) *streptococcus enterococcus* (group d), mikroorganisme tersebut memiliki berbagai tampilan yang bervariasi dalam hal karakteristik koloni pertumbuhan, pola hemolysis pada media agar darah, komposisi antigen dalam substansi dinding sel dan reaksi biokimia. Jenis *Streptococcus pneumonia* (*pneumococcus*) diklasifikasikan berdasarkan komposisi antigen polisakarida pada kapsul.

b. Bakteri gram negative (Brooks, 2004)

1) Bakteri gram negative berbentuk batang (*Enterobacteriaceae*).

Bakteri gram negative berbentuk batang, habitat alaminya berada pada system usus manusia dan binatang. Keluarga Enterobacteriaceae meliputi banyak jenis (*Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus* dll) beberapa organism misalnya *Escherichia coli* merupakan flora normal yang menyebabkan penyakit,

sedangkan yang lain seperti *Samonella* dan *Shigella* merupakan pathogen yang umum bagi manusia.

2) *Pseudomonas aeruginosa* bersifat invasive dan togsigenik, mengakibatkan infeksi pada pasien dengan penurunan daya tahan tubuh dan merupakan pathogen nosocomial yang penting. *Chromobacteria* dan *Cryseobacteria* ditemukan di tanah dan air, dan merupakan bakteri pathogen yang oportunistik bagi manusia. Bakteri lain, *Capnocytophaga*, *Eikenella Corrodens*, *Kingella* dan *Morasella* tumbuh normal pada manusia namun dapat menyebabkan variasi infeksi yang luas.

3) *Vibrio*, *Comphylobacter*, dan bakteri lain yang berhubungan. Mikroorganisme ini merupakan spesies berbentuk batang gram negative yang tersebar luas di alam. *Vibrio* ditemukan di daerah perairan dan permukaan air. *Aeromonas* banyak ditemukan di air segar dan terkadang pada hewan berdarah dingin. *Plesiomonas* terdapat pada hewan berdarah dingin dan panas. *Complylobacter* ditemukan di banyak spesies hewan, termasuk hewan peliharaan.

4) *Haemophilus*, *Bordetella*, *Brucella*

Merupakan kelompok bakteri pleiomorfik kecil, gram negative. *Haemophilus Influenzae* tipe b merupakan pathogen manusia yang penting.

5) *Yersinia, Francissela dan Brucela*

Merupakan kelompok bakteri berbentuk batang pendek gram negative yang pleiomorfik. Organisme ini bersifat katalase positif, oksidase positif dan merupakan bakterimikro aerofilik atau anaerob fakultatif.

14. Antibakteri dan Penentuan Aktivitas Antibakteri

Antibakteri merupakan bahan atau senyawa yang khusus digunakan untuk kelompok bakteri. Antibakteri dapat dibedakan berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu antibakteri yang menghambat pertumbuhan dinding sel, antibakteri yang mengakibatkan perubahan permeabilitas membran sel atau menghambat pengangkutan aktif melalui membran sel, antibakteri yang menghambat sintesis protein, dan antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat sel. Aktivitas antibakteri dibagi menjadi 2 macam yaitu aktivitas bakteriostatik (menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh patogen) dan aktivitas bakterisidal (dapat membunuh patogen dalam kisaran luas) (brook, 2005).

Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran. Disc difusion test atau uji difusi disk

dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (clear zone) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam ekstrak (Hermawan, 2007). Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan. Metode difusi dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu metode silinder, metode lubang/sumuran dan metode cakram kertas. Metode lubang/sumuran yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diinjeksikan dengan ekstrak yang akan di uji. Setelah dilakukan inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling lubang (Kusmayati, 2007).

Prinsip metode pengenceran adalah senyawa antibakteri diencerkan hingga diperoleh beberapa macam konsentrasi, kemudian masing-masing konsentrasi ditambahkan suspensi bakteri uji dalam media cair. Perlakuan tersebut akan diinkubasi dan diamati ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri, yang ditandai dengan terjadinya pengeruhan. Larutan uji senyawa antibakteri pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan bakteri uji, ditetapkan sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM) atau *Minimal Inhibitory Concentration*(MIC). Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan bakteri

uji ataupun senyawa antibakteri, dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai Kadar Bunuh Minimal (KMB) atau *Minimal Bactericidal Concentration* (MBC) (Pratiwi, 2008).

15. Cara Pengukuran Daya Hambat Zat Antibakteri

Ada 2 metode pengukuran daya hambat antibakteri yaitu :

a. Metode Dilusi

Merupakan metode yang menggunakan berbagai variasi waktu kontak antara suspensi yang diuji dengan larutan obat pengujian dilakukan dengan mengencerkan secara seri larutan obat yang berkontak dengan bakteri selama waktu yang telah ditentukan, kemudian daya hambat antibakteri ditentukan dengan cara membandingkan jumlah koloni bakteri yang tumbuh permilimeter dari larutan obat dan larutan control.

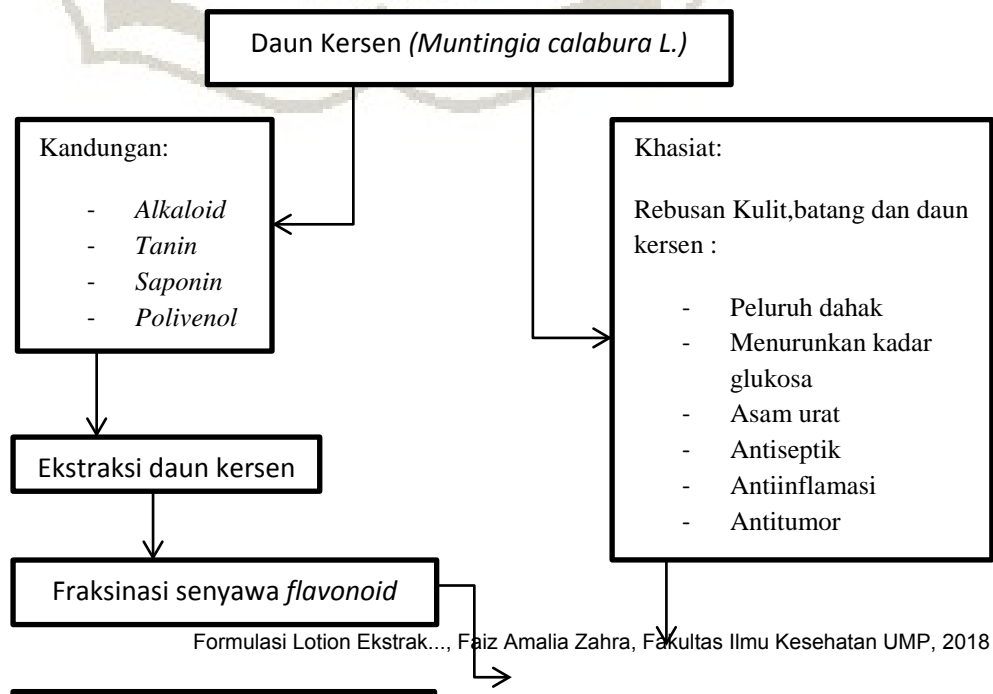
b. Metode Difusi

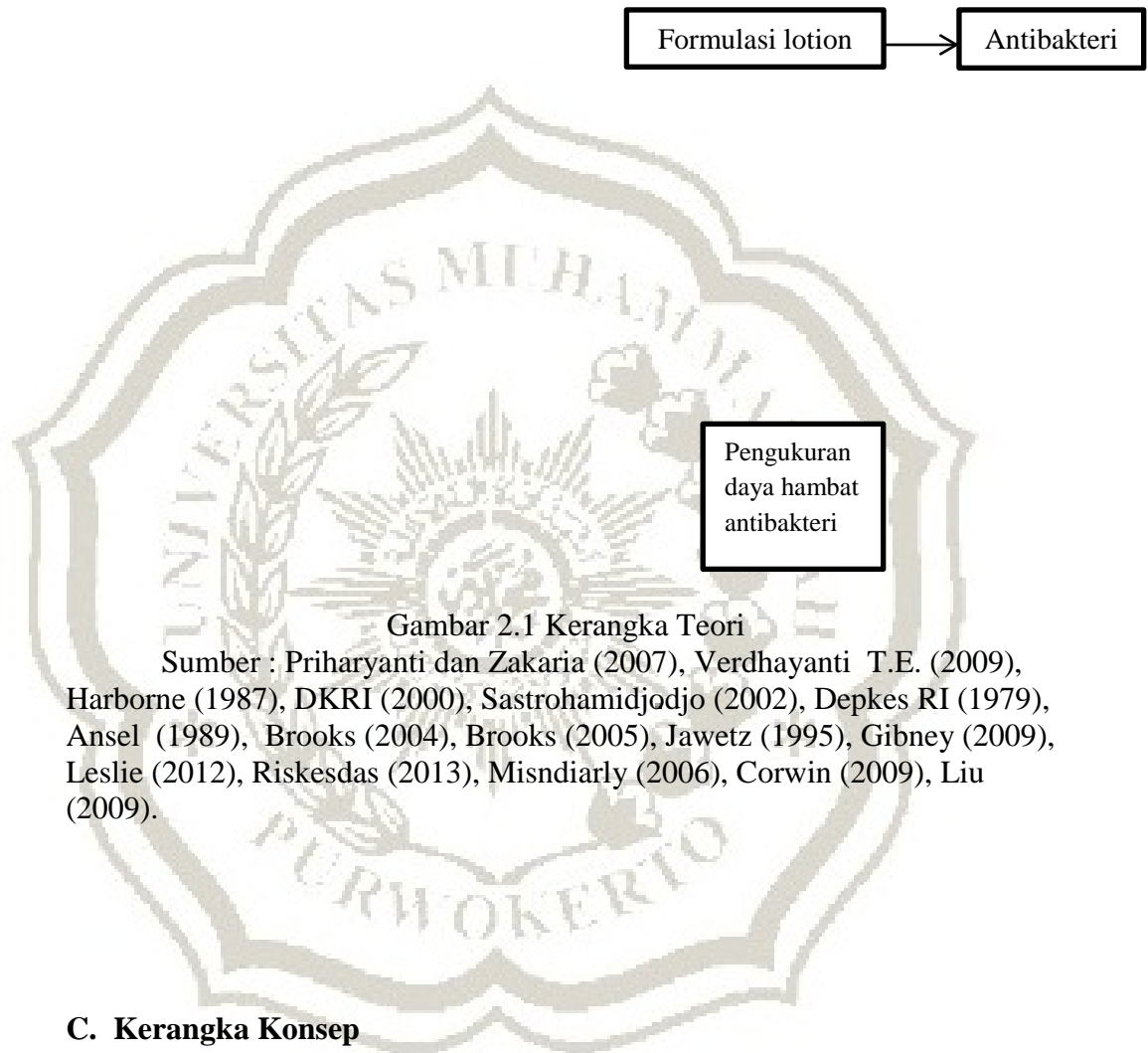
Pengujian dilakukan dengan cara menanam bakteri yang akan diuji dalam media plat agar, kemudian di atasnya diletakkan kertas saring yang berbentuk disk (cakram). Cara lainnya membuat lubang sumuran dalam media plat agar padat yang kemudian diisi dengan bahan antibakteri. Daerah yang dihambat kemudian diukur, sehingga diperoleh 2 zona yaitu :

- 1) Zona radikal, yaitu daerah disekitar lubang sumuran yang sama sekali tidak ditemukan pertumbuhan bakteri
- 2) Zona irradikal, yaitu suatu daerah disekitar lubang lubang sumuran yang pertumbuhan bakterinya dihambat tetapi tidak mau mati (Jawetz dkk, 1995).



B. Kerangka Teori

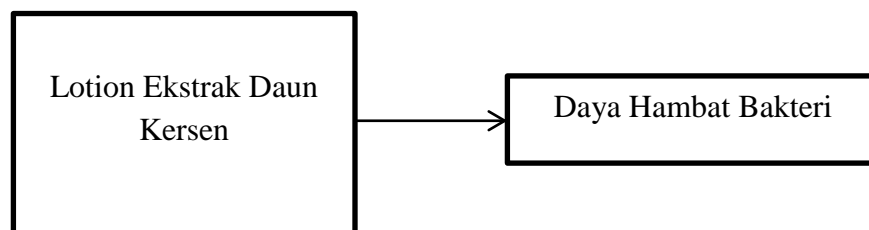




Gambar 2.1 Kerangka Teori

Sumber : Priharyanti dan Zakaria (2007), Verdhayanti T.E. (2009), Harborne (1987), DKRI (2000), Sastrohamidjodjo (2002), Depkes RI (1979), Ansel (1989), Brooks (2004), Brooks (2005), Jawetz (1995), Gibney (2009), Leslie (2012), Riskesdas (2013), Misndiarly (2006), Corwin (2009), Liu (2009).

C. Kerangka Konsep



Gambar 2.2 Kerangka Konsep

D. Hipotesis

1. Ekstrak *flavonoid* daun kersen dapat diformulasikan menjadi sediaan lotion.
2. Formulasi lotion ekstrak *flavonoid* daun kersen 3 konsentrasi mempunyai daya hambat sebagai antibakteri.
3. Pada konsentrasi lotion 1,5 mg/ml ekstrak flavonoid daun kersen (*Muntingia calabura L.*) optimal digunakan sebagai antibakteri pada sediaan bakteri ulkus diabetikum secara in-vitro.

